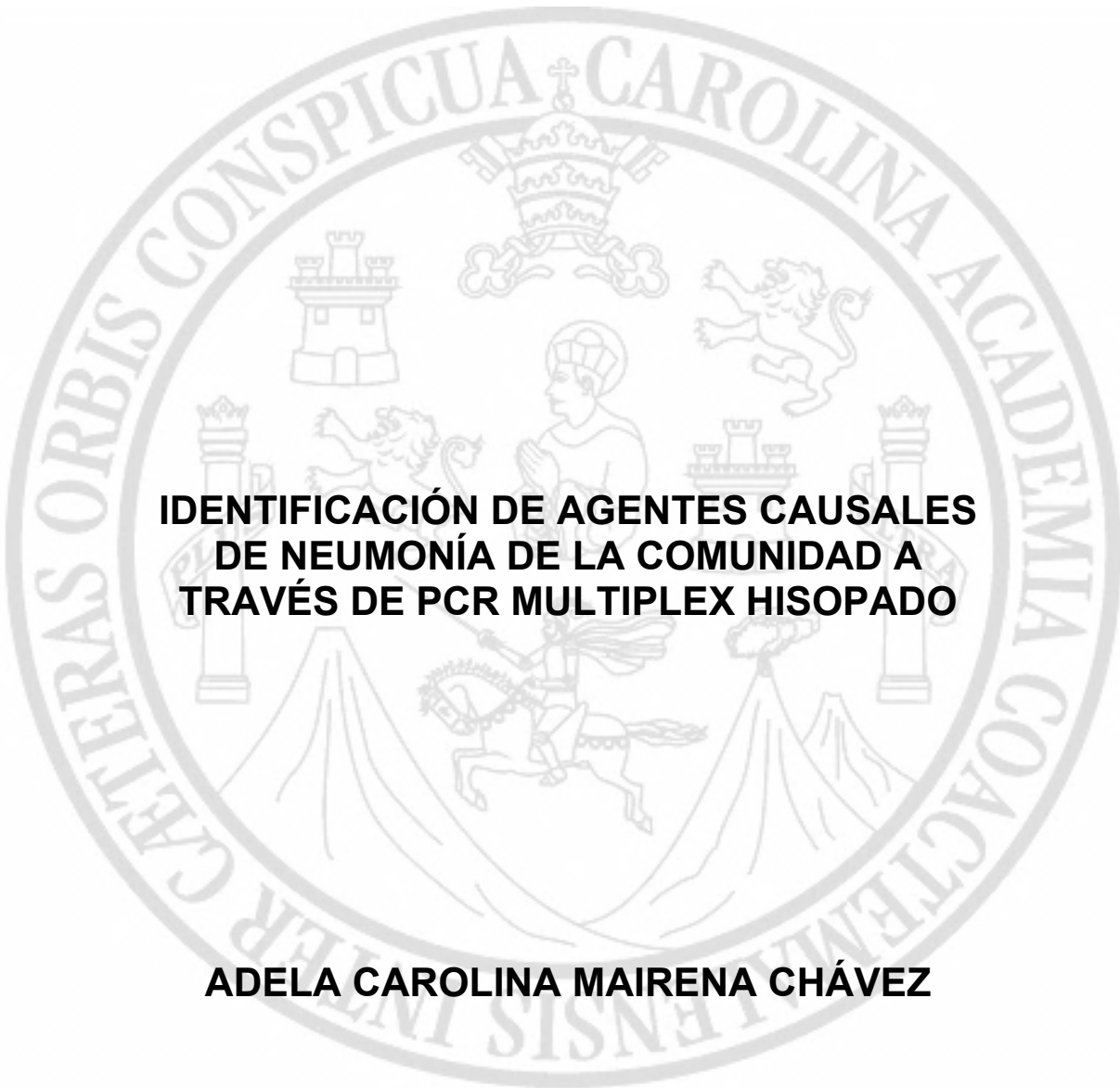


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES
DE NEUMONÍA DE LA COMUNIDAD A
TRAVÉS DE PCR MULTIPLEX HISOPADO**

ADELA CAROLINA MAIRENA CHÁVEZ

Tesis

**Presentada ante las autoridades de la
Escuela de Estudios de Postgrado de la
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría
Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría**

Agosto 2021



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

PME.OI.333.2021

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HACE CONSTAR QUE:

El (la) Doctor(a): Adela Carolina Mairena Chavez

Registro Académico No.: 201790067

No. de Pasaporte: G212299

Ha presentado, para su EXAMEN PÚBLICO DE TESIS, previo a otorgar el grado de Maestro(a) en Ciencias Médicas con Especialidad en **Pediatría**, el trabajo de TESIS **IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES DE NEUMONÍA DE LA COMUNIDAD A TRAVÉS DE PCR MULTIPLEX HISOPADO.**

Que fue asesorado por: Dr. Moisés Israel López Pérez, MSc.

Y revisado por: Dr. Mario Herrera Castellanos, MSc.

Quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, la ORDEN DE IMPRESIÓN para **Agosto 2021**

Guatemala, 05 de julio de 2021.

JULIO 7, 2021
Dr. Rigoberto Velásquez Paz, MSc.
Director
Escuela de Estudios de Postgrado

Dr. José Arnoldo Saenz Morales, MA.
Coordinador General
Programa de Maestrías y Especialidades



/dlsr

Guatemala, 15 de julio del 2020

Doctor

Francisco José Montiel Viesca MSc.

Docente Responsable

Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría

Facultad de Ciencias Médicas

Universidad de San Carlos de Guatemala

Hospital Roosevelt

Estimado Doctor Montiel:

Por este medio informo que he **ASESORADO** a fondo el informe final de graduación que presenta la Doctora **ADELA CAROLINA MAIRENA CHÁVEZ carne 201790067** de la carrera Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría, el cual se titula: **IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES DE NEUMONIA DE LA COMUNIDAD A TRAVES DE PCR MULTIPLEX HISOPADO.**

Luego de la asesoría, hago constar que la Dra. **ADELA CAROLINA MAIRENA CHÁVEZ**, ha incluido las sugerencias dadas para el enriquecimiento del trabajo. Por lo anterior emito el dictamen positivo sobre dicho trabajo y confirmo está listo para pasar a revisión de la Unidad de Tesis de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas.

Atentamente,



Dr. Moisés I. López Pérez
Neumología y Alergología Pediátrica
Colegiado No. 8118

Dr. Moisés Israel López Pérez MSc.
Asesor

Guatemala, 02 de julio del 2020

Doctor

Francisco José Montiel Viesca MSc.

Docente Responsable

Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría

Facultad de Ciencias Médicas

Universidad de San Carlos de Guatemala

Hospital Roosevelt

Estimado Doctor Montiel:

Por este medio informo que he **REVISADO** a fondo el informe final de graduación que presenta la Doctora **ADELA CAROLINA MAIRENA CHÁVEZ** carne **201790067** de la carrera Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría, el cual se titula: **IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES DE NEUMONIA DE LA COMUNIDAD A TRAVES DE PCR MULTIPLEX HISOPADO.**

Luego de la revisión, hago constar que la Dra. **ADELA CAROLINA MAIRENA CHÁVEZ**, ha incluido las sugerencias dadas para el enriquecimiento del trabajo. Por lo anterior emito el dictamen positivo sobre dicho trabajo y confirmo está listo para pasar a revisión de la Unidad de Tesis de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas.

Atentamente,



Dr. Mario Herrera Castellanos MSc.

Revisor



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas

Universidad de San Carlos de Guatemala

DICTAMEN.UdT.EEP/123-2021

Guatemala, 19 de mayo de 2021

Doctor

Francisco José Montiel Viesca, MSc.

Docente Responsable

Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría

Hospital Roosevelt

Doctor Montiel Viesca:

Para su conocimiento y efecto correspondiente le informo que se revisó el informe final de la médica residente:

ADELA CAROLINA MAIRENA CHAVEZ

De la Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría, registro académico 201790067.
Por lo cual se determina Autorizar solicitud de examen privado, con el tema de investigación:

“IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES DE NEUMONÍA DE LA COMUNIDAD A TRAVÉS DE PCR MULTIPLEX HISOPADO”

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz, MSc.

Responsable

Unidad de Tesis

Escuela de Estudios de Postgrado

c.c. Archivo
LARC/karin -

2ª. Avenida 12-40, Zona 1, Guatemala, Guatemala

Tels. 2251-5400 / 2251-5409

Correo Electrónico: uit.eep14@gmail.com

AGRADECIMIENTOS

- En primer lugar quiero agradecer a Mis Padres por el apoyo que me han brindaron para poder culminar mis estudios, ya que sin ellos no habría sido posible lograr esta meta propuesta.
- A mis docentes por todas las enseñanzas recibidas, ya que cada uno con sus conocimientos fue aportando una pequeña pieza de información, para lograr mi objetivo de ser Medico Especialista en Pediatria.
- A la Universidad San Carlos de Guatemala por la oportunidad de realizarme como profesional en esta gran Alma Mater.

INDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
III. OBJETIVOS	16
IV. MATERIAL Y METODOS	17
V. RESULTADOS	31
VI. DISCUSION Y ANALISIS	45
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	48
VIII. ANEXOS	51

INDICE DE TABLAS

TABLA 1	31
TABLA 2	33
TABLA 3	35
TABLA 4	36
TABLA 5	37
TABLA 6	38
TABLA 7	39
TABLA 8	40
TABLA 9	41
TABLA 10	42
TABLA 11	44

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA 1	31
GRAFICA 2	33
GRAFICA 3	35
GRAFICA 4	36
GRAFICA 5	37
GRAFICA 6	38
GRAFICA 7	39
GRAFICA 8	40
GRAFICA 9	41
GRAFICA 10	42
GRAFICA 11	44

RESUMEN

La neumonía adquirida en la comunidad es una infección aguda del tracto respiratorio inferior con una duración menor de 14 días, que se manifiesta por tos, dificultad respiratoria y presencia radiológica de infiltrado pulmonar agudo, de etiología diversa que puede ser viral, bacteriana o de presentación atípica, no tiene predilección por edad ni sexo, más frecuente en pacientes no inmunizados.

El objetivo del estudio es determinar los agentes microbianos más frecuentes causantes de Neumonía utilizando como prueba diagnóstica la PCR multiplex, que es una reacción enzimática de ADN polimerasa que realiza una copia exacta de la célula a la cual se ha estado expuesto.

El resultado obtenido en el estudio es que el 85% presentaron etiología viral, siendo el Rinovirus y el Virus Sincitial Respiratorio los más frecuentes, el 15% restante conformado por bacterias siendo la más frecuente *Staphilococcus aureus* con 6%, seguido de *Clamidophila pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* con 3% cada uno, siendo más frecuentes en pacientes menores de un año de edad y sexo masculino.

Palabras clave:

Tos, Dificultad Respiratoria, Fiebre

I. INTRODUCCION

La neumonía en Guatemala al igual que en otros países representa un problema de salud a nivel nacional ya que se encuentra entre las primeras causas de morbilidad y mortalidad en menores de 5 años de edad.

Se denomina Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC), a la neumonía de etiología infecciosa que adquiere un individuo previamente sano, fuera de un hospital (2). Es una infección aguda del tracto respiratorio inferior con una duración inferior a 14 días, o iniciada en los últimos 14 días, adquirida en la comunidad, que produce tos y/o dificultad respiratoria y con evidencia radiológica de infiltrado pulmonar agudo.(5)

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), fallecen aproximadamente dos millones de niños cada año por esta causa, la gran mayoría de ellos, en los países en desarrollo. (2)

La incidencia de Neumonía Adquirida en la Comunidad es claramente inferior en niños mayores, con 11-16 casos por 1.000 niños mayores de 5 años. La incidencia en niños hospitalizados es variable y oscila entre 3 y 10.9 por 1.000 menores de 5 años en los estudios contemporáneos europeos y norteamericanos (5).

La neumonía nosocomial se define como una infección del parénquima pulmonar adquirida durante la estancia en el hospital, excluyendo las que se encontraban en el período de incubación al ingreso. Así se considera como tal aquella que aparece tras 48-72 horas del ingreso hospitalario o dentro de los 7 días posteriores al alta. (5)

Se calcula que los menores de 5 años sufren 0,28 episodios de neumonía por año en los países en vías de desarrollo, lo cual constituye 150,7 millones de casos nuevos por año, de los cuales 7% a 13% son tan severos como para requerir hospitalización. Teniendo en cuenta que el 90% de los menores de 5 años vive en países en vías de desarrollo lo anterior nos da una estimación de la incidencia global de infección respiratoria aguda en este grupo de edad (16).

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células (3)

La PCR multiplex es una variante de la PCR tradicional que tiene la factibilidad de aumentar en una sola reacción la detección simultánea de varios microorganismos aprovechando entre otros parámetros la similitud de cuadros clínicos (17).

En el siguiente estudio se utilizará la prueba de PCR múltiple Anyplex™ II RV16 y Anyplex™ II RB5 que nos identificara diferentes virus y bacterias, incluyendo Adenovirus, Virus Influenza A, Virus Influenza B, Virus Parainfluenza 1, Virus Parainfluenza 2, Virus Parainfluenza 3, Virus Parainfluenza 4, Rhinovirus A/B/C, Virus Sincitial Respiratorio A y B, Bocavirus 1/2/3/4, Metapneumovirus, Coronavirus 229E, Coronavirus NL63, Coronavirus OC43, Enterovirus, Mycoplasma pneumonia, Chlamydia pneumonia, Legionella pneumophila, Bordetella pertussis y Bordetella parapertussis.

II. ANTECEDENTES

2.1 Definición

La neumonía sigue siendo una de las principales causas de mortalidad en la población pediátrica en todo el mundo. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), fallecen aproximadamente dos millones de niños cada año por esta causa, la gran mayoría de ellos, en los países en desarrollo.(2,4,7)

Se denomina Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC), a la neumonía de etiología infecciosa que adquiere un individuo previamente sano, fuera de un hospital. Se podría definir como una infección aguda del tracto respiratorio inferior con una duración inferior a 14 días, o iniciada en los últimos 14 días, adquirida en la comunidad, que produce tos y/o dificultad respiratoria y con evidencia radiológica de infiltrado pulmonar agudo.(2,4,5,7)

La NAC es la forma más frecuente, tiene una incidencia en EUA de 36 a 40 episodios/1000 niños/año en menores de cinco años, y 11 a 16 episodios en niños de 5 a 14 años. Generalmente es de curso agudo, de origen primario, con huésped sin enfermedad subyacente y de transmisión directa de persona a persona.(14)

En zonas del mundo con recursos limitados, se admite la posibilidad de diagnosticar la NAC únicamente por la presencia de hallazgos físicos de acuerdo los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que consideran el diagnóstico presumible de neumonía en los lactantes y niños con fiebre, tos, rechazo de la alimentación y/o dificultad respiratoria.(5)

También es causa muy frecuente de morbilidad: El promedio de episodios de infección respiratoria al año, en niños menores de 5 años, es de 4 en quienes viven en zonas rurales, 8 en los que habitan en ciudades y hasta 12 si asisten a guarderías.(2)

La Neumonía nosocomial se adquiere por contagio o por recibir terapia invasiva a través de catéteres endovenosos o simplemente por recibir antimicrobianos que seleccionan flora resistente y oportunistas. Es una infección adquirida en el hospital.(14)

La Neumonía recurrente es definida como dos o más episodios de neumonía en un año, con aclaramiento completo de imágenes radiológicas entre cada evento; ocurre con una frecuencia de 7 a 9% en niños.(14)

2.2 Etiología

Diversos trabajos señalan como uno de los patógenos más frecuentes aislados en NAC al *Streptococcus pneumoniae*, seguido de virus respiratorios como influenza, rinovirus, virus sincitial respiratorio y parainfluenza.(4,6,8,14,19)

La neumonía causada por *L. pneumophila*, *M. pneumoniae* o *C. pneumoniae*, se incluye dentro de las denominadas neumonías por patógenos bacterianos atípicos.(4,6,8,14)

En la Neumonía complicada con empiema pleural sobresalen *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *S. pneumoniae* y especie de *Klebsiella*.

En la neumonía nosocomial los patógenos más frecuentes son enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, especies de *Pseudomonas*, de *Acinetobacter*, de *Serratía*, etc., en porcentajes que dependen de cada hospital.(14)

M. pneumoniae es un patógeno de comportamiento extra e intracelular implicado en infecciones del tracto respiratorio adquiridas en la comunidad tanto en niños como en adultos. *M. pneumoniae* es un agente etiológico importante de la NAC. Su incidencia (globalmente más del 20% de los pacientes con NAC y el segundo agente etiológico después de *S. pneumoniae*) presenta amplias variaciones según las áreas geográficas, los períodos en que se producen brotes epidémicos y las poblaciones que residen en instituciones cerradas. Este microorganismo es de crecimiento lento y difícil (7 a 35 días) que requiere el empleo de medios específicos para su cultivo, por lo que este método no es recomendable para el diagnóstico clínico debido a su baja sensibilidad (60%).(4,21)

No hay criterios clínicos que aisladamente sean capaces de diferenciar la etiología viral de la bacteriana, entre otras cosas porque hay una proporción importante de pacientes que tienen neumonías mixtas, (entre 8-23% según distintas series).(2)

La edad, junto con el estado de inmunización del paciente y la noción de contagio, son los factores epidemiológicos que mejor permite relacionar la neumonía con el agente causal más probable. Por otra parte, la asistencia a guarderías debe hacer pensar más en causa viral y por el contrario, el antecedente de hospitalización reciente, es un factor de riesgo para infección por estafilococo meticilinoresistente. Los virus exhiben brotes de infección estacionales, sobre todo a finales de otoño y durante el invierno y en los países tropicales durante las épocas de lluvia; las bacterias exhiben menos fluctuaciones estacionales.(2)

Tabla 2 Agentes etiológicos de la NAC en los distintos grupos de edad por orden de prevalencia

< 4 semanas	> 3 semanas-3 meses
1. <i>Streptococcus agalactiae</i>	1. Virus respiratorios
2. Enterobacterias gramnegativas ^a	2. <i>Chlamydia trachomatis</i>
3. Citomegalovirus	3. <i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	4. <i>Staphylococcus aureus</i>
4 meses-4 años	5. Gérmenes del periodo neonatal.
1. Virus respiratorios	6. <i>Bordetella pertussis</i>
2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	5 años-15 años
3. <i>Streptococcus pyogenes</i>	1. <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
4. <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>
5. <i>Staphylococcus aureus</i>	3. Virus respiratorios
6. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4. <i>Chlamydia pneumoniae</i>
7. <i>Haemophilus influenzae</i> ^b	5. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	6. <i>Moraxella catharralis</i>
	7. <i>Haemophilus influenzae</i> ^b

Adaptada de British Thoracic Society Standards of Care Committee⁹, Juven et al¹⁵ y Don et al¹⁶.

