

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ANÁLISIS DE LA CONCORDANCIA ENTRE LOS RESULTADOS DEL PANEL  
MOLECULAR DE NEUMONÍA BIOFIRE® FILMARRAY® Y EL CULTIVO  
BACTERIANO DE MUESTRAS RESPIRATORIAS PROCESADAS EN EL  
LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL DR. R. A. CALDERÓN GUARDIA  
DURANTE EL PERIODO JULIO 2020 – JULIO 2021.

Trabajo final de graduación sometido a la consideración de la Comisión del Programa de  
Estudios de Posgrado de Especialidades en Microbiología para optar al grado y título de  
Especialista en Bacteriología Médica

GIAN CARLO GONZÁLEZ CARBALLO

B32957

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2023

## **Agradecimientos**

Primero que todo, quiero agradecer a mi familia, en especial a mi papá, mi mamá, mi hermano, mis abuelitos y mi tía abuela por su apoyo incondicional y su impulso para seguir superándome en mi carrera profesional.

Adicionalmente, agradezco mucho a mi tutora por su ayuda, su conocimiento y su amistad durante el proceso de la especialidad y la realización del trabajo. A mi lector y mi lectora les doy gracias por todo su conocimiento y su ayuda en mi formación como bacteriólogo.

Por otra parte, no puedo dejar de agradecer a mis amigos, amigas, compañeros y compañeras de trabajo por su cariño y palabras de aliento durante estos últimos dos años. A cada una de las jefaturas de División y del Laboratorio, gracias por todos los permisos para poder cumplir y terminar con este proceso de la especialidad.

Finalmente, agradezco a mi compañero y a mis compañeras de la especialidad por toda su solidaridad, compañerismo y amistad en estos dos años. Hicimos un grupo muy bonito donde nunca faltó la cooperación entre nosotros. Les deseo a cada uno un futuro profesional bacteriológico increíble.



SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA

ACTA-81-2023

Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el martes 17 de enero de 2023 con el objeto de recibir el informe oral del estudiante Gian Carlos González Carballo carné #32957, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de Especialista en Bacteriología Médica. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: Elvira Segura Retana, Esp. quien preside y lectora, Jorge Damián Chaverri Murillo, MSc., lector y Cristina María García Marín, Esp., tutora.

ARTICULO 1

Quien preside solicita al postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: "Análisis de la concordancia entre los resultados del Panel Molecular de Neumonía Biofire® Filmarray® y el cultivo bacteriano de muestras respiratorias procesadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia durante el periodo Julio 2020 – Julio 2021."

ARTICULO 2

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan al postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 3

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado  Reprobado

ARTICULO 4

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 13:03 horas.

Nombre	Firma	No. Cédula
Elvira Segura Retana Quien preside		108990475
Cristina García Marín		110470703
Jorge Chaverri Murillo		303630044
Gian Carlo González C. Estudiante		116050026

Observaciones: Se otorga mención de honor

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita  
Si el trabajo es merecedor de mención de honor anotar en observaciones

## Tabla de contenidos

<i>Resumen</i> .....	v
<i>Lista de cuadros</i> .....	vi
<i>Lista de figuras</i> .....	vii
<i>Lista de abreviaturas</i> .....	viii
<b>1. Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Generalidades de la neumonía</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2. Etiología microbiana de la neumonía</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3. Diagnóstico de las neumonías</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Justificación</b> .....	<b>8</b>
<b>3. Pregunta de investigación</b> .....	<b>9</b>
<b>4. Hipótesis</b> .....	<b>9</b>
<b>5. Objetivos</b> .....	<b>10</b>
<b>5.1. Objetivo general</b> .....	<b>10</b>
<b>5.2. Objetivos específicos</b> .....	<b>10</b>
<b>6. Metodología</b> .....	<b>11</b>
<b>7. Resultados</b> .....	<b>15</b>
<b>8. Discusión</b> .....	<b>26</b>
<b>9. Conclusiones</b> .....	<b>34</b>
<b>10. Bibliografía</b> .....	<b>35</b>

## Resumen

La neumonía es un cuadro clínico que ocurre con la invasión del tracto respiratorio inferior por uno o varios microorganismos, bacterianos o virales. Es una causa importante de mortalidad y morbilidad a nivel mundial, y ejerce una presión importante sobre el sistema hospitalario. Por lo tanto, un diagnóstico certero y rápido es clave para establecer un tratamiento adecuado en el paciente. De esta forma, se reducen el número de complicaciones, los días de estancia en el hospital y los costos para el sistema de salud.

En los últimos años se han desarrollado herramientas de diagnóstico molecular para el diagnóstico etiológico de la neumonía. Una de ellas son los PCR múltiplex, como el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® que detecta simultáneamente 18 bacterias, 7 marcadores de resistencia y 9 virus que causan neumonía y otras infecciones del tracto respiratorio inferior. El uso de este panel ha incrementado en ciertos centros de salud, como el Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia, particularmente por la pandemia causada por el virus SARS-CoV-2. Por lo tanto, ha surgido la necesidad de evaluar la concordancia de los resultados de este panel con los de otros métodos diagnósticos, como el cultivo bacteriano.

Dentro de los principales resultados del estudio es el hallazgo de una concordancia moderada entre ambos métodos diagnósticos: cultivo bacteriano y panel molecular (coeficiente  $k$  de Cohen: 0.56, intervalo de confianza al 95%: 0.54-0.58). Por otra parte, es importante rescatar el alto valor predictivo negativo obtenido para el panel molecular de neumonía (99.9%, intervalo de confianza al 95%: 99.7%-100.0%). Con todos los resultados, se puede concluir que las herramientas moleculares no sustituyen al cultivo bacteriano en el diagnóstico de la neumonía, sino que son un complemento al mismo.

Este trabajo es el primero de su naturaleza realizado en el Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia y pretende mejorar el algoritmo de trabajo en el laboratorio. Así mismo, se busca mostrar al resto del personal hospitalario aspectos importantes a tomar en cuenta a la hora de interpretar los resultados del panel.

## Lista de cuadros

Cuadro 1. Criterios de calidad para la examinación microscópica de las tinciones de Gram de muestras respiratorias.....	4
Cuadro 2. Patógenos bacterianos, virales y marcadores de resistencia detectados por el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY®.....	6
Cuadro 3. Crecimiento en cultivo de los patógenos bacterianos detectados en el panel molecular de acuerdo con el número de copia/mL.....	17
Cuadro 4. Resumen del desempeño y las características del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® utilizando el cultivo bacteriano como estándar de oro.....	19
Cuadro 5. Contraste de la detección fenotípica y molecular de la resistencia en <i>S. aureus</i> aislados de muestras respiratorias.....	23
Cuadro 6. Contraste de la detección fenotípica y molecular de la resistencia en bacilos Gram negativos aislados de muestras respiratorias.....	24

## Lista de figuras

Figura 1. Algoritmo para el procesamiento de las muestras respiratorias a las que les es solicitado el panel molecular de neumonía.....	11
Figura 2. Distribución de las muestras analizadas de acuerdo al resultado del cultivo bacteriano (CB) y del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® (PN).....	15
Figura 3. Distribución de los <i>targets</i> bacterianos incluidos en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® de acuerdo a su detección únicamente en cultivo (CB), panel molecular (PN) o ambos.....	16
Figura 4. Distribución de los resultados del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® en función del número de copias/mL detectado y de las cruces de leucocitos observadas en la tinción de Gram de las muestras.....	22

## **Lista de abreviaturas**

AET: aspirado endotraqueal.

BAL: lavado broncoalveolar.

BLEE: betalactamasa de espectro extendido.

FDA: Agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos.

MDRO: microorganismos multirresistentes a las drogas.

MIC: concentración mínima inhibitoria.

MSSA: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

NAC: neumonía adquirida en la comunidad.

NAAS: neumonía asociada a la atención en salud.

PCN: porcentaje de concordancia negativo.

PCP: porcentaje de concordancia positivo.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

PSA: prueba de sensibilidad a los antibióticos.

VPN: valor predictivo negativo.

VPP: valor predictivo positivo.





**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, Gian Carlo González Carballo, con cédula de identidad 116050026, en mi condición de autor del TFG titulado Análisis de la concordancia entre los resultados del Panel Molecular de Neumonía BioFire® Filmarray® y el cultivo bacteriano de muestras respiratorias procesadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia durante el periodo julio 2020 - julio 2021

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI  NO \*

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: \_\_\_\_\_ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

  
FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

## **1. Introducción.**

### **1.1. Generalidades de la neumonía.**

La neumonía es un cuadro clínico donde ocurre la invasión del tracto respiratorio inferior (alveolos y árbol bronquial distal) por uno o varios microorganismos. La transmisión se da por la aspiración o la inhalación de algún microorganismo patógeno. Esta enfermedad se puede clasificar en dos tipos: la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) y la neumonía adquirida en el hospital o asociada a la atención en salud (NAAS; Torres et al., 2021).

A nivel mundial se reporta que las infecciones del tracto respiratorio inferior son la primera causa infecciosa de muerte, afectando aproximadamente a 489 millones de personas en todo el planeta. Los niños menores de 5 años y los adultos mayores de 70 años son las poblaciones más afectadas. Tanto para la NAC como para la NAAS se describen como factores de riesgo una edad mayor a 60 años, hospitalización reciente, inmunosupresión y la presencia de comorbilidades. La NAC posee, adicionalmente, factores de riesgo propios como lo son estilos de vida (consumo excesivo de alcohol, pobre higiene oral, entre otros) y un episodio de neumonía previo. Para la NAAS también existen factores particulares identificados como el sexo masculino, las quemaduras, los traumas, la colonización de la orofaringe por microorganismos virulentos y la terapia antibiótica previa (Cilloniz et al., 2016; Torres et al., 2021).

La epidemiología de la neumonía está en constante cambio por el desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas, terapias antimicrobianas y medidas preventivas. Por ejemplo, la implementación de la vacunación ha reducido la incidencia de este cuadro clínico. Sin embargo, no se debe restar importancia al mismo, ya que sigue siendo una causa importante de mortalidad, morbilidad, aumento de costos para los sistemas de salud y de ausentismo laboral (Torres et al., 2016; Torres et al., 2021).

## 1.2. Etiología microbiana de la neumonía.

En cuanto a la etiología microbiana, el principal microorganismo causante de la NAC es *Streptococcus pneumoniae*. Por otra parte, las bacterias intracelulares como *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydothila pneumoniae* causan aproximadamente de 1-7% de los casos. *Staphylococcus aureus* y los bacilos Gram negativos representan un pequeño porcentaje de los casos de NAC. Los virus respiratorios son otros agentes etiológicos importantes y, en ciertos estudios, se ha concluido que son causantes de hasta un tercio de los casos de NAC. Dentro de los principales virus se pueden citar: virus influenza (A y B), rinovirus, virus parainfluenza (1, 2 y 3) y coronavirus (Cilloniz et al., 2016; Torres et al., 2021).