^a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*

^b Tipo b en no vacunados; no tipificable más frecuentes en niños con factores de riesgo; tipos a-f (no b) son agentes etiológicos muy infrecuentes de NAC.

2.3 Factores de riesgo

Entre los factores del huésped cabe mencionar las enfermedades crónicas, prematuridad, problemática social, malnutrición, asma e hiperreactividad bronquial, infecciones respiratorias recurrentes y antecedentes de otitis media aguda con requerimientos de tubos de timpanostomía.(5)

El hacinamiento, incluidos la asistencia a guarderías, el tabaquismo pasivo o la exposición a contaminantes ambientales, tienen un reconocido impacto en las infecciones respiratorias de los niños. Se ha comprobado que el uso de antiácidos (incluyendo los antagonistas del receptor H2 y los inhibidores de la bomba de protones) se asocia a un riesgo incrementado de NAC en adultos y hay datos que sugieren también esta asociación en niños.(5)

2.4 Fisiopatogenia

La mayor parte de los agentes causales de neumonía ingresan al organismo por la vía aérea (descendente) y por inhalación directa; otros a partir de broncoaspiración de contenido gástrico con bacterias, o por vía linfohematógena de focos a distancia.(14)

Hay una diferencia notable en el daño pulmonar que se establece si el patógeno es un

virus o se trata de una bacteria, pero independientemente de ello, los efectos perjudiciales de la neumonía caen en dos categorías: a) efecto sistémico de la infección (fiebre, sepsis, choque, etc.), y b) interferencia en la función pulmonar para transportar e intercambiar oxígeno (ventilación, perfusión). En una neumonía viral por lo general existe un notable engrosamiento de la membrana que separa el alveolo del capilar, que dificulta el intercambio hematogaseoso, lo que da lugar a manifestaciones de insuficiencia respiratoria más que a daño sistémico. En la neumonía lobar existe afección homogénea de un lóbulo pulmonar, ante todo a nivel alveolar, casi sin afección de bronquiolos e intersticio, y por ello con pocas manifestaciones respiratorias, pero principalmente sistémicas.(14)

2.5 Manifestaciones clínicas

En el enfoque diagnóstico inicial de la NAC, es necesario ante todo, distinguir si el niño con infección respiratoria aguda, tiene compromiso respiratorio alto o bajo; si es bajo tratar de dilucidar al máximo si la neumonía es viral o es bacteriana (clásica o atípica), por las implicaciones terapéuticas que la diferenciación tiene. Para el acercamiento a dicha diferenciación se cuenta con parámetros clínicos, epidemiológicos, de laboratorio e imagenológicos, que analizados en conjunto, permitirán mejores resultados. La caracterización de la extensión de la infección al tracto respiratorio inferior, está dada por la presencia además de otros signos como la taquipnea, estertores, tiraje subcostal, apariencia clínica de que "no luce bien", dolor torácico e incluso en algunos casos dolor abdominal.(2)

La taquipnea, como signo único ha demostrado ser el mejor predictor de neumonía, comprobada por radiografía, en niños menores de cinco años. Tiene sensibilidad de 74% y especificidad de 67%, según estudios de la OMS, pero es menos sensible y específica en los primeros tres días de la enfermedad. Se considera taquipnea, una cifra mayor de 60 por min en el niño menor de dos meses, mayor de 50 por min en niño de 2 a 11 meses y mayor de 40 por minuto entre los 12 meses y los 5 años.(2)

La neumonía bacteriana típica (p. ej., *S. pneumoniae*) se caracteriza por fiebre elevada con escalofríos, dolor pleurítico y/o abdominal. Habitualmente, existe tos, aunque puede ser leve. La auscultación pulmonar que inicialmente puede ser normal, posteriormente pondrá de manifiesto hipoventilación, crepitantes y/o un soplo tubárico.(5)

La neumonía atípica (*M. pneumoniae*, *Ch. pneumoniae*, *Legionella* spp.) cursa generalmente de forma subaguda y sin afectación importante del estado general. La tos es el síntoma predominante y se suele acompañar de fiebre, mialgias, rinitis, faringitis y/o

miringitis. No es frecuente el dolor en punta de costado, aunque puede existir dolor torácico generalizado en relación con los accesos repetidos de tos seca. Suele afectar más a niños mayores, en los que se observa con frecuencia una discrepancia entre la copiosa semiología respiratoria y la escasa afectación del estado general.(5)

Las neumonías virales son más frecuentes en niños pequeños y se suelen acompañar de un cortejo sintomático más amplio, con participación de otros niveles de las vías respiratorias. La fiebre, la tos y la afectación del estado general tienen una significación variable. En la auscultación se objetivan tanto sibilancias como crepitantes de forma difusa.(5)

Son signos de máxima gravedad, o predictivos de muerte por neumonía: la cianosis, la incapacidad de ingerir líquidos, el quejido espiratorio, el aleteo nasal, las radiografías de tórax con cambios severos y la ausencia de fiebre en niños desnutridos severos.(2)

Tabla 4 Clasificación de NAC por gravedad clínica

Leve-moderada	Grave
<i>Lactantes</i>	
Temperatura < 38,5 °C	Temperatura > 38,5 °C
FR < 5 rpm	FR > 70 rpm
Retracciones leves	Retracciones moderadas a severas
Ingesta normal	Aleteo nasal
	Cianosis
	Apnea intermitente
	Quejido
	Ayunas
	Taquicardia
	Tiempo de recapilarización > 2 s
<i>Niños mayores</i>	
Temperatura < 38,5 °C	Temperatura > 38,5 °C
FR < 50 rpm	FR > 50 rpm
Disnea moderada	Dificultad respiratoria severa
No vómitos	Aleteo nasal
	Cianosis
	Quejido
	Signos de deshidratación
	Taquicardia
	Tiempo de recapilarización \geq 2 s

Adaptada de Harris et al²⁷.

2.6 Examen físico

El examen físico de un niño con neumonía puede revelar otros hallazgos como la disminución del murmullo vesicular en el lado afectado, estertores que no se modifican con la tos ni las maniobras de higiene bronquial; un niño con mayor compromiso, puede tener soplo tubárico, aumento de la transmisión de vibraciones vocales, pectoriloquia áfona y broncofonía, signos estos que constituyen el síndrome clásico de consolidación pulmonar. Una postura antálgica, dolor a la inspiración, matidez a la percusión junto a

disminución de las vibraciones vocales y ausencia de murmullo vesicular en el lado afectado, hallazgos clásicos del síndrome de derrame pleural, pueden encontrarse en niños que cursan con derrame paraneumónico o neumonía complicada con empiema.(2)

2.7 Estudios de laboratorios:

Los reactantes de fase aguda o marcadores inespecíficos de inflamación: Recuento de leucocitos, velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR), las interleuquinas (IL) y la procalcitonina (PCT) son de utilidad limitada, cada uno como dato aislado, pero su utilización en conjunto, ofrece más ayuda para una aproximación diagnóstica.(2)