Por otro lado, los bacilos Gram negativos son la principal causa de la NAAS asociándose aproximadamente a un 50-80% de los casos. Las bacterias mayormente implicadas son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Haemophilus influenzae* y las Enterobacterias. Las bacterias Gram positivas como *S. aureus* y *S. pneumoniae* también participan en los casos de NAAS, pero en un menor porcentaje (20-30%). Adicionalmente, se han registrado hasta un 32% de casos de infecciones polimicrobianas (Cilloniz et al., 2016; Torres et al., 2021).

En las NAAS son de particular importancia las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes a las drogas (MDRO) ya que representan un alto costo para el sistema de salud. Los factores de riesgo más importantes para una infección por un MDRO son la edad, el alto consumo de antibióticos, la exposición previa a un hospital (en especial a una unidad de cuidado intensivo) y una larga estancia hospitalaria. Los patógenos más importantes son *S. aureus* meticilino resistente (MRSA) y los bacilos Gram negativos productores de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) o carbapenemasas. El porcentaje de infecciones por MDRO en los casos de NAC es muy bajo, y se dan principalmente en pacientes inmunosupresos, con un uso previo de antibióticos o con una hospitalización previa (Qureshi et al., 2021; Torres et al., 2021).

### **1.3. Diagnóstico de las neumonías.**

El diagnóstico rápido y oportuno de la neumonía es necesario para administrarle al paciente el tratamiento adecuado e implementar medidas de aislamiento, de ser necesario. De esta forma se reducen las complicaciones y la estancia hospitalaria y, con ello, los costos para el sistema de salud. Uno de los procedimientos médicos que permite su diagnóstico es la radiografía de tórax. Puede proveer información acerca del sitio y la extensión del cuadro clínico, como los lóbulos involucrados o la presencia de cavitaciones o un derrame pleural (Torres et al., 2021).

A nivel del laboratorio clínico el diagnóstico de la neumonía se puede realizar por medio de microscopía (tinción de Gram), cultivo y herramientas moleculares. Las muestras que se pueden trabajar son esputo, líquido pleural, aspirado endotraqueal (AET) o lavado broncoalveolar (BAL). El esputo se utiliza principalmente para pacientes ambulatorios, mientras que los tres últimos para pacientes hospitalizados. El proceso de colección de las muestras respiratorias incide directamente sobre la relevancia del resultado de estas pruebas. La contaminación con secreciones del tracto respiratorio superior podría llevar a conclusiones erradas, por lo que es importante evaluar estas muestras previo a su procesamiento (Cilloniz et al., 2016; Murdoch et al., 2012). En el laboratorio se considera que una muestra es de buena calidad si existe una diferencia de al menos 2+ entre leucocitos y células epiteliales (ver cuadro 1).

El diagnóstico microscópico de la neumonía mediante la tinción de Gram presenta ciertas ventajas como el bajo costo, la rapidez y la información rápida de resultados para la instauración de una terapia antimicrobiana empírica. Por otra parte, presenta la desventaja de que no distingue microorganismos viables de microorganismos muertos, la baja sensibilidad y el reporte resultados incorrectos por errores durante la realización de la tinción. Particularmente, en un estudio realizado en pacientes adultos, se obtuvo un resultado de sensibilidad y de especificidad para la tinción de Gram en la predicción del resultado del cultivo de 0.69-0.76 y 0.91-0.97, respectivamente (Huang et al., 2020; Ogawa et al., 2020).

**Cuadro 1.** Criterios de calidad para la examinación microscópica de las tinciones de Gram de muestras respiratorias.

<b>Leucocitos, eritrocitos y células epiteliales (10X), 10 CO observados</b>		
No se observa	0	No se observa
Escasos	<1	1+
Pocos	1-9	2+
Muchos	10-25	3+
Abundantes	>25	4+
<b>Microorganismos (100X)</b>		
No se observan	0	No se observa
Escasos	<1	1+
Pocos	1-5	2+
Muchos	6-30	3+
Abundantes	>30	4+

CO: campos ópticos.

Fuente: División de Microbiología, Laboratorio Clínico, Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia.

En cuanto al cultivo bacteriano, es considerado el estándar de oro para el diagnóstico de la neumonía. Presenta la ventaja de tener una sensibilidad mayor que la tinción de Gram y que permite establecer la terapia antibiótica definitiva para un paciente. Sin embargo, para obtener un resultado, se deben esperar alrededor de 48-72 horas. Esto alarga el tiempo en que los pacientes son sometidos a una terapia antibiótica de amplio espectro que suele ser el abordaje inicial para los pacientes en los que se sospecha de neumonía. Adicionalmente, es una técnica sensible al mal transporte o almacenamiento de la muestra y a la administración previa de antibióticos (Torres et al., 2016; Buchan et al., 2020).

Existen otros métodos de laboratorio complementarios para el diagnóstico de la neumonía. Uno de ellos es la detección de antígeno en orina de *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*. La sensibilidad y la especificidad del primero ronda el 50-80% y 70-90%, respectivamente. Por

otra parte, la detección del antígeno de *L. pneumophila* posee una sensibilidad del 70-90% y una especificidad del 99%. Adicionalmente, se puede realizar la recolección de hemocultivos previo a la administración de los antibióticos. Estos poseen un alta especificidad, sin embargo se obtienen resultados positivos en menos de un 20% de los casos (Cilloniz et al., 2016; Torres et al., 2016).

Las herramientas moleculares son las más novedosas, y una de las desarrolladas en los últimos años es el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY®. Este panel consiste en un PCR múltiplex que analiza 18 bacterias, 7 marcadores de resistencia y 9 virus que causan neumonía y otras infecciones del tracto respiratorio inferior (ver cuadro 2). Dentro de las bacterias, se genera un resultado semicuantitativo ( $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  o  $\geq 10^7$  copias/mL) para 15 de ellas. En un solo instrumento se integra la preparación de la muestra, la extracción y purificación de ácidos nucleicos, la detección y el análisis de los resultados. El informe final se genera aproximadamente en 1 hora. La sensibilidad y especificidad, de acuerdo con la casa comercial, para una muestra de BAL es de 96,2% y 98,3% respectivamente (Biomérieux, 2022).

**Cuadro 2.** Patógenos bacterianos, virales y marcadores de resistencia detectados por el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY®.

<b>Categoría</b>	<b>Blanco</b>
Virus (cualitativo)	Adenovirus Coronavirus Metapneumovirus Rhinovirus/enterovirus Influenza A/B Parainfluenza Virus Respiratorio Sincicial
Bacterias (cualitativo)	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>

**Cuadro 2 Continuación.** Patógenos bacterianos, virales y marcadores de resistencia detectados por el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY®.

<b>Categoría</b>	<b>Blanco</b>
Bacterias (semicuantitativo) <sup>a</sup>	Complejo <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> - <i>A. baumannii</i> Complejo <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> Grupo <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Proteus</i> spp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>
Marcadores de resistencia antimicrobiana (cualitativo)	
Carbapenemasas	KPC <sup>a</sup> NDM <sup>a</sup> IMP <sup>a</sup> VIM <sup>a</sup> OXA-48 <sup>b</sup>
Betalactamasa de espectro extendido	CTX-M <sup>a</sup>
Genes de resistencia a meticilina	<i>mecA/mecC</i> y MREJ <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Reportado cuando *A. calcoaceticus-baumannii* complex, *E. cloacae* complex, *E. coli*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, Grupo *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *P. aeruginosa* o *S. marcescens* es detectado.

<sup>b</sup>Reportado cuando, *E. cloacae* complex, *E. coli*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, Grupo *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., o *S. marcescens* es detectado.

<sup>c</sup>Reportado cuando *S. aureus* es detectado.

Fuente: Elaboración propia a partir de Buchan et al., 2020.

El panel molecular de neumonía BIOFIRE® representa una ventaja frente a otras estrategias diagnósticas por su menor tiempo de respuesta y la detección en conjunto de mecanismos de resistencia, así como la identificación a nivel de especie de los microorganismos lo que permite tomar en cuenta, adicionalmente, resistencias intrínsecas. El corto tiempo en que se genera un resultado permite tomar decisiones terapéuticas de forma más rápida, a diferencia del cultivo tradicional (Buchan et al., 2020).

Por otra parte, también presenta algunas desventajas. En primera instancia, al detectar ácidos nucleicos, se pueden detectar microorganismos no viables y que no estén participando del proceso infeccioso. Esto, aunado a que existen microorganismos que no están incluidos en el panel y otros mecanismos de resistencia a los antibióticos (impermeabilidad o bombas de eflujo), resalta la importancia de acompañarlo de otras técnicas como el cultivo para llegar a un reporte definitivo.



## 2. Justificación

Las infecciones de tracto respiratorio inferior, como la neumonía, constituye la primera causa infecciosa de muerte a nivel mundial, afectando principalmente a niños menores de 5 años y a los adultos mayores de 70 años. Actualmente, constituye una causa importante de morbilidad y de ausentismo laboral. Por lo tanto, un diagnóstico oportuno y adecuado de esta enfermedad permite la aplicación de un tratamiento óptimo para el paciente. De esta forma, se reducen las complicaciones, la estancia hospitalaria y, con ello, los costos para los sistemas de salud (Torres et al., 2016; Torres et al., 2021).

Ciertas estrategias de laboratorio, como el cultivo, permiten el diagnóstico de este cuadro clínico. Sin embargo, por el tiempo que requiere para emitir el reporte final, retrasa la toma de decisiones terapéuticas. Las técnicas moleculares que han surgido en los últimos años han permitido identificar de forma más rápida los agentes etiológicos de las neumonías, así como ciertos mecanismos de resistencia a los antibióticos que puedan estar presentes en las bacterias. Esto ha posibilitado un adelanto en las intervenciones a los pacientes. Un ejemplo es el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® (Biomériux, 2022). La demanda de este panel en algunos servicios del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia se ha visto incrementada en los últimos meses, sobre todo con la pandemia causada por el virus SARS-CoV-2.

Ante el incremento en el uso de esta herramienta molecular, surge la necesidad de evaluar el grado de concordancia que existe entre dicho panel y otros métodos diagnósticos que se utilizan de forma rutinaria en el laboratorio clínico del hospital, como el cultivo. De esta forma, se podría mejorar el algoritmo de trabajo en el laboratorio y mostrar al resto del personal hospitalario aspectos importantes a tomar en cuenta a la hora de interpretar los resultados del panel.

### **3. Pregunta de investigación.**

¿Existe concordancia entre los resultados del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el crecimiento en cultivo de muestras respiratorias recibidas en la División de Microbiología del Laboratorio Clínico del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia durante el periodo julio 2020 – julio 2021?

### **4. Hipótesis.**

Se presenta una buena concordancia entre los resultados del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el crecimiento en cultivo de muestras respiratorias recibidas en la División de Microbiología del Laboratorio Clínico del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia durante el periodo julio 2020 – julio 2021.

## **5. Objetivos.**

### **5.1. Objetivo general:**

1. Definir la concordancia entre los resultados del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el crecimiento en cultivo de muestras respiratorias recibidas en la División de Microbiología del Laboratorio Clínico del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia durante el periodo julio 2020 – julio 2021.

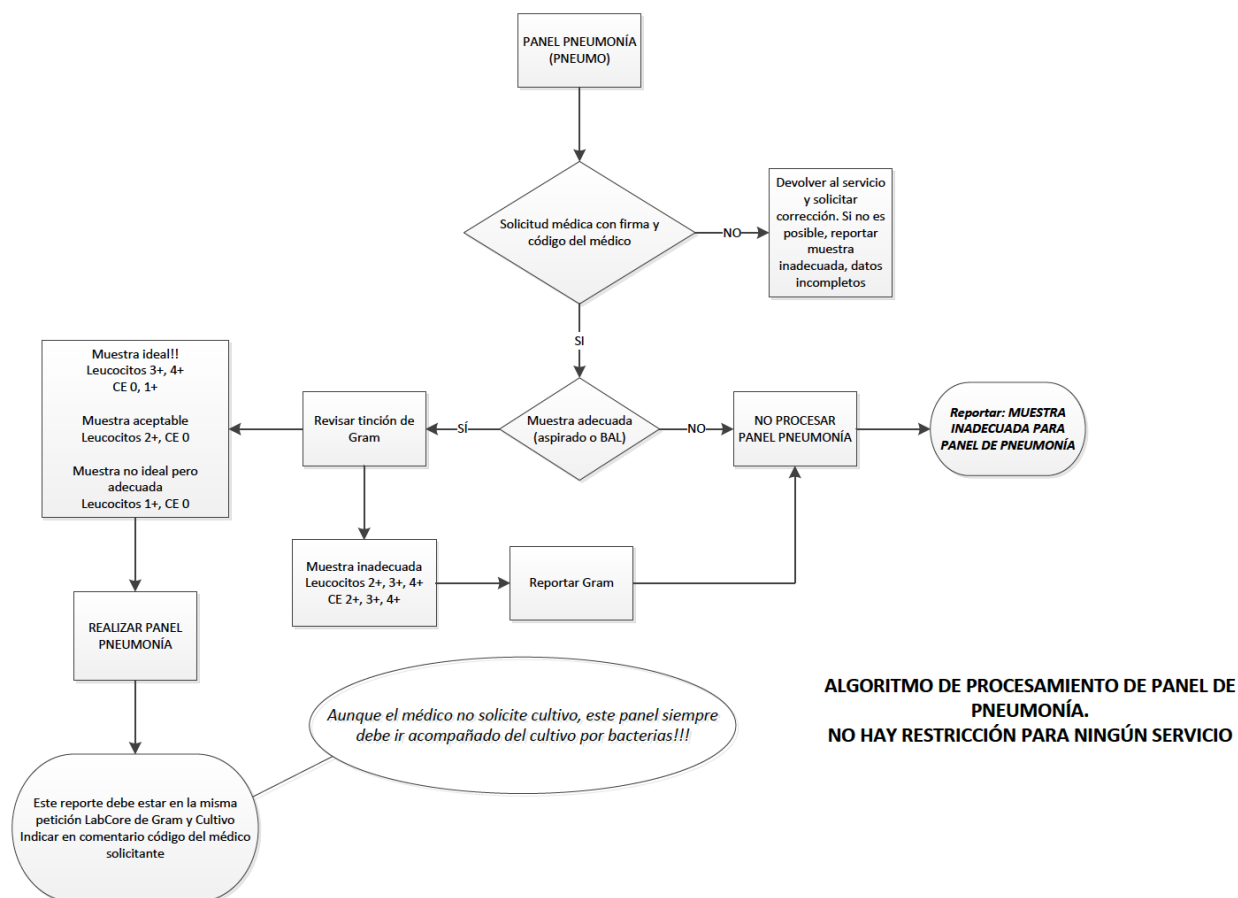
### **5.2. Objetivos específicos:**

- a. Establecer el porcentaje de concordancia positivo y negativo, y el valor predictivo negativo y positivo del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® en comparación con el cultivo bacteriano.
- b. Comparar el número de copias detectado en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el número de cruces de leucocitos reportado en la tinción de Gram.
- c. Contrastar la detección de mecanismos de resistencia a los antibióticos en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® con la detección fenotípica en el sistema automatizado Vitek 2.

## 6. Metodología.

### Actividad 1: Recolección de datos.

En este estudio retrospectivo se recolectaron los datos de tipo de muestra, resultado de la tinción de Gram, resultado del cultivo, resultado del panel molecular y genes de resistencia a los antibióticos detectados de cada una de las peticiones en las que fue solicitado el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY®, durante el periodo julio 2020 - julio 2021, en el Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia. Este es un hospital nacional que cuenta con un total de 457 camas, de las cuales 34 corresponden a unidad de cuidados intensivos de adultos.



**Figura 1.** Algoritmo para el procesamiento de las muestras respiratorias a las que les es solicitado el panel molecular de neumonía. Fuente: División de Microbiología, Laboratorio Clínico, Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia.

La información se extrajo a partir del sistema de información del laboratorio LabCore, manteniendo los datos personales de cada paciente de forma anónima. Las muestras respiratorias que llegan con dicha solicitud se procesan únicamente si son un aspirado endotraqueal o un lavado broncoalveolar, y si cumplen con el algoritmo que se muestra en la figura 1. Al final, se obtuvo un total de 572 muestras para su análisis.

### **Actividad 2: Descripción del desempeño general del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® en muestras respiratorias procesadas en el Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia.**

Se determinó, del total de muestras respiratorias analizadas, el porcentaje de aquellas con un resultado positivo para al menos uno de los agentes incluidos en el panel (tanto por la metodología molecular como por cultivo), el porcentaje de muestras con un resultado positivo en el panel molecular y cultivo negativo, y el porcentaje de muestras con un resultado negativo en ambas metodologías. Adicionalmente, se incluyó la cantidad de muestras con un resultado positivo en cultivo, pero negativo en el panel molecular (Buchan et al., 2020).

Por otra parte, de todas las muestras positivas por agentes bacterianos incluidos en el panel, se analizó el porcentaje de los patógenos que fueron determinados tanto por el panel molecular como por el cultivo, los detectados únicamente por la metodología molecular y los que fueron identificados únicamente por el cultivo. Paralelamente, se realizó una lista de los microorganismos más comúnmente detectados solo por cultivo (Buchan et al., 2020). Finalmente, se agruparon los resultados de cultivo negativo y cultivo positivo para cada patógeno incluido en el panel molecular, de acuerdo con el número de copia/mL detectado. (Rand et al., 2021).

### **Actividad 3: Evaluación de la concordancia entre el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el cultivo bacteriano.**

Las muestras respiratorias procesadas se clasificaron utilizando dos criterios:

1. Los patógenos bacterianos incluidos en el panel.
2. Los resultados de laboratorio: cultivo y panel positivo, cultivo positivo y panel negativo, cultivo negativo y panel positivo, y cultivo y panel negativo.

De esta forma, se calculó el porcentaje de concordancia positivo (PCP), el porcentaje de concordancia negativo (PCN), el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) total y específico para cada bacteria, entre el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el cultivo bacteriano. La FDA recomienda el uso del PCP y el PCN en vez de sensibilidad y especificidad, respectivamente, cuando se utiliza un estándar de oro no perfecto (como es el caso del cultivo bacteriano) como *test* de referencia (Buchan et al., 2020; Edin, Eilers & Allard, 2020).

Para obtener una evaluación adicional de la concordancia se calculó el coeficiente kappa ( $\kappa$ ) de Cohen. Este coeficiente permite descartar la proporción de la concordancia debida al azar. La concordancia entre ambos métodos se consideró muy buena si el valor de  $\kappa$  se encontraba entre 0.81 y 1.0, buena entre 0.61 y 0.80, moderada entre 0.41 y 0.60, baja entre 0.21 y 0.40 y pobre con valores de  $k$  menores a 0.20 (Gastli et al., 2021; Kwiecen, Kopp-Schneider & Blettner, 2011).

#### **Actividad 4: Comparación del número de copias detectado en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el número de cruces de leucocitos reportado en la tinción de Gram.**

Se estableció si existe una relación entre el número de copias detectado en el panel molecular y la respuesta inmune del paciente, representada por el número de cruces de leucocitos reportada en la tinción de Gram. Para ello, se clasificaron la cantidad de paneles que hayan dado conteos de  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $\geq 10^7$  copias/mL y aquellos que no detectaron patógenos en 3

grupos: 2+, 3+ y 4+ de leucocitos en la tinción de Gram. Posteriormente, se realizará un análisis gráfico y estadístico mediante la prueba de Chi cuadrado (Rand et al., 2021).

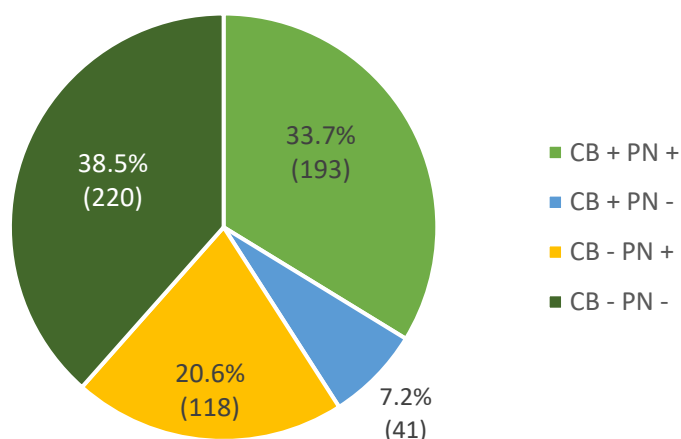
**Actividad 5: Comparación de la detección molecular y la detección fenotípica de mecanismos de resistencia a los antibióticos.**

Se determinó la concordancia entre la detección molecular de los genes de resistencia a los antibióticos incluidos en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® (resistencia a la meticilina, betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas; ver cuadro 2) y la detección fenotípica de dicha resistencia realizada a través de la prueba de sensibilidad a los antibióticos en el sistema automatizado Vitek 2 (Buchan et al., 2020).