- 1. Recuento de leucocitos** Comúnmente se ha establecido que recuento de leucocitos $>15.000/mm^3$ y desviación a la izquierda, sugieren una etiología bacteriana de la neumonía; sin embargo, estos hallazgos no son específicos y pueden presentarse también en las neumonías por *Mycoplasma pneumoniae* o víricas; por el contrario, pueden faltar en algunas neumonías bacterianas.(2,5)
- 2. Velocidad de sedimentación globular** No es un buen marcador de infección aguda, por su lento ascenso y por su baja sensibilidad y especificidad para diferenciar entre etiología bacteriana y viral. Sólo niveles por encima de 100 mm tienen utilidad como marcador de infección bacteriana.(2,5)
- 3. Proteína C reactiva** Aunque está elevada en un gran número de procesos inflamatorios/infecciosos, su utilidad en el diagnóstico etiológico de la NAC es limitado. Aunque la PCR no está indicada de forma rutinaria en el manejo de las NAC no complicadas, una cifra superior a 80 mg/l podría orientar hacia una etiología bacteriana.(2,5)
- 4. Procalcitonina** En estudios realizados en población infantil se ha observado que la elevación de la PCT se relaciona con etiología bacteriana de la NAC, el valor encontrado en individuos sanos es $< 0,1$ ng/ml. Valores iguales o superiores a 1 ng/ml se han asociado a neumonía bacteriana y por encima de 2 ng/ml, específicamente con neumonía por neumococo, con un elevado valor predictivo y especificidad (80%), mientras que niveles inferiores a 0,5 ng/ml orientan hacia una neumonía de etiología no bacteriana.(2,5)

Las pruebas microbiológicas buscan aislar e identificar el agente etiológico de NAC, pero su baja sensibilidad, la dificultad en obtener una muestra adecuada y la escasa relación costo/beneficio, hacen que en la actualidad no se recomiende realizar estudios

microbiológicos de forma rutinaria a los niños diagnosticados con NAC de manejo ambulatorio. Por el contrario, en los niños que requieren ser hospitalizados o en quienes se presente alguna complicación, es importante realizar estos estudios para intentar llegar a establecer su etiología. El conocimiento de los patógenos que causan neumonía adquirida en la comunidad constituye la base para la selección del tratamiento antimicrobiano empírico, que tiene un impacto sustancial en el pronóstico del paciente.(1,2)

Para ello se dispone de las siguientes pruebas bacteriológicas:

- 1. Hemocultivo** El rendimiento de esta prueba es muy bajo, dado que la neumonía no siempre cursa con bacteriemia; dependiendo del agente implicado, la positividad del hemocultivo en NAC puede llegar a ser menor del 10%. Se recomienda su realización en pacientes con evolución tórpida, en formas graves de neumonía, con sospecha del agente resistente o neumonías con formas inusuales. Su utilidad disminuye cuando el paciente ha recibido antibióticos.(2,5)
- 2. Punción pulmonar** Es un método sensible con alto rendimiento diagnóstico, con positividad hasta de 79%, pero debido a sus riesgos e implicaciones éticas, no se realiza de rutina; sólo es aceptable realizarla en pacientes con neumonía con grave afectación del estado general, con riesgo de morir y sin diagnóstico causal, bajo estrictos parámetros de indicación (presencia de consolidación) e idoneidad del médico.(2,5)
- 3. Detección de antígenos bacterianos** La detección de antígeno neumocócico en líquido pleural tiene, en algunos estudios, una sensibilidad y una especificidad mayor del 90%. La sensibilidad y especificidad para antígenos de *Haemophilus influenzae* tipo B en suero y orina es de aproximadamente 90%. Al igual que con *S. Pneumoniae*, puede haber falsos positivos cuando existen otros focos infecciosos causados por *Haemophilus influenzae* tipo B o cuando el niño ha recibido vacuna conjugada específica contra esta bacteria.(1,2,5)
- 4. Detección de antígenos virales respiratorios** El enzimoimmunoanálisis (EIA) es la base de las pruebas rápidas para el diagnóstico de gripe y de virus respiratorio sincitial (VRS), con una sensibilidad entre el 60 y el 80%, y una especificidad mayor a 90%. Se basan en la utilización de anticuerpos monoclonales dirigidos frente a distintos antígenos virales, detectando los virus no viables presentes en la muestra.(2,5)
- 5. Técnicas moleculares de diagnóstico rápido** Estas técnicas han permitido reevaluar el papel de los virus respiratorios como agentes causales de NAC en el niño. Se

destacan por su sencillez y versatilidad; las pruebas de PCR multiplex o las basadas en microchips arrays, pueden llegar a identificar más de 10 patógenos virales en pocas horas, incrementando significativamente la sensibilidad del diagnóstico microbiológico en muestras de sangre o líquido pleural.(2,5)

Actualmente sabemos que la misión de la PCR es copiar millones de veces una secuencia específica de ADN blanco mediante una poderosa catálisis llevada a cabo por una enzima conocida como ADN polimerasa, de tal manera que cantidades pequeñas de ADN pueden ser sintetizadas y copiadas fielmente para analizarse con diferentes fines.(3)

6. Métodos serológicos Aunque se han desarrollado técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el diagnóstico serológico por técnicas de ELISA sigue siendo fundamental, en el caso de las infecciones por bacterias atípicas (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *C. burnetti* y *L. pneumophila*). En el caso de *M. pneumoniae* la principal limitación del estudio serológico radica en que en la reinfección no hay respuesta de IgM, sino una rápida elevación de IgG y que además, la IgM puede persistir elevada durante meses o años, de modo que en el niño o en el adulto joven, la detección de IgM puede no corresponder a una infección reciente. En el caso de las dos especies del nuevo género *Chlamydomphila*, compuesto por *C. pneumoniae* y *C. psittaci*, la microinmunofluorescencia es la única técnica recomendada en la actualidad para su diagnóstico sistemático.(1,2,5,8)

PCR

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ha sido la principal herramienta diagnóstica que ha aprovechado las bondades de la biología molecular a tal punto de alcanzar gran valor y versatilidad como técnica de análisis debido en parte, a su adaptabilidad y aplicabilidad. Los inicios de la PCR se remontan a 1971, cuando un artículo publicado por Kleppe y colaboradores en el *Journal of Molecular Biology* describió por vez primera un método que usaba enzimas para replicar una secuencia pequeña de ADN in vitro. Sin embargo, este ensayo no recibió mucha atención y la autoría de la PCR fue atribuida 12 años después a Kary Mullis perteneciente a la Cetus Corporation, California SA. (17)

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. En la reacción, si usamos como sustrato ADN genómico, entonces típicamente hablamos de una PCR, pero si usamos ADN complementario (ADNc)

proveniente del ARNm (ácido ribonucleico mensajero) se le conoce como RT-PCR (Reverse Transcription-PCR, por sus siglas en inglés). Este método fue copiado de los retrovirus que usan una transcriptasa reversa para convertir su genoma de ARN en ADN duplicarse en millones de partículas virales.(3,9,12,17,18)

Los elementos importantes en la reacción son el templado o molde (ADN o ADNc), la enzima, los oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg⁺), una solución amortiguadora o buffer y H₂O. Todos estos elementos interactúan en tres etapas principales de las que se compone la PCR: desnaturalización, hibridación y extensión.(3,4,9,17)

Desnaturalización. En esta etapa, las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos; el tiempo depende de la secuencia del templado, es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T. Al final de esta etapa tendremos las cadenas separadas que servirán como templado para el siguiente paso.

Hibridación o alineamiento. En esta etapa, los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria. Para que se forme el complejo templado-primers, es importante que la temperatura de hibridación o temperatura melting (T_m) sea la óptima; ésta generalmente oscila entre 50-60 °C. Si el diseño de los primers es el correcto y la temperatura es la adecuada, la estabilidad y especificidad del complejo será eficiente.

Extensión. En esta etapa, la Taq polimerasa actúa sobre el complejo templado-primers y empieza su función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas completas de ADN. La extensión de las cadenas es en dirección de la síntesis del ADN, es decir, de 5' a 3'. La temperatura óptima para la reacción es de 72 °C, ya que a esa temperatura la enzima es funcional.(3,17)

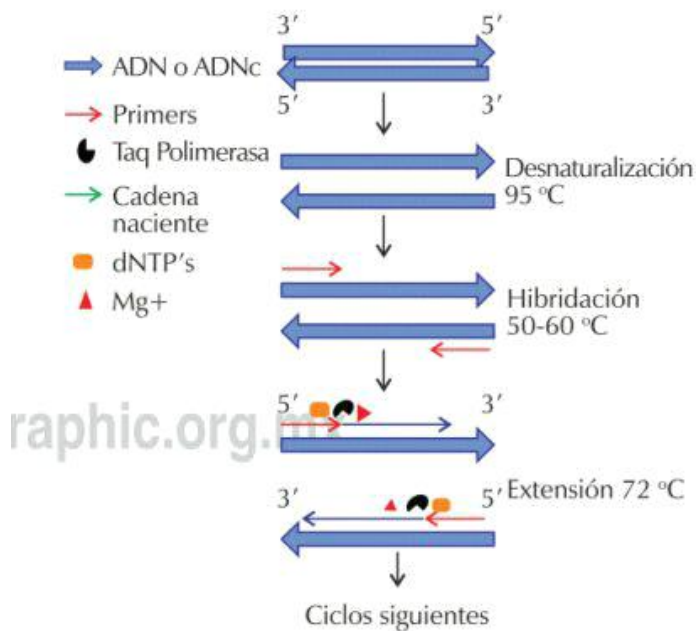


Figura 2. Pasos de un ciclo de la PCR.