## 7. Resultados.

### 7.1. Descripción de los datos analizados y desempeño general del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY®.

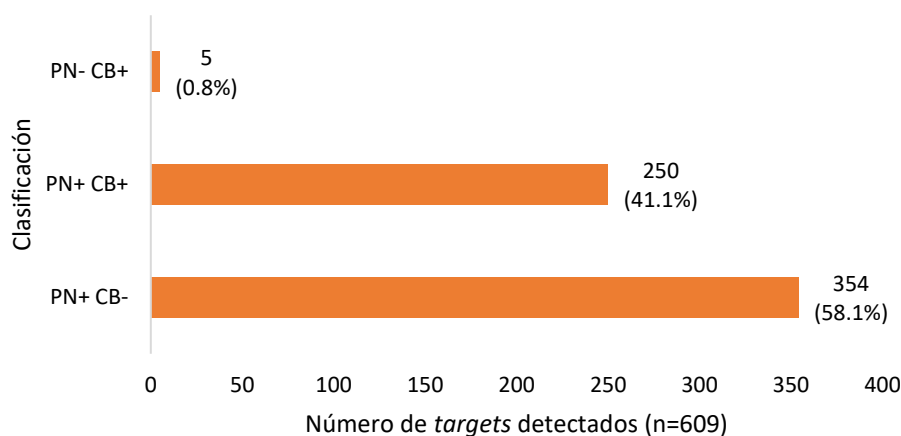
De las 572 muestras analizadas en la División de Microbiología del Laboratorio Clínico del Hospital Dr. R. A. Calderón Guardia, un 94.8% (542) correspondieron a AET, mientras que solo un 5.2% (30) a BAL. Como se observa en la figura 2, del total de muestras, un 33.7% (193) fueron reportadas como positivas por al menos uno de los patógenos incluidos en el panel, tanto por cultivo como por la metodología molecular. Por otra parte, un 20.6% (118) fueron reportadas positivas únicamente por el panel molecular.



**Figura 2.** Distribución de las muestras analizadas de acuerdo al resultado del cultivo bacteriano (CB) y del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® (PN). Un resultado positivo se denota por el signo “+” y un resultado negativo por el signo “-”.

Por otra parte, un 38.5% (220) de las muestras fueron reportadas como negativas por ambas técnicas diagnósticas. Finalmente, un 7.2% (41) de las muestras fueron reportadas negativas por la metodología molecular, pero obtuvieron un resultado positivo en el cultivo bacteriano. Estos datos representan un incremento del 61.1% en el reporte de muestras respiratorias positivas.





**Figura 3.** Distribución de los *targets* bacterianos incluidos en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® de acuerdo a su detección únicamente en cultivo (CB), panel molecular (PN) o ambos. Un resultado positivo se denota por el signo “+” y un resultado negativo por el signo “-”.

En las 572 muestras procesadas se detectaron un total de 609 *targets* bacterianos incluidos en el panel molecular. 354 de estos (58.1%) fueron detectados únicamente por la metodología molecular, mientras que 250 (41.1%) por ambas técnicas diagnósticas. En contraste, 5 de ellos (0.8%) se detectaron únicamente por cultivo. El análisis de estos datos demuestra un aumento del 139% en el reporte de los *targets* bacterianos incluidos en el PN al comparar la metodología molecular con el cultivo bacteriano. Los microorganismos no incluidos en el panel molecular fueron reportadas en un total de 53 muestras (9.3%). Dentro de los principales se encuentran *Streptococcus* del grupo viridans (n=22), *Stenotrophomonas maltophilia* (n=7), *S. epidermidis* (n=5), *H. parainfluenzae* (n=4), *N. sicca* (n=3), *H. parahaemolyticus* (n=2) y *Raoultella planticola* (n=2).

En el cuadro 3 se puede observar los patógenos bacterianos recuperados en cultivo que, al mismo tiempo, están incluidos en el panel molecular clasificados de acuerdo con el número de copia/mL en que fueron detectados. Se puede notar que los microorganismos detectados en mayor cantidad fueron *S. aureus* (n=192), *S. agalactiae* (n=72), *K. pneumoniae* (n=65),

*H. influenzae* (n=60) y *P. aeruginosa* (n=52). De los 15 patógenos analizados, la detección de 10 de ellos, en su mayoría no fue recuperada en cultivo. Con los cultivos positivos la tendencia general es observar que, a mayor número de copia, mayor era la recuperación de la bacteria en cultivo. La tendencia esperada con los cultivos negativos era a la inversa, a menor número de copia menor recuperación del microorganismo. Sin embargo, se puede observar que en este grupo existe una mayor variabilidad en los números de copia/mL en los que no se obtuvo crecimiento en placa.

**Cuadro 3.** Crecimiento en cultivo de los patógenos bacterianos detectados en el panel molecular de acuerdo con el número de copia/mL.

Microorganismo	Número de copia/mL				Total
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	
<b><i>A. calcoaceticus-baumannii</i> complex</b>					
Cultivo positivo	0	0	1	2	3
Cultivo negativo	2	0	1	0	3
<b><i>E. cloacae</i> complex</b>					
Cultivo positivo	3	1	1	7	12
Cultivo negativo	6	9	5	0	20
<b><i>K. aerogenes</i></b>					
Cultivo positivo	1	3	2	5	11
Cultivo negativo	3	3	2	0	8
<b><i>E. coli</i></b>					
Cultivo positivo	1	1	6	9	17
Cultivo negativo	7	4	2	2	15
<b><i>H. influenzae</i></b>					
Cultivo positivo	1	3	2	12	18
Cultivo negativo	8	18	9	7	42
<b><i>K. oxytoca</i></b>					
Cultivo positivo	1	0	1	1	3
Cultivo negativo	2	1	0	0	3

**Cuadro 3 Continuación.** Crecimiento en cultivo de los patógenos bacterianos detectados en el panel molecular de acuerdo con el número de copia/mL.

Microorganismo	Número de copia/mL				Total
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	
<b>Grupo <i>K. pneumoniae</i></b>					
Cultivo positivo	1	8	5	17	31
Cultivo negativo	10	13	8	3	34
<b><i>M. catarrhalis</i></b>					
Cultivo positivo	0	0	0	0	0
Cultivo negativo	2	1	1	0	4
<b><i>Proteus spp.</i></b>					
Cultivo positivo	0	1	1	2	4
Cultivo negativo	4	1	4	1	10
<b><i>P. aeruginosa</i></b>					
Cultivo positivo	2	3	7	19	31
Cultivo negativo	8	6	4	3	21
<b><i>S. marcescens</i></b>					
Cultivo positivo	1	1	4	4	10
Cultivo negativo	4	5	3	2	14
<b><i>S. agalactiae</i></b>					
Cultivo positivo	1	2	1	4	8
Cultivo negativo	15	14	19	16	64
<b><i>S. pneumoniae</i></b>					
Cultivo positivo	0	1	1	5	7
Cultivo negativo	3	4	5	3	15
<b><i>S. pyogenes</i></b>					
Cultivo positivo	0	0	0	0	0
Cultivo negativo	2	1	1	0	4
<b><i>S. aureus</i></b>					
Cultivo positivo	5	16	28	46	95
Cultivo negativo	39	33	17	8	97

**Cuadro 4.** Resumen del desempeño y las características del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® utilizando el cultivo bacteriano como estándar de oro.

Bacteria	Número de muestras				Desempeño (%; IC)				k (IC)
	CB+ PN +	CB+ PN-	CB- PN+	CB- PN-	PCP	PCN	VPP	VPN	
<i>A. baumannii</i> complex	3	1	3	565	75.0 (74.0-76.0)	99.5 (98.3-100.0)	50.0 (49.2-50.8)	99.8 (98.9-100.0)	0.60 (0.52-0.68)
<i>E. cloacae</i> complex	12	1	20	539	92.3 (91.2-93.4)	96.4 (95.3-97.6)	37.5 (36.8-38.2)	99.8 (98.8-100.0)	0.52 (0.44-0.59)
<i>K. aerogenes</i>	11	0	8	553	100.0 (99.0-100.0)	98.6 (97.4-99.7)	57.9 (57.0-58.8)	100.0 (99.0-100.0)	0.73 (0.65-0.80)
<i>E. coli</i>	17	0	15	540	100.0 (99.0-100.0)	97.3 (96.2-98.4)	53.1 (52.3-54.0)	100.0 (99.0-100.0)	0.68 (0.60-0.76)
<i>H. influenzae</i>	18	0	42	512	100.0 (99.0-100.0)	92.4 (91.3-93.5)	30.0 (29.4-30.6)	100.0 (99.0-100.0)	0.43 (0.37-0.50)
<i>K. oxytoca</i>	3	1	3	565	75.0 (74.0-76.0)	99.5 (98.3-100.0)	50.0 (49.2-50.8)	99.8 (98.9-100.0)	0.60 (0.52-0.68)
Grupo <i>K. pneumoniae</i>	31	0	34	507	100.0 (99.0-100.0)	93.7 (92.6-94.8)	47.7 (46.9-48.5)	100.0 (99.0-100.0)	0.62 (0.54-0.69)
<i>M. catarrhalis</i>	0	0	4	568	NC	99.3 (98.1-100.0)	NC	100.0 (99.0-100.0)	NC
<i>Proteus spp.</i>	4	0	10	558	100.0 (99.0-100.0)	98.2 (97.1-99.4)	28.6 (28.0-29.2)	100.0 (99.0-100.0)	0.44 (0.37-0.51)
<i>P. aeruginosa</i>	31	0	21	520	100.0 (99.0-100.0)	96.1 (95.0-97.3)	59.6 (58.7-60.5)	100.0 (99.0-100.0)	0.73 (0.65-0.81)
<i>S. marcescens</i>	10	0	14	548	100.0 (99.0-100.0)	97.5 (96.4-98.7)	41.7 (40.9-42.4)	100.0 (99.0-100.0)	0.58 (0.50-0.65)
<i>S. agalactiae</i>	8	0	64	500	100.0 (99.0-100.0)	88.7 (87.6-89.7)	11.1 (10.7-11.5)	100.0 (99.0-100.0)	0.18 (0.13-0.23)

**Cuadro 4 Continuación.** Resumen del desempeño y las características del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® utilizando el cultivo bacteriano como estándar de oro.

Bacteria	Número de muestras				Desempeño (%; IC)				<i>k</i> (IC)
	CB+ PN +	CB+ PN-	CB- PN+	CB- PN-	PCP	PCN	VPP	VPN	
<i>S. pneumoniae</i>	7	0	15	550	100.0 (99.0-100.0)	97.3 (96.2-98.5)	31.8 (31.2-32.5)	100.0 (99.0-100.0)	0.47 (0.40-0.54)
<i>S. pyogenes</i>	0	0	4	568	NC	99.3 (98.1-100.0)	NC	100.0 (99.0-100.0)	NC
<i>S. aureus</i>	95	2	97	378	97.9 (96.8-99.1)	79.6 (78.5-80.6)	49.5 (48.7-50.3)	99.5 (98.5-100.0)	0.56 (0.48-0.63)
<b>Total</b>	<b>250</b>	<b>5</b>	<b>354</b>	<b>7971</b>	<b>98.0</b> <b>(97.7-98.3)</b>	<b>95.7</b> <b>(95.4-96.0)</b>	<b>41.4</b> <b>(41.2-41.6)</b>	<b>99.9</b> <b>(99.7-100.0)</b>	<b>0.56</b> <b>(0.54-0.58)</b>

CB, cultivo bacteriano; PN, panel molecular de neumonía; PCP, porcentaje de concordancia positivo; PCN, porcentaje de concordancia negativo; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; *k*, coeficiente kappa de Cohen; IC, intervalo de confianza al 95%; NC, no calculable.

Del cuadro 3 también se logra extraer que un 64% de los cultivos negativos se obtuvo cuando el conteo era menor o igual a  $10^5$  copias/mL. Por otra parte, un 77% de los cultivos positivos se obtuvieron con un conteo mayor o igual a  $10^6$  copias/mL.

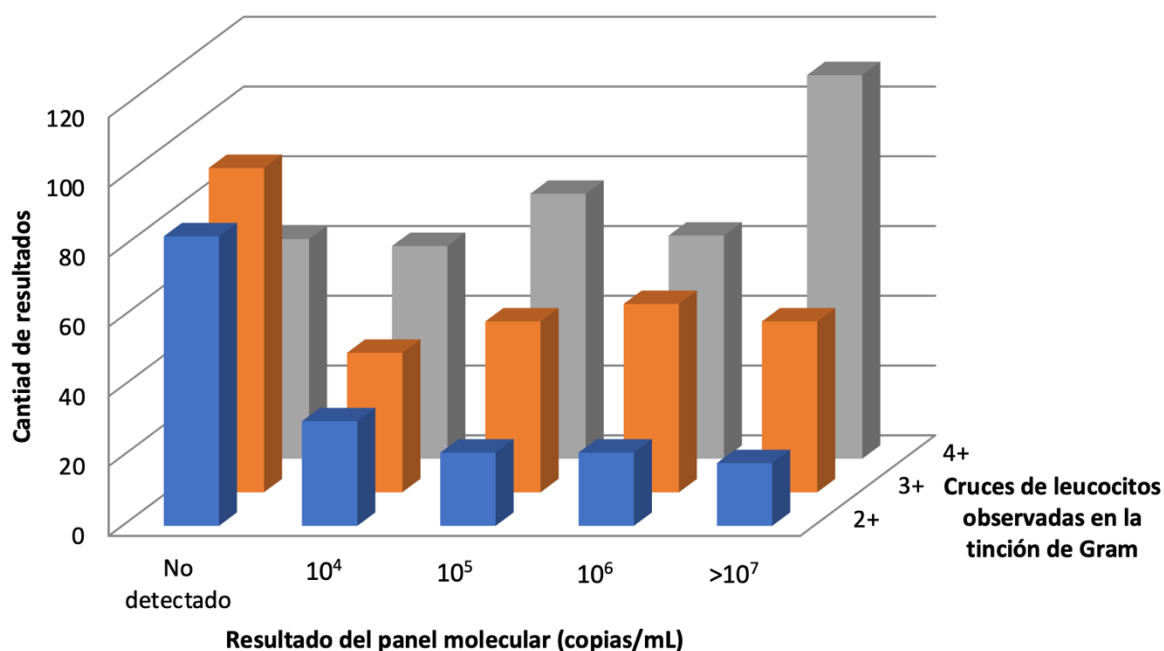
### **7.2. Evaluación de la concordancia entre el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el cultivo bacteriano.**

Como se puede observar en el cuadro 4, el panel molecular de neumonía demostró un PCP global de 98.0% (IC: 97.7%-98.3%), con los valores menores registrados para *A. baumannii* complex y *K. oxytoca*. Sin embargo, estas dos bacterias poseen un bajo número de detecciones, por lo que pequeñas variaciones en los datos afectan de forma importante el cálculo del PCP. En cuanto al PCN se obtuvo un valor global de 95.7% (IC: 95.4%-96.0%). Los valores más bajos se obtuvieron para *H. influenzae*, *S. agalactiae* y *S. aureus*.

Por otra parte, al no recuperar muchas de las detecciones del panel molecular en cultivo, los valores de VPP son bajos. El general fue de un 41.4% (IC: 41.2%-41.6%). En contraste, el VPN para todas las bacterias detectadas en el panel fue bastante alto (global de 99.9%; IC: 99.7%-100.0%). Así mismo, el coeficiente *k* global fue de 0.56 (IC: 0.54-0.58) registrándose una concordancia moderada entre ambos métodos. La concordancia más alta se presentó para *K. aerogenes*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

### **7.3. Comparación del número de copias detectado en el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el número de cruces de leucocitos reportado en la tinción de Gram.**

Se encontró una relación entre el máximo número de copias detectado por el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® y el número de cruces de leucocitos reportado en la tinción de Gram de las muestras respiratorias (ver figura 4). Por ejemplo, para aquellas muestras donde se obtuvo un conteo  $\geq 10^7$  copias/mL para al menos un patógeno, un 10% poseían 2+ de leucocitos en la tinción de Gram, un 28% 3+ y un 62% 4+ ( $p < 0.00001$ , prueba de Chi cuadrado 5x3).



**Figura 4.** Distribución de los resultados del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® en función del número de copias/mL detectado y de las cruces de leucocitos observadas en la tinción de Gram de las muestras respiratorias. Para esta figura,  $p < 0.00001$ , prueba de Chi cuadrado 5x3.

#### **7.4. Comparación de la detección molecular y la detección fenotípica de mecanismos de resistencia a los antibióticos.**

Los marcadores de resistencia antimicrobiana son reportados por el panel molecular de neumonía de forma condicional. Esto quiere decir que ciertos genes son reportados únicamente cuando patógenos específicos son detectados (ver cuadro 1). La determinación de MRSA se basa en la detección de los genes *mecA* y *mecC* así como de la unión de extremidad derecha del casete estafilocócico *mec* SCCmec (MREJ; Buchan et al., 2020).

*S. aureus* fue detectado, tanto en el panel molecular como en el cultivo bacteriano, en un total de 95 muestras. Para estas 95 muestras, se obtuvo los resultados de la detección fenotípica de la resistencia a la meticilina (cuadro 5). El porcentaje de aislamientos de *S. aureus* meticilino sensible (MSSA) fue de un 70%. Con estos datos, tomando el cultivo bacteriano

como el estándar de oro, el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® demostró una sensibilidad de 96.4%, una especificidad de 86.6%, un valor predictivo positivo de 75.0% y un valor predictivo negativo de 98.3% para la identificación de MRSA.

**Cuadro 5.** Contraste de la detección fenotípica y molecular de la resistencia en *S. aureus* aislados de muestras respiratorias.

Resultado del cultivo	mecA/C, MREJ		Total
	Detectado	No detectado	
MRSA	27	1	28
MSSA	9	58	67
<b>Total</b>	36	59	95

Por otra parte, en cuanto a los bacilos Gram negativos, se analizaron 16 de muestras en las que se detectaron tanto patógenos como marcadores de resistencia y al menos 1 de estos patógenos creció en el cultivo (cuadro 6). El principal gen de resistencia detectado fue *bla<sub>CTX-M</sub>* que codifica por una BLEE (15 detecciones). Del total de detecciones, en 11 de ellas hubo una correspondencia fenotípica. Adicionalmente, hubo una muestra (número 9) donde no se detectó el gen *bla<sub>CTX-M</sub>*, pero la bacteria aislada si expresó un fenotipo compatible con una BLEE.

En cuanto a la resistencia a carbapenémicos, solo se detectó un gen que codifica por carbapenemasas: *bla<sub>OXA-48</sub>*. Sin embargo, la *S. marcescens* que se detectó en el panel no expresó fenotípicamente esta resistencia. Por otra parte, en uno de los cultivos se obtuvo un aislamiento de *P. aeruginosa* no susceptible a carbapenémicos (muestra 7). Esta bacteria fue detectada en el panel, sin embargo no se detectó ningún gen productor de carbapenemasas. La presencia de resistencia enzimática fue luego descartada por una prueba negativa de Carba NP.



**Cuadro 6.** Contraste de la detección fenotípica y molecular de la resistencia en bacilos Gram negativos aislados de muestras respiratorias.

Número	Target bacteriano detectado en el panel	Gen de resistencia detectado en el panel	Resultado de cultivo	Resultado fenotípico de susceptibilidad
1	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>4</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
2	<i>S. marcescens</i> , 10 <sup>6</sup>	OXA-48	<i>S. marcescens</i>	Susceptible a carbapenems (MIC)
3	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
4	<i>K. aerogenes</i> , 10 <sup>6</sup>	CTX-M	<i>K. aerogenes</i>	Productora de AmpC (MIC)
	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>4</sup>		ND	NA
5	<i>E. coli</i> , 10 <sup>6</sup>	CTX-M	<i>E. coli</i>	BLEE positivo
	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>4</sup>		ND	NA
6	<i>E. cloacae</i> 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>E. cloacae</i>	Susceptible a β-lactámicos (MIC)
	<i>Proteus spp.</i> 10 <sup>7</sup>		ND	NA
	<i>K. pneumoniae</i> 10 <sup>5</sup>		ND	NA
	<i>E. coli</i> , 10 <sup>4</sup>		ND	NA
7	<i>P. aeruginosa</i> , 10 <sup>5</sup>	CTX-M	<i>P. aeruginosa</i>	Sospecha de carbapenemasa (MIC), Carba NP negativo
	<i>K. aerogenes</i> , 10 <sup>4</sup>		<i>K. aerogenes</i>	Susceptible a β-lactámicos (MIC)
8	<i>P. aeruginosa</i> , 10 <sup>6</sup>	CTX-M	<i>P. aeruginosa</i>	Susceptible a β-lactámicos (MIC)
	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>6</sup>		<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
	<i>E. cloacae</i> , 10 <sup>5</sup>		ND	NA
9	<i>E. coli</i> , 10 <sup>4</sup>	ND	<i>E. coli</i>	BLEE positivo
10	<i>K. pneumoniae</i> 10 <sup>5</sup>	CTX-M	<i>E. cloacae</i>	Susceptible a β-lactámicos (MIC)
11	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
	<i>E. cloacae</i> , 10 <sup>4</sup>		ND	NA
12	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>5</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo

**Cuadro 6 Continuación.** Contraste de la detección fenotípica y molecular de la resistencia en bacilos Gram negativos aislados de muestras respiratorias.