2.8 Estudios de imagen

La radiografía de tórax es un elemento de gran ayuda para la confirmación del diagnóstico de neumonía, pero no es un criterio de certeza. Los dos patrones descritos que predominan en neumonía son el alveolar y el intersticial.(2,5)

Se han descrito como signos clásicos de neumonía bacteriana: los infiltrados alveolares en parche o consolidación lobar (al menos en la mitad de los pacientes) o de distribución subsegmentaria, pero estos también se pueden encontrar en neumonías virales y atípicas. La presencia de consolidación lobar o segmentaria, neumatoceles y el absceso pulmonar están significativamente asociadas con infección bacteriana.(2)

El *Mycoplasma pneumoniae* muestra patrones radiológicos variables e inespecíficos, siendo el patrón intersticial (reticular o peribronquial), el más frecuentemente encontrado; ocasionalmente se presentan consolidaciones. El compromiso puede ser bilateral o unilateral (más frecuente), de predominio basal, con atelectasias lineales, adenopatías hiliares (33%); el derrame pleural no es común (20%) y si existe es pequeño y no progresivo; característicamente los hallazgos se correlacionan poco con la clínica. En *Chlamydia* hay signos de atrapamiento y compromiso intersticial difuso bilateral, con infiltración peribronquial y microatelectasias.(2)

En la neumonía complicada los hallazgos más frecuentes son el deterioro radiográfico con la presencia de efusión pleural e imágenes hiperlúcidas como neumatoceles, neumotórax, absceso, loculaciones con o sin niveles hidroaéreos y sugieren fuertemente

neumonía bacteriana por *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pneumoniae*. Menos frecuentemente *Haemophilus influenzae*. En la neumonía por *Staphylococcus aureus* los hallazgos más relevantes son:

- Presencia de consolidación lobar, cavitación y neumotórax con una tendencia al deterioro radiográfico después de la admisión.
- Neumatoceles en el 41% de los casos.
- Neumotórax en el 20%.
- Efusión pleural en una tercera parte.
- Opacidad en parches bilateral en el 35%.⁽²⁾

El líquido, si es libre, se moviliza fácilmente y se detecta con los cambios de posición, tomando una radiografía de tórax en decúbito lateral sobre el lado sano. Son sugestivas de empiemas complicados, las imágenes de loculaciones con o sin niveles hidroaéreos o las colecciones laterales o posteriores; engrosamiento de la pleura y la formación de trabeculaciones.⁽²⁾

La existencia de un nivel hidroaéreo en la placa de tórax indica la presencia de una fístula broncopleural, neumotórax acompañante, presencia de bacterias formadoras de gas o la ruptura del esófago.⁽²⁾

2.9 Diagnóstico diferencial

La sintomatología respiratoria e imágenes radiográficas no sólo provienen de patología infecciosa pulmonar, se incluyen diversas enfermedades que pueden depender de otras estructuras del mediastino, cardiovasculares, de la vía digestiva, diafragmática etc., y de diversa índole (tumoral, quística, cuerpo extraño, malformaciones congénitas, etc.).⁽¹⁴⁾

2.10 Complicaciones

En términos generales, las complicaciones pueden ser:

- a) Lesiones pleuropulmonares: absceso pulmonar, atelectasia, enfisema, neumotorax, neumomediastino, colapso pulmonar, neumatoceles y derrame pleural, entre otros.
- b) Alteraciones hemodinámicas: como insuficiencia cardíaca, que es más frecuente en las formas de bronconeumonía y de neumonía intersticial y particularmente en enfermos con cardiopatía subyacente, congénita o adquirida.
- c) Septicemia.
- d) Desequilibrio acidobásico e hipoxia, con acidosis respiratoria o mixta, desequilibrio

hidroelectrolítico, secreción inapropiada de hormona antidiurética.

e) Complicaciones tardías o secuelas: fibrosis pulmonar, atelectasias, bronquiectasias, abscesos pulmonares, bulas enfisematosas, paquipleuritis, etcétera.(14)

2.11 Tratamiento

En el manejo de la neumonía es importante definir la etiología probable y el grado y severidad de la infección. El antimicrobiano o antimicrobianos deben elegirse de preferencia con base en el patógeno identificado, su sensibilidad y resistencia a los fármacos.

El tratamiento "empírico" también puede basarse en las características clínicas, radiográficas y sensibilidad, y resistencia de los patógenos de la neumonía comunitaria:

1. Neumonía intersticial bilateral no tóxica, generalmente asociada con síntomas de infección viral; no requiere antibióticos.

2. Neumonía bilateral de toxicidad moderada que no requiere hospitalización, considerar terapia empírica para *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* tipo B en no vacunados, o *H. influenzae* no tipificable, elegir ampicilina dosis alta (80 a 100 mg/kg/día), como alternativas: amoxicilina/clavulanato, cefprozil, cefdinir, cefuroxima o ceftriaxona vía IM. En mayores de cinco años sin respuesta al tratamiento considerar *Mycoplasma pneumoniae* y agregar un macrólido.

3. En neumonía bilateral severa, se debe hospitalizar y considerar *S. pneumoniae* o *S. pyogenes* y elegir cefotaxima o ceftriaxona. O bien *Staphylococcus aureus* con neumonía necrotizante y cubrir con dicloxacilina, cefazolina o clindamicina. Otra alternativa es la vancomicina en *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. En mayores de cinco años considerar *Mycoplasma pneumoniae* y agregar un macrólido.

4. En neumonía lobar o segmentaria en niños moderadamente enfermos no hospitalizar. Considerar *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* y *Haemophilus influenzae* tipo B en no vacunados. *Mycoplasma* es menos probable. Considerar cefuroxima axetil, cefdinir o amoxicilina/ clavulanato. En el niño grave o toxiinfectado, considerar los mismos patógenos e incluir exámenes para *Mycoplasma* y elegir cefotaxima o ceftriaxona y agregar macrólido, de ser necesario.

5. En neumonía con empiema o neumonía necrotizante tratar *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* y *Staphylococcus aureus*. También considerar neumonía por aspiración por anaerobios. Además del manejo con cefotaxima o ceftriaxona cubrir con drogas antiestafilocócicas como dicloxacilina, cefazolina, clindamicina, y en infección que pone en

peligro la vida cubrir contra *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente con vancomicina o teicoplanina o linezolid, así como aerobios y anaerobios con fármacos como imipenem, meropenem, ticarcilina/clavulanato o piperacilina/tazobactam.

El paciente con neumonía puede requerir hospitalización, principalmente bajo los criterios siguientes:

- Niños pequeños.
- Insuficiencia respiratoria.
- Necesidad de oxígeno.
- Aspecto tóxico.
- Incapacidad de la familia para cuidar al paciente.
- Incapacidad para alimentar, hidratar o medicar.
- Ninguna respuesta a antibióticos orales.
- Estado de la enfermedad subyacente.
- Neumonías recurrentes.(14)

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Determinar los agentes microbianos más frecuentes causantes de neumonía en los pacientes hospitalizados en los servicios de pediatría en el Hospital Roosevelt usando como ayuda diagnóstica la prueba PCR Multiplex.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Caracterizar los agentes microbianos de la neumonía de la comunidad por el método molecular PCR Multiplex.

3.2.2 Establecer el agente causal de neumonía en los niños en el Hospital Roosevelt

IV. MATERIAL Y METODOS

4.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio es clinico observacional de tipo descriptivo, se realizara en todo niño con neumonía que se encuentre hospitalizado en los servicios de Pediatría del Hospital Roosevelt en el periodo de enero a diciembre 2018.

4.2 POBLACION A ESTUDIAR

Niños hospitalizados con Diagnóstico de Neumonía captados en la emergencia del Hospital Roosevelt.

4.3 SELECCION

Paciente menor de 15 años captado en la emergencia del Hospital Roosevelt que cumpla con los criterios diagnósticos para Neumonía

4.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

25 muestras que es lo que incluye el Kit a utilizar

4.5 PROPUESTA DE MUESTREO

Muestreo no probabilístico, por conveniencia

4.6 CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

Pacientes que cumplan con los criterios de inclusión:

Frecuencia respiratoria arriba de parámetro normal para la edad:

Lactante < 1 año 30-60

Niño 1 a 3 años 24-40

Preescolar 4 a 5 años 22-34

Escolar 6 a 12 años 18-30

Adolecente 13 a 18 años 12 a 16

Retracción del tórax

Cianosis

Dificultad para alimentarse

Ausencia de sibilancias.