Número	Target bacteriano detectado en el panel	Gen de resistencia detectado en el panel	Resultado de cultivo	Resultado fenotípico de susceptibilidad
13	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
	<i>S. marcescens</i> , 10 <sup>7</sup>		ND	NA
	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex, 10 <sup>6</sup>		ND	NA
	<i>E. cloacae</i> , 10 <sup>6</sup>		ND	NA
14	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex, 10 <sup>4</sup>		ND	NA
	<i>E. coli</i> , 10 <sup>4</sup>		ND	NA
15	<i>E. coli</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>E. coli</i>	BLEE positivo
16	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
	<i>P. aeruginosa</i> , 10 <sup>4</sup>		ND	NA
17	<i>K. pneumoniae</i> , 10 <sup>7</sup>	CTX-M	<i>K. pneumoniae</i>	BLEE positivo
	<i>E. coli</i> , 10 <sup>6</sup>		<i>E. coli</i>	BLEE positivo

BLEE, beta-lactamasa de espectro extendido; MIC, concentración mínima inhibitoria; ND, no detectado; NA, no aplica.

## 8. Discusión.

El panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® permite acelerar el diagnóstico de las neumonías en comparación con otros métodos tradicionales como el cultivo. El consumo de esta herramienta molecular se ha visto incrementado en los últimos años en el hospital Dr. R. A. Calderón Guardia, sobre todo con la pandemia causada por el virus SARS-CoV-2. Por lo tanto, es necesario evaluar el grado de concordancia de este método diagnóstico con el cultivo bacteriano de forma que se pueda mejorar el uso y la interpretación de los resultados del mismo.

En cuanto al desempeño general del panel molecular se observa una mayor sensibilidad en comparación con el cultivo bacteriano al aumentar el reporte de muestras positivas en un 61%, y en un 139% el reporte de *targets* bacterianos incluidos en el mismo. Estos valores son similares e incluso mayores a los mostrados en otros estudios, en los que se han registrado aumentos en el reporte de muestras positivas de 63.3% y 70%. Así mismo, se han obtenido aumentos en el reporte de *targets* bacterianos de 70.3%, 94.8% y 120% (Buchan et al., 2020; Ferrer et al., 2022; Lee et al., 2019). Los porcentajes superiores obtenidos en este estudio se pueden explicar por un alto análisis de AET (94.8% de las muestras). Los tubos endotraqueales son dispositivos que se colonizan incluso hasta 24 horas después de colocados por la formación de biopelículas. Estas comunidades funcionan posteriormente como reservorio de microorganismos que potencialmente causan infecciones (Diaconu et al., 2018; Ferrer et al., 2022).

El incremento de resultados positivos reportados por el panel molecular se debe a varias razones. Una de ellas es que se detectan tanto microorganismos viables como no viables. Adicionalmente, se detectan microorganismos por debajo del límite de detección del cultivo. Por otra parte, no se es susceptible a ciertas limitaciones que tiene el cultivo bacteriano. Las muestras respiratorias son una matriz compleja en la que están inmersos los patógenos bacterianos, por lo que se puede llegar a dificultar la recuperación de microorganismos

fastidiosos. Así mismo, no es una técnica que se vea afectada por la respuesta inmune del paciente o por el uso previo de antibióticos (Buchan et al., 2020; Molina et al., 2022).

Varios de los microorganismos que fueron reportados en cultivo, pero que no están incluidos en el panel se consideran microbiota normal, o son considerados patógenos únicamente si están en cultivos puros o si son el microorganismos predominante (Buchan et al. 2020). La identificación de algunos de ellos se dio gracias a la llegada de tecnologías avanzadas al laboratorio como la espectrometría de masas MALDI-TOF. La posibilidad de emitir un reporte de identificación para este tipo de microorganismos, por lo tanto, debería de ir acompañada de una leyenda donde se advierta la naturaleza colonizante de los mismos y que su interpretación debe ir acompañada de la clínica del paciente.

Los microorganismos detectados en mayor cantidad durante el periodo julio 2020 – julio 2021 fueron *S. aureus*, *S. agalactiae*, *K. pneumoniae*, *H. influenzae* y *P. aeruginosa*. Exceptuando a *S. agalactiae*, estos patógenos son ubicados por ciertos estudios como dentro de las 10 principales bacterias involucradas en la neumonía asociada a la atención a la salud (Jones, 2010). En el caso de *S. agalactiae*, en algunos estudios se ubica como un microorganismo que coloniza el tracto respiratorio superior, particularmente la cavidad oral y la garganta (Martins et al., 2022). Por lo tanto, a la hora de intubar a los pacientes, esta bacteria puede estar llegando a formar parte de las biopelículas que se forman en estos dispositivos, lo que explicaría esta alta detección. La importancia clínica de estos hallazgos requiere de mayores estudios, principalmente por el incremento de infecciones causadas por *S. agalactiae* que se ha visto en adultos no gestantes, particularmente aquellos con diabetes, enfermedades malignas, cirrosis, edad avanzada o inmunosupresión (Shabayek & Spellerberg, 2018).

En otros estudios se han reportado valores similares de PCP (94.4%-98.5%), PCN (76.5%-96.2%), VPP (56.0%) y VPN (99.7%) a los obtenidos en el presente trabajo. El valor del coeficiente  $k$  si fue menor que el obtenido en otro estudio donde la concordancia fue buena (0.68; Buchan et al., 2020; Gastli et al., 2021; Yoo et al., 2020). Recientemente un estudio en Taiwán demostró que el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® cubre

aproximadamente un 70-90% de los patógenos más comunes involucrados en la NAC y de un 70-80% de los más prevalente en la NAAS (Lee et al., 2019). Esto sumado al alto valor predictivo negativo reportado por este y otros trabajos permite que, al obtener un resultado negativo, se puede excluir la posibilidad de una infección bacteriana. Esto, a su vez, permite suspender o no iniciar una terapia antibiótica en el paciente y contribuir con los programas de optimización de antimicrobianos (Molina et al., 2022). Sin embargo, es importante siempre tomar en cuenta la clínica del paciente ya que ciertas bacterias como *Citrobacter* sp., *S. maltophilia* y *Achromobacter* sp. no se incluyen en esta herramienta molecular.

Los valores de PCN y VPP muestran que no se obtiene una concordancia perfecta entre ambos métodos diagnósticos. En ambos casos, la discrepancia se da por una mayor detección de patógenos por el panel molecular. Algunas posibles causas de esta discrepancia ya fueron citadas anteriormente. Por ejemplo, en el cultivo bacteriano se dificulta la recuperación de microorganismos fastidiosos, y se ve afectado por la antibioticoterapia previa o la respuesta inmune del paciente (Buchan et al., 2020; Molina et al., 2022).. La naturaleza fastidiosa de los microorganismos se puede notar en los valores de VPP bajos obtenidos para *H. influenzae* y *S. pneumoniae*. Adicionalmente, en el cultivo se puede tener dificultad para identificar microorganismos que se encuentre en baja cantidad en una muestra polimicrobiana (Buchan, Armand-Lefreve & Anderson, 2021). Otra posible causa de las discrepancias entre ambas técnicas es que el cultivo de muestras respiratorias es reportado según ciertas guías clínicas. Las instrucciones de estas guías muchas veces excluyen el reporte de ciertos microorganismos de acuerdo con la cantidad o el cuadrante en que han crecido (Leber, 2016). Por lo tanto, aunque el microorganismo haya sido detectado por el panel y haya crecido en la placa, no es reportado si no cumple con las reglas establecidas.

Los resultados positivos en el panel molecular y negativos en cultivo deben ser interpretados con precaución. En varios estudios se ha visto que los valores de copias/mL reportados por el panel son aproximadamente de 1 hasta 3 logaritmos mayor de lo conteos que se obtienen en cultivo. Por lo tanto, podemos tener resultados positivos por la herramienta molecular que se encuentren por debajo del límite de detección del cultivo (Ferrer et al., 2022; Kamel et al., 2022). Adicionalmente, se pueden detectar microorganismos no viables o colonizantes. A

pesar de que el reporte semicuantitativo de los patógenos ayuda, la distinción de un microorganismo colonizante y uno infectante continúa siendo un reto. Por lo tanto, estos resultados deben ser analizados en conjunto con la clínica del paciente y la epidemiología local de cada centro de salud.

Por esta razón, se han intentado generar recomendaciones sobre los conteos a los cuáles se recomienda el inicio de terapia antimicrobiana en los pacientes. Por ejemplo, Kolenda et al. (2020) establecen el valor de  $10^6$  copias/mL como punto de corte recomendado para la instauración de antibióticos. De acuerdo con los resultados de este estudio, podría ser una guía importante ya que el 77% de los cultivos positivos poseían un conteo  $\geq 10^6$  copias/mL y un 64% de los cultivos negativos poseía un conteo  $\leq 10^5$  copias/mL. Sin embargo, aún con un conteo de  $\geq 10^6$  copias/mL, se obtienen cultivos negativos o con crecimiento en cantidades en que las guías no recomiendan el reporte de los microorganismos (Ferrer et al., 2022). Por lo tanto, se requieren de más estudios para llegar a un valor consenso en este tema.

Los resultados falsos negativos (panel molecular negativo y cultivo bacteriano positivo) ocurrieron en menor cantidad. Una de las explicaciones para esta discrepancia es la presencia de mutaciones puntuales que pueden afectar la unión de los cebadores durante la PCR (Gastli et al., 2021). Este tipo de resultados también podrían darse por amplificación inespecífica. En el documento de la FDA donde se evalúa el panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® se describen que ciertos microorganismos como *E. cloacae* pueden provocar amplificaciones inespecíficas. En el laboratorio se tuvo una muestra donde el panel detectó una *K. pneumoniae* a nivel molecular, pero se tuvo el crecimiento en cultivo de *E. cloacae*. Estas reacciones registradas podrían explicar este tipo de hallazgo. Para estos casos, tampoco se puede descartar la contaminación de la muestra con sustancias interferentes para la PCR. Para este panel, se han registrado como interferentes el NaOH al 1.0% y el hipoclorito de sodio al 1.0 %v/v (BioFire Diagnostics, 2018).