Criterios de exclusión:

Tener una enfermedad pulmonar de base ya diagnosticada

4.7 VARIABLES A ESTUDIAR

Sexo

Grupo etario

Procedencia

Neumonía

Agente causal

Fiebre

Tos

Frecuencia respiratoria

Hemograma

Hemocultivo

Proteína C Reactiva

Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Radiografía

Factores de riesgo

4.8 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Grupo etario	<p>La palabra etario proviene en su etimología del latín "aetas" cuyo significado es "edad", siendo un neologismo, que incorporó la Real Academia Española en el año 2001. O sea que podemos definir a la palabra etario como "lo relacionado con la edad de los seres humanos". Se entiende por edad el tiempo transcurrido entre el nacimiento y el tiempo presente, que en general se mide en años, a partir de los primeros 12 meses de vida.</p>	<p>Lactante < 1 año</p> <p>Niño 1 a 3 años</p> <p>Preescolar 4 a 5 años</p> <p>Escolar 6 a 12 años</p> <p>Adolescente 13 a 18 años</p>	Cuantitativa	Ordinal	Años

Sexo	Es una variable biológica y genética que divide a los seres humanos en dos posibilidades solamente. La diferencia entre ambos es fácilmente reconocible y se encuentra en los genitales, el aparato reproductor y otras diferencias corporales. Bajo esta perspectiva, sexo es una variable meramente física, producida biológicamente, que tiene un resultado predeterminado en una de dos categorías, el hombre o la mujer.	Hombre Mujer	Cualitativa	De razon
Procedencia	La palabra procedencia proviene etimológicamente de "procedens", palabra latina integrada por el prefijo que denota antelación: "pro",	Peten Huehuetenango Quiche Alta Verapaz	Cualitativa	De razon

	<p>y por el verbo "cedere" con el significado de "ir". Procedencia entonces es aquello de donde otra cosa se deriva, viene o se origina. El concepto puede utilizarse para nombrar la nacionalidad de una persona.</p>	<p>Izabal San marcos Quezaltenango Totonicapan Solola Chimaltenango Sacatepequez Guatemala Baja Verapaz El progreso Jalapa Zacapa Chiquimula Retalhuleu Suchitepequez Escuintla Santa rosa Jutiapa</p>			
--	--	--	--	--	--

Neumonía	<p>Es una enfermedad del sistema respiratorio que consiste en la inflamación aguda de los espacios alveolares de los pulmones y/o participación intersticial. La gran mayoría de las veces es de causa infecciosa, aunque también puede deberse a otras causas, como inhalación de productos químicos. Puede estar causada por: virus, bacterias y, más raramente, hongos.</p> <p>La OMS, publicó una guía que basa el diagnóstico de neumonía en 5 parámetros clínicos:</p> <p>1. Frecuencia respiratoria: Lactante < 1 año 30-60</p>	<p>Se considera que la neumonía es adquirida en la comunidad cuando la adquiere un individuo previamente sano, fuera de un hospital.</p> <p>Neumonía nosocomial es aquella que se presenta en las 48-72 horas tras el ingreso hospitalario, siempre que se haya excluido un proceso infeccioso pulmonar presente o en periodo de incubación en el momento del ingreso, o aquella neumonía que se presenta en los 7 días tras el alta hospitalaria.</p> <p>Neumonía grave es cuando hay compromiso del estado general del paciente, dificultad respiratoria y</p>	Cualitativa y De razón cuantitativa	<p>Rx PCR Reactantes de fase aguda Cultivos PCR Gases arteriales Ventilación mecánica</p>
----------	---	---	-------------------------------------	---

	<p>Niño 1 a 3 años 24-40 Preescolar 4 a 5 años 22-34 Escolar 6 a 12 años 18-30 Adolescente 13 a 18 años 12 a 16</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Retracción del tórax 3. Cianosis 4. Dificultad para alimentarse 5. Ausencia de sibilancias. 	<p>disminución de saturación de oxígeno < 92%</p> <p>Neumonía complicada es cuando la infección neumónica no se limita al parénquima pulmonar sino que se extiende a las pleuras y se presenta un empiema.</p> <p>Neumonía atípica se define como aquellas neumonías que no siguen un curso clínico o radiológico habitual.</p>		<p>Positivo Negativo</p> <p>Gérmenes atípicos</p>
--	---	--	--	---

Agente causal	> 3 semanas-3 meses: Cualquier elemento que actúe como causa determinante y sea capaz de producir una desviación de la normalidad. Habitualmente, los agentes se clasifican en: físicos, biológicos y sociales.	< 4 semanas: Streptococcus agalactiae, Enterobacterias gramnegativas, Citomegalovirus, Listeria monocytogenes Virus respiratorios, Chlamydia trachomatis, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Gérmenes del periodo neonatal, Bordetella pertussis 4 meses-4 años: Virus respiratorios, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes,	Cualitativa	De razón

Fiebre	La fiebre puede ser provocada por numerosos estímulos y frecuentemente se debe a la presencia de bacterias y sus endotoxinas, pero también por virus, levaduras, espiroquetas, protozoarios, reacciones inmunes, varias hormonas, medicamentos y polinucleotidos sintéticos, compuestos que comúnmente se denominan pirogenos exogenos. Las celulas pueden ser estimuladas por la formación de pirogenos exogenos para producir citocinas llamadas pirogenos endogenos, que afectan la termosensibilidad de las neuronas en el area preoptica del hipotalamo, aumentando la produccion de calor y disminuyendo sus perdidas, hasta que la temperatura corporal llega al valor de referencia.	Febrícula: 37 a 38°C Fiebre: 38 a 41°C Hiperpirexia: > 41°C	Cuantitativa	Ordinal	Grados centígrados

Tos	Espiración <u>súbita</u> , brusca <u>y</u> ruidosa, tanto voluntaria como refleja, de aire de los pulmones. Se produce, por lo general, por estímulos de origen <u>pulmonar</u> o por <u>irritación</u> del neumogástrico, pero a veces tiene origen extrarrespiratorio	Presencia o ausencia de tos	Cualitativa	De razón	Positivo Negativo
Frecuencia respiratoria	Es el número de veces que el niño respira por minuto. Se suele medir cuando está en reposo, y varía según la edad	Lactante < 1 año 30-60 Niño 1 a 3 años 24-40 Preescolar 4 a 5 años 22-34 Escolar 6 a 12 años 18-30 Adolecente 13 a 18 años 12 a 16	Cuantitativa	Intervalo	Respiraciones por minuto
Hemograma	Conjunto de datos hematológicos obtenidos de un análisis de sangre. Se hace un recuento de los elementos sólidos sanguíneos: glóbulos rojos o hematíes, glóbulos blancos o leucocitos y plaquetas. Se analiza su forma y tamaño. También se informa sobre el nivel de hemoglobina y el índice hematocrito.	Recuento de leucocitos > 15.000/mm3 y desviación a la izquierda, sugieren una etiología bacteriana	Cuantitativa	Intervalo	Mm3

Hemocultivo	Es un método diagnóstico utilizado para la detección de microorganismos en la sangre, con el fin de identificar y determinar la sensibilidad de esos microorganismos	Presencia de bacteriemia o fungemia, vistos en la placa de Petri, según el medio de cultivo: Agar sangre, Agar MacConkey, medios específicos para hongos, medios específicos para anaerobios	Cualitativa	De razón	
PCR (proteína C reactiva)	Proteína plasmática inespecífica de fase aguda, segregada en el hígado cuando hay una inflamación aguda, infección o degradación tisular en el organismo.	Adultos y niños: 0.068-8.2 mg/l mediana 0.58 mg/l Recién nacido y sangre de cordón: < ó =0.6 mg/l Infantes de 4 días a 1 mes < ó = 1.6 mg/l	Cuantitativa	Intervalo	Mg/dl
Reacción en cadena de polimerasa (PCR)	Es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente.	El nivel normal es menor de 5 mg/l. PCR tiempo real PCR multiplex	Cualitativa	De razón	Presencia de microorganismos

Radiografía	Se refiere a una imagen obtenida tras la aplicación de radiaciones electromagnéticas que pueden ser Rayos x o Rayos gamma, las imágenes se obtienen al interponer la estructura a evaluar entre la fuente de los Rayos y su receptor.	Presencia o ausencia de consolidación	Cualitativa	De razón	Densidad Localización: lóbulo, segmento
Factores de riesgo	Un factor de riesgo es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión.	<p>Edad niños < 6 meses</p> <p>Inmadurez inmunológica</p> <p>Bajo peso al nacer</p> <p>Nacimientos prematuros</p> <p>Destete prematuro</p> <p>Ingreso familiar</p> <p>Educación de los padres</p> <p>Lugar de residencia</p> <p>Exposición al humo</p> <p>Hacinamiento</p> <p>Exposición al frío o humedad</p> <p>Desnutrición</p>	Cualitativa	De razón	

4.8 Metodología:

El estudio se realizara en los pacientes captados en la emergencia del HR ingresados según los criterios de inclusión como neumonía, se realizara sus laboratorios de rutina hematología, PCR y se le realizara la toma de muestra para realizar la prueba de PCR múltiplex Anyplex™, que nos identificara diferentes virus y bacterias, incluyendo Adenovirus, Virus Influenza A, Virus Influenza B, Virus Parainfluenza 1, Virus Parainfluenza 2, Virus Parainfluenza 3, Virus Parainfluenza 4, Rhinovirus A/B/C, Virus Sincitial Respiratorio A y B, Bocavirus 1/2/3/4, Metapneumovirus, Coronavirus 229E, Coronavirus NL63, Coronavirus OC43, Enterovirus, Mycoplasma pneumonia, Chlamydoiphila pneumonia, Legionella pneumophila, Bordetella pertussis y Bordetella parapertussis, obtenido de Laboratorio Labtronic.

4.9 Método analítico de la muestra

Al obtener los datos con la utilización del instrumento establecido, tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, con un hemocultivo positivo y habiendo realizado la prueba de PCR multiplex, se analizaran los datos encontrados en el programa Epi info versión 3.5.1, utilizando la prueba de Chi cuadrado.

HIPOTESIS

Hipótesis valida y nula

Hipótesis valida: Los virus son los causantes de la mayoría de casos de neumonia

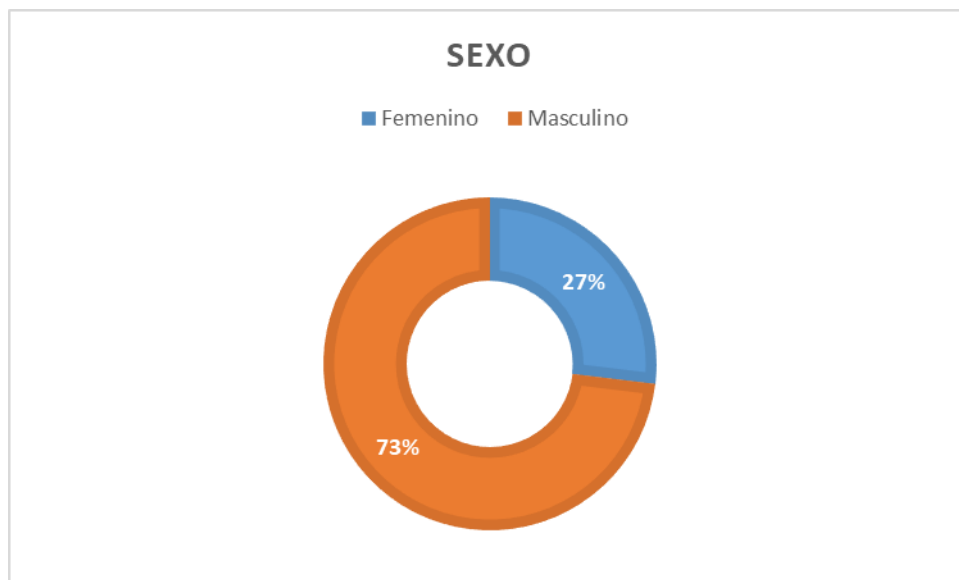
Hipótesis nula: Tanto los virus como bacterias causan neumonia en igual proporción

V. RESULTADOS

Tabla 1

Sexo	Cantidad
Femenino	7
Masculino	18

Grafica 1



Chi-Square Calculator

Okay, we've now set up the 2 x 2 contingency table, and we're almost ready to do the chi-square calculation. However, before you hit the "Calculate" button, you need to select a significance level. It defaults to .05, but you can choose .01 or .10 if you prefer. You should also take a moment to check your data, and make any changes you require by clicking "Edit".

	Virus	Bacterias	Marginal Row Totals
Femenino	7	1	8
Masculino	16	3	19
Marginal Column Totals	23	4	27 (Grand Total)

Significance Level:

- .01
 .05
 .10

Chi-Square Calculator

Success! The contingency table below provides the following information: the observed cell totals, (the expected cell totals) and [the chi-square statistic for each cell].

The chi-square statistic, p -value and statement of significance appear beneath the table. Blue means you're dealing with dependent variables; red, independent.

You'll notice we've also calculated a chi-square statistic with the popular Yates correction. There's probably a consensus now that the correction is over-cautious in its desire to avoid a type 1 error, but the statistic is there if you want to use it.

Want to know how to report the result of your chi-square test (APA style)? (Opens in a new tab so you don't lose your result.)

[How to Report a Chi-Square Result](#)

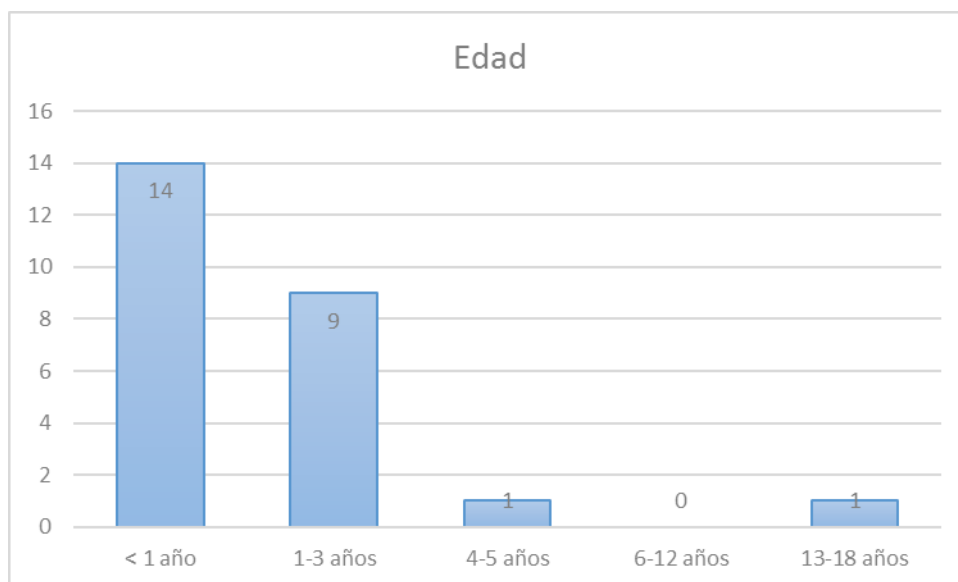
	Virus	Bacterias	Marginal Row Totals
Femenino	7 (6.81) [0.01]	1 (1.19) [0.03]	8
Masculino	16 (16.19) [0]	3 (2.81) [0.01]	19
Marginal Column Totals	23	4	27 (Grand Total)

The chi-square statistic is 0.0483. The p -value is .826102. This result is *not* significant at $p < .05$.

The chi-square statistic with Yates correction is 0.1395. The p -value is .70878. *Not* significant at $p < .05$.

Tabla 2

Edad	Cantidad
< 1 año	14
1-3 años	9
4-5 años	1
6-12 años	0
13-18 años	1



Chi-Square Calculator

Okay, we've now set up the 2 x 2 contingency table, and we're almost ready to do the chi-square calculation. However, before you hit the "Calculate" button, you need to select a significance level. It defaults to .05, but you can choose .01 or .10 if you prefer. You should also take a moment to check your data, and make any changes you require by clicking "Edit".

	Virus	Bacterias	Marginal Row Totals
< 1 año	12	3	15
1 a 3 años	9	1	10
Marginal Column Totals	21	4	25 (Grand Total)

Significance Level:

- .01
 .05
 .10

Chi-Square Calculator

Success! The contingency table below provides the following information: the observed cell totals, (the expected cell totals) and [the chi-square statistic for each cell].

The chi-square statistic, p -value and statement of significance appear beneath the table. Blue means you're dealing with dependent variables; red, independent.

You'll notice we've also calculated a chi-square statistic with the popular Yates correction. There's probably a consensus now that the correction is over-cautious in its desire to avoid a type 1 error, but the statistic is there if you want to use it.

	Virus	Bacterias	Marginal Row Totals
< 1 año	12 (12.5) [0.02]	3 (2.5) [0.1]	15
1 a 3 años	8 (7.5) [0.03]	1 (1.5) [0.17]	9
Marginal Column Totals	20	4	24 (Grand Total)

The chi-square statistic is 0.32. The p -value is .571608. This result is *not* significant at $p < .05$.

The chi-square statistic with Yates correction is 0. The p -value is 1. *Not* significant at $p < .05$.