Por medio del análisis estadístico, se encontró una relación entre el máximo número de copias/mL detectado por el panel molecular y la respuesta inmune, representada por el

número de cruces de leucocitos reportados en la tinción de Gram inicial. Esta relación se presentó a pesar de ciertas limitaciones como la variabilidad en la interpretación individual de la tinción de Gram. En este estudio se tienen limitaciones adicionales como la coinfección por SARS-CoV-2 que poseían mucho de estos pacientes, lo que genera una respuesta inmune por sí mismo a nivel pulmonar. Además, la intubación a la que fueron sometidos la mayoría de los pacientes también puede provocar un daño en la mucosa respiratoria, incitando de igual forma una respuesta inmune (Rand et al., 2020). Estos hallazgos recalcan la importancia de valorar la tinción de Gram antes de procesar una muestra respiratoria, ya sea por métodos convencionales o por herramientas moleculares.

La detección temprana de marcadores genéticos de resistencia (*mecA*, carbapenemasas y BLEEs) es un beneficio para los centros de salud. Esta herramienta se ha asociado con una mayor supervivencia de los pacientes, una menor frecuencia y duración de terapia antibiótica inadecuada, menor estancia hospitalaria y menores costos para el sistema de salud (Bassetti et al., 2020; Bauer et al., 2010). En cuanto a la detección de MRSA, los valores de sensibilidad y especificidad fueron diferentes a los obtenidos en el ensayo clínico para muestras de BAL (88.9% y 91.4% respectivamente; Murphy et al., 2020). Por otra parte, muy semejante a ensayos para la detección de MRSA en muestras nasales y BAL, se obtuvo un alto valor predictivo negativo (98.9%-99.7%; Leone et al., 2013; Yarbrough et al., 2018). Este alto valor predictivo negativo evita la instauración innecesaria de vancomicina o linezolid, así como una desescalación antibiótica más rápida cuando los genes no son detectados.

La discrepancia en los resultados entre el panel molecular y la detección fenotípica de la resistencia a la meticilina puede darse por varias razones. Muestras con aislamientos de *S. aureus* que contienen la secuencia MREJ, pero carecen del gen *mecA*, así como la presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCoN) resistentes a meticilina pueden llevar a resultados falsos positivos (Aydiner et al., 2012; Buchan et al., 2020). Los SCoN cobran particular importancia en este escenario ya que frecuentemente pueden colonizar los tubos endotraqueales (Cader, Shah & Nair, 2020). Resultados falsos negativos pueden deberse a aislamientos de *S. aureus* con mutaciones en las secuencias de la región MREJ a la que van

dirigidos los *primers* del panel (Murphy et al., 2020). La circulación diferencial de alguna de estas variantes en nuestra región podría explicar las diferencias en los resultados con otros estudios.

La discrepancia en los resultados también se puede explicar por la existencia de una población mixta de MSSA y MRSA en las muestras. Resultados falsos positivos pueden darse por un crecimiento predominante de la población MSSA y una consecuente inhibición de la población MRSA. De igual forma, se puede presentar falsos negativos si la población MRSA se encuentra por debajo del límite de detección del panel molecular (Buchan et al., 2020).

La detección molecular de la resistencia antimicrobiana en bacterias Gram negativas es más complicada dado los múltiples mecanismos que se han descrito. Las razones para obtener una discrepancia entre los métodos genotípicos y los fenotípicos son varias. Por ejemplo, la presencia de un cultivo mixto o de una subpoblación heterorresistente, la pérdida del plásmido acarreador del gen de resistencia por falta de presión selectiva, una falta de expresión del gen y, en el caso de las carbapenemasas, porinas intactas con una baja expresión de la enzima (Yee, Bard & Simner, 2021). Adicionalmente, y lo que representa una desventaja de los métodos moleculares, es que la detección de uno de estos genes no se puede asociar a una bacteria en específico. Esto porque pueden existir en la muestra otros patógenos no detectados por el panel o que se encuentran por debajo del límite de detección (Yoo et al., 2020).

Con respecto a la detección de BLEEs (mediante el gen *bla<sub>CTX-M</sub>*) se obtuvo, de manera general, una buena concordancia fenotípica (11/15 detecciones). Los resultados discordantes en 4 de estas detecciones se pueden deber a alguna de las razones expuestas en el párrafo anterior. En la muestra 4 y 6 sucedió un fenómeno interesante: la detección de múltiples patógenos. En estos dos casos, el gen *bla<sub>CTX-M</sub>* pudo haber estado presente en alguna de las bacterias que no logró recuperarse en cultivo, ya sea por pérdida de viabilidad o por inhibición por el crecimiento del otro o los otros patógenos presentes en la muestra.



Cabe destacar nuevamente que en la muestra 9 (ver cuadro 6), la *E. coli* aislada en cultivo mostró un fenotipo compatible con una BLEE pese a no tener la detección del gen *bla<sub>CTX-M</sub>*. A pesar de que las BLEE de tipo CTX-M son las que circulan en mayor cantidad, existen otras variantes como las del tipo TEM y SHV que no son detectadas por el panel (Paterson & Bonomo, 2005). Por lo tanto, la resistencia en este aislamiento puede deberse a estos tipos de BLEE. Esto podría confirmarse con estudios de secuenciación o PCR.

En cuanto a la detección de carbapenemasas, solo se obtuvo un aislamiento de *S. marcescens* al que se le detectó el gen *bla<sub>OXA-48</sub>*. Sin embargo, no se obtuvo un fenotipo de resistencia a los carbapenémicos. Las posibles razones fueron citadas anteriormente. En estos casos, donde el panel reporta un gen que codifica por una carbapenemasa y se obtiene un aislamiento susceptible a los carbapenémicos, se pueden realizar pruebas adicionales. Una de ellas son los ensayos fenotípicos de actividad carbapenemasa como el Rapidec® CarbaNP y el mCIM. Estos permiten confirmar la expresión de un gran repertorio de estas enzimas (Yee et al., 2021).

En ciertas regiones, la resistencia a carbapenémicos por parte de *P. aeruginosa* es dada principalmente por la expresión de bombas de eflujo o la modificación de porinas, mientras que la producción de carbapenemasa es baja (Walters et al., 2019). Por estos casos, se dice que la detección molecular de genes productores de carbapenemasas en el panel en microorganismos no Enterobacterias posee un valor predictivo negativo limitado en la identificación de la resistencia a estos antibióticos (Buchan et al., 2020). Por esto, es fundamental conocer la epidemiología de cada centro hospitalario y de los servicios que solicitan estas pruebas. Esto con el propósito de que, si la incidencia de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos por impermeabilidad o eflujo es alta, no es posible desescalar la terapia antibiótica hasta contar con el resultado del antibiograma.

Con todos estos hallazgos es importante tomar en cuenta que la detección de la resistencia antimicrobiana por parte del panel molecular de neumonía es una guía importante para la instauración o modificación de la terapia antibiótica. Sin embargo, la no detección de un gen no es sinónimo de sensibilidad a un determinado antibiótico dado los variados mecanismos

de resistencia que existen, sobre todo en bacterias Gram negativas. Por lo tanto, la elección del tratamiento definitivo y más adecuado para el paciente siempre debe hacerse en conjunto con el reporte de cultivo y PSA emitido por el laboratorio (Yoo et al., 2020).

Este trabajo posee algunas limitaciones. La primera de ellas es que se trata de un estudio retrospectivo. Para poder evaluar los efectos clínicos del panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® en el manejo de los pacientes es necesario un estudio prospectivo a gran escala. Segundo, se asumió que todas las muestras enviadas eran de pacientes con sospecha clínica de neumonía. Sin embargo, algunas de ellas podrían ser enviadas de pacientes asintomáticos recientemente trasplantados, como parte de un programa de vigilancia. Adicionalmente, la población en estudio fue bastante heterogénea, lo que dificulta un poco la interpretación de los resultados (Buchan et al., 2020; Edin et al., 2020; Yoo et al., 2020). Otra posible limitación podría ser que el estudio fue realizado en una única institución, por lo que la aplicabilidad a otros centros o regiones puede ser limitada (Rand et al., 2020). Sin embargo, esta se ve disminuida al encontrar resultados semejantes en otros estudios a nivel internacional.

## 9. Conclusiones.

El panel molecular de neumonía BIOFIRE® FILMARRAY® es una herramienta que permite acelerar el diagnóstico etiológico de este cuadro clínico. En comparación con el cultivo bacteriano, posee una sensibilidad incrementada, por lo que los resultados positivos deben ser interpretados tomando en cuenta la clínica del paciente y la epidemiología local del centro de salud. Las principales discrepancias entre la herramienta molecular y el cultivo bacteriano se dan por el uso previo de antibióticos, la influencia de la respuesta inmune del paciente sobre la segunda metodología, la naturaleza fastidiosa de algunos microorganismos, el reporte de cultivo según las guías clínicas, entre otros. Cabe destacar el alto valor predictivo negativo del panel, por lo que un resultado negativo permite excluir con alta probabilidad una infección bacteriana.

La relación que existe entre el número de copias/mL detectado por el panel molecular y la respuesta inmune del paciente, representado por el número de cruces de leucocitos en la tinción de Gram, revela la importancia previa de la evaluación de las muestras para su procesamiento por diagnóstico molecular o por métodos convencionales. Por otra parte, la detección de marcadores genéticos de resistencia a los antibióticos es un valor agregado del panel que permite un ajuste o una correcta instauración de la terapia antimicrobiana. Estos hallazgos deben ser interpretados en conjunto con el cultivo, ya que se puede tener la presencia de poblaciones mixtas o heterorresistente. Adicionalmente, existe una gran diversidad de mecanismos de resistencia, sobre todo en bacterias Gram negativas, y no todos son detectados por el panel.

El panel molecular no debe verse como una sustitución a los métodos tradicionales de diagnóstico, como el cultivo bacteriano, sino como un complemento a los mismos. El reporte final debe basarse en una combinación de ambas técnicas, de forma que se reporten aquellos microorganismos viables, que crezcan de forma importante en el cultivo y los mecanismos de resistencia expresados por los mismos. Estas combinaciones metodológicas no solo permiten agilizar el diagnóstico del paciente, sino que también contribuyen a fortalecer los programas de optimización de antimicrobianos de los centros de salud.

## 10. Bibliografía.

Aydiner, A., Lüsebrink, J., Schildgen, V., Winterfeld, I., Knüver, O., Schwarz, K., Messler, S., Schildgen, O., & Mattner, F. (2012). Comparison of two commercial PCR methods for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) screening in a tertiary care hospital. *PLoS ONE*, 7(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043935>.

BioFire Diagnostics LLC. 2018. *510(k) substantial equivalence determination summary K180966: FilmArray pneumonia panel*. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Washington, DC.

Biomérieux. (9 de mayo de 2022). *BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia panel plus*. Diagnóstico clínico. <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/biofirer-filmarrayr-pneumonia-panel-plus>.

Bassetti, M., Kanj, S. S., Kiratisin, P., Rodrigues, C. Van Duin, D., Villegas M. V., & Yu, Y. (2022). Early appropriate diagnostics and treatment of MDR Gram-negative infections. *JAC Antimicrobial Resistance*, 4(5), dlac089. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac089>.

Bauer, K. A., West, J. E., Balada-Llasat, J-M. Pancholi, P., Stevenson, K. B., & Goff, D. A. (2010). An antimicrobial stewardship program's impact. *Clinical Infectious Diseases*, 51(9), 1074-1080. <https://doi.org/10.1086/656623>.

Buchan, B. W., Windham, S., Balada-Llasat, J-M., Leber, A., Harrington, A., Relich, R., Murphy, C., Dien, J., Naccache, S., Ronen, S., Hopp, A., Mahmutoglu, D., Faron, M. L., Ledebor, N. A., Carroll, A., Stone, H., Akerele, O., Everhart, K., Bonwit, A.,... Huang, A. (2020). Practical comparison of the BioFire FilmArray pneumonia panel to routine diagnostic methods and potential impact on antimicrobial stewardship in adult

hospitalized patients with lower respiratory tract infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(7), e00135-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00135-20>.

Buchan, B. W., Armand-Lefevre, L., & Anderson, N. (2021). Molecular diagnosis of pneumonia (including multiplex panels). *Clinical Chemistry*, 68(1), 59–68. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvab143>.

Cader, S. H. A., Shah, F. A., & Nair, S. K. G. R. (2020). Tracheostomy colonisation and microbiological isolates of patients in intensive care units - a retrospective study. *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery*, 6(1), 49–52. <https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2019.04.002>.

Cilloniz, C., Martin-Loeches, I., García-Vidal, C., San José, A., & Torres, A. (2016). Microbial etiology of pneumonia: epidemiology, diagnosis and resistance patterns. *International Journal of Molecular Sciences*, 17. <https://doi.org/10.3390/ijms17122120>.

Diaconu, O., Siriopol, I., Poloşanu, L. I., & Grigoraş, I. (2018). Endotracheal tube biofilm and its impact on the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *The Journal of Critical Care Medicine*, 4(2), 50–55. <https://doi.org/10.2478/jccm-2018-0011>.

Edin, A., Eilers, H., & Allard, A. (2020). Evaluation of the Biofire Filmarray Pneumonia panel plus for lower respiratory tract infections. *Infectious Diseases*, 52(7), 479–488. <https://doi.org/10.1080/23744235.2020.1755053>.

Ferrer, J., Clari, M. Á., Giménez, E., Carbonell, N., Torres, I., Blasco, M. L., Albert, E., & Navarro, D. (2022). The Biofire® Filmarray® Pneumonia Plus panel for management of lower respiratory tract infection in mechanically-ventilated patients in the COVID-19 era: A diagnostic and cost-benefit evaluation. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 105, 115847. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2022.115847>.

- Gastli, N., Loubinoux, J., Daragon, M., Lavigne, J-P., Saint-Sardos, P., Pailhoriès, H., Lemarié, C., Benmansour, H., d'Humières, C., Broutin, L., Dauwalder, O., Levy, M., Auger, G., Kernéis, S., Cattoir, V., & the French FA-PP study group. (2021). Multicentric evaluation of BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid bacteriological documentation of pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection*, 27, 1308-1314. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.11.014>.
- Huang, W-Y., Lee, M-S., Lin, L-M., & Liu, Y-C. (2020). Diagnostic performance of the sputum Gram stain in predicting sputum culture results for critically ill pediatric patients with pneumonia. *Pediatrics and Neonatology*, 61, 420-425. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2020.03.014>.
- Jones, R. N. (2010). Microbial etiologies of hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*, 51(1), S81-S87. <https://doi.org/10.1086/653053>.
- Kamel, N. A., Alshahrani, M. Y., Aboshanab, K. M., & el Borhamy, M. I. (2022). Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel Plus to the conventional diagnostic methods in determining the microbiological etiology of hospital-acquired pneumonia. *Biology*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/biology11030377>.
- Kolenda, C., Ranc, A. G., Boisset, S., Caspar, Y., Carricajo, A., Souche, A., Dauwalder, O., Verhoeven, P. O., Vandenesch, F., & Laurent, F. (2020). Assessment of respiratory bacterial coinfections among Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-positive patients hospitalized in intensive care units using conventional culture and BioFire, FilmArray Pneumonia Panel plus Assay. *Open Forum Infectious Diseases*, 7(11). <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa484>.

- Kwiecien, R., Kopp-Schneider, A., & Blettner, M. (2011). Konkordanzanalyse: Teil 16 der serie zur bewertung wissenschaftlicher publikationen. *Deutsches Arzteblatt*, *108*(30), 515–521. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2011.0515>.
- Leber, A. L. (Ed.). (2016). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology.
- Lee, S. H., Ruan, S. Y., Pan, S. C., Lee, T. F., Chien, J. Y., & Hsueh, P. R. (2019). 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. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *52*(6), 920–928. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.10.009>.
- Leone, M., Malavieille, F., Papazian, L., Meyssignac, B., Cassir, N., Textoris, J., Antonini, F., la Scola, B., Martin, C., Allaouchiche, B., & Hraiech, S. (2013). Routine use of *Staphylococcus aureus* rapid diagnostic test in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Critical Care*, *17*(4). <https://doi.org/10.1186/cc12849>.
- Martins, E. R., Nascimento do Ó, D., Marques Costa, A. L., Melo-Cristino, J., & Ramirez, M. (2022). Characteristics of *Streptococcus agalactiae* colonizing nonpregnant adults support the opportunistic nature of invasive infections. *Microbiology Spectrum*, *10*(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.01082-22>.
- Molina, F. J., Botero, L. E., Isaza, J. P., Cano, L. E., López, L., Tamayo, L., & Torres, A. (2022). Diagnostic concordance between BioFire® FilmArray® Pneumonia Panel and culture in patients with COVID-19 pneumonia admitted to intensive care units: the experience of the third wave in eight hospitals in Colombia. *Critical Care*, *26*(130). <https://doi.org/10.1186/s13054-022-04006-z>.

- Murdoch, D. R., O'Brien, K. L., Driscoll, A. J., Karron, R. A., & Bhat, N. (2012). Laboratory methods for determining pneumonia etiology in children. *Clinical Infectious Diseases*, 54(S2), S146-52. <https://doi.org/10.1093/cid/cir1073>.
- Murphy, C. N., Fowler, R., Miquel Balada-Llasat, J., Carroll, A., Stone, H., Akerele, O., Buchan, B., Windham, S., Hopp, A., Ronen, S., Relich, R. F., Buckner, R., Warren, D. A., Humphries, R., Campeau, S., Huse, H., Chandrasekaran, S., Leber, A., Everhart, K., ... Bourzac, K. M. (2020). Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for detection and quantification of agents of lower respiratory tract infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(7), e00128-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00128>.
- Ogawa, H., Kitsios, G. D., Iwata, M., & Terasawa, T. (2020). Sputum Gram stain for bacterial pathogen diagnosis in community-acquired pneumonia: a systematic review and Bayesian meta-analysis of diagnostic accuracy and yield. *Clinical Infectious Diseases*, 71(3), 499-513. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz876>.
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>.
- Qureshi, S., Maria, N., Zeeshan, M., Irfan, S., & Qamar, F. N. (2021). Prevalence and risk factors associated with multi-drug resistant organisms (MDRO) carriage among pediatric patients at the time of admission in a tertiary care hospital of a developing country. A cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 21(547). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06275-5>.
- Rand, K. H., Beal, S. G., Cherabuddi, K., Couturier, B., Lingenfelter, B., Rindlisbacher, C., Jones, J., Houck, H. J., Lessard, K. J., & Tremblay, E. E. (2021). Performance of a semiquantitative multiplex bacterial and viral PCR panel compared with standard



microbiological laboratory results: 396 patients studied with the BioFire pneumonia panel. *Open Forum Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa560>.

Shabayek, S., & Spellerberg, B. (2018). Group B streptococcal colonization, molecular characteristics, and epidemiology. *Frontiers in Microbiology*, 9(437). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00437>.

Torres, A., Cilloniz, C., Niederman, M. S., Menéndez, R., Chalmers, J. D., Wunderink, R. G., & van der Poll, T. (2021). Pneumonia. *Disease Primers*, 7(25). <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00259-0>.

Torres, A., Lee, N., Cilloniz, C., Vila, J., & der Erden, M. V. (2016). Laboratory diagnosis of pneumonia in the molecular age. *European Respiratory Journal*, 48, 1764-1778. <https://doi.org/10.1183/13993003.01144-2016>.

Walters, M. S., Grass, J. E., Bulens, S. N., Hancock, E. B., Phipps, E. C., Muleta, D., Mounsey, J., Kainer, M. A., Concannon, C., Dumyati, G., Bower, C., Jacob, J., Cassidy, P. M., Beldavs, Z., Culbreath, K., Phillips, W. E., Hardy, D. J., Vargas, R. L., Oethinger, M., ... Kallen, A. (2019). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* at US emerging infections program sites, 2015. *Emerging Infectious Diseases*, 25(7), 1281–1288. <https://doi.org/10.3201/eid2507.181200>.

Yarbrough, M. L., Warren, D. K., Allen, K., Burkholder, D., Daum, R., Donskey, C., Knaack, D., LaMarca, A., May, L., Miller, L. G., Parenti, D. M., Peterson, L., Tan, T. Y., Widen, R., Hernandez, D. R., Wolk, D. M., & Burnham, C-A. D. (2018). Multicenter evaluation of the Xpert MRSA NxG Assay for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in nasal swabs. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(1), e01381-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01381-17>.

- Yee, R., Bard, J. D., & Simner, P. J. (2021). The genotype-to-phenotype dilemma: How should laboratories approach discordant susceptibility results? *Journal of Clinical Microbiology*, 59(6), e00138-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00138-20>.
- Yoo, I. Y., Huh, K., Shim, H. J., Yun, S. A., Chung, Y. N., Kang, O. K., Huh, H. J., & Lee, N. Y. (2020). Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid detection of respiratory bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in sputum and endotracheal aspirate specimens. *International Journal of Infectious Diseases*, 95, 326–331. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.024>