Tabla 3

Procedencia	Cantidad
Sacatepéquez	2
Guatemala	19
Quiche	1
Santa Rosa	1
Alta verapaz	1
Jalapa	1

Gráfica 3

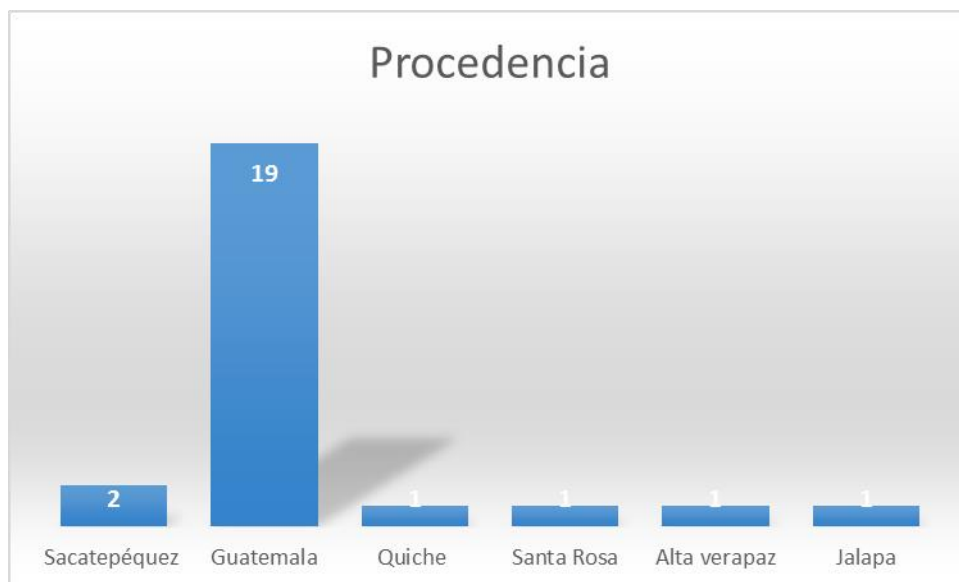


Tabla 4

Taquipnea	Cantidad
Si	15
No	10

Gráfica 4

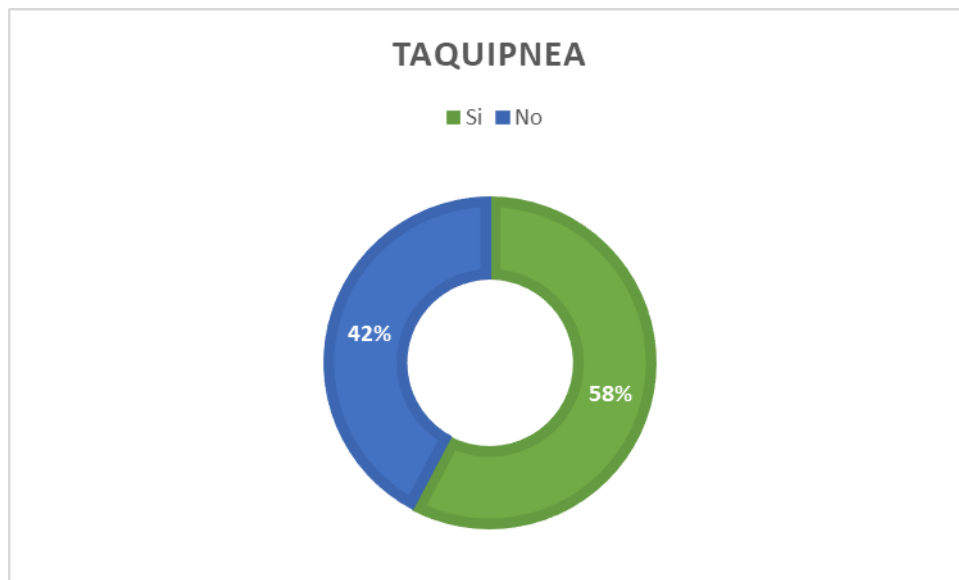


Tabla 5

Fiebre	Cantidad
Si	6
No	19

Gráfica 5

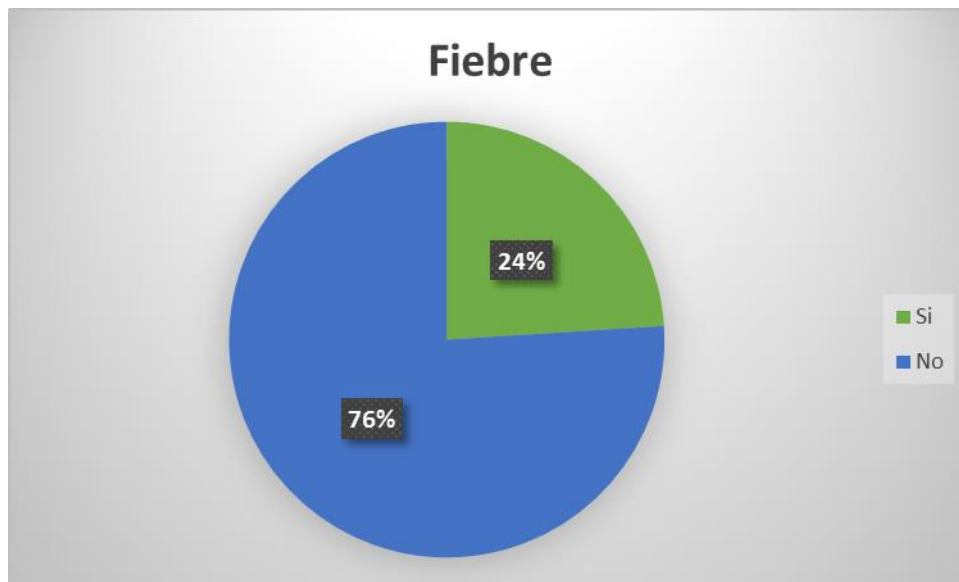


Tabla 6

Retracciones	Cantidad
Si	19
No	6

Gráfica 6



Tabla 7

Cianosis	Cantidad
Si	7
No	18

Gráfica 7

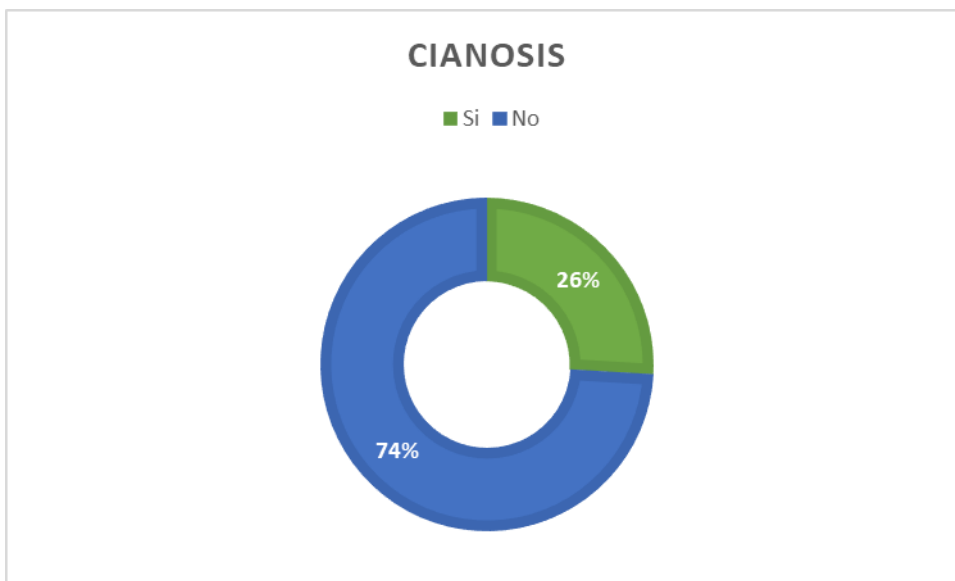


Tabla 8

Tos	Cantidad
Si	24
No	1

Gráfica 8

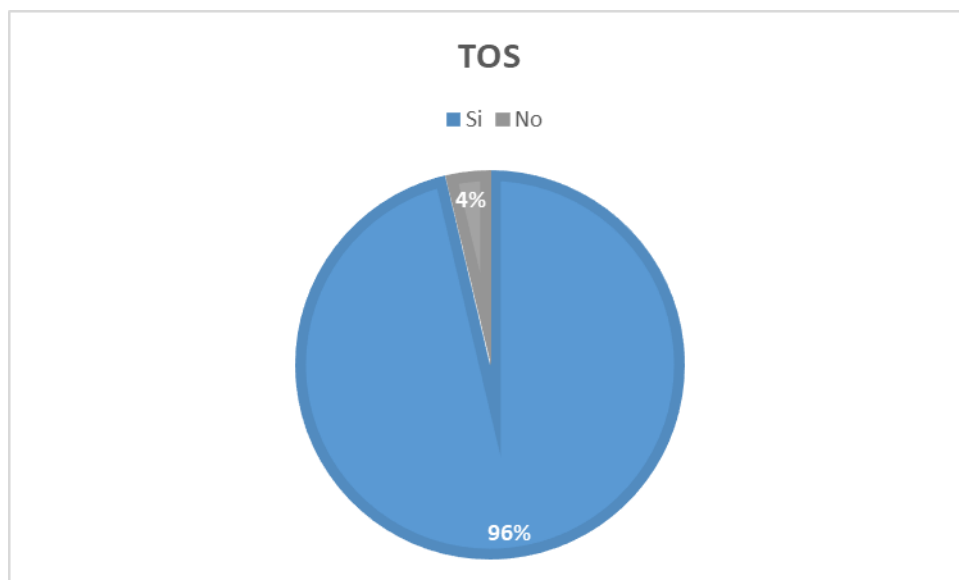


Tabla 9

Etiología por PCR Multiplex	Cantidad
Viral	22
Bacteriana	4
Mixta	3

Gráfica 9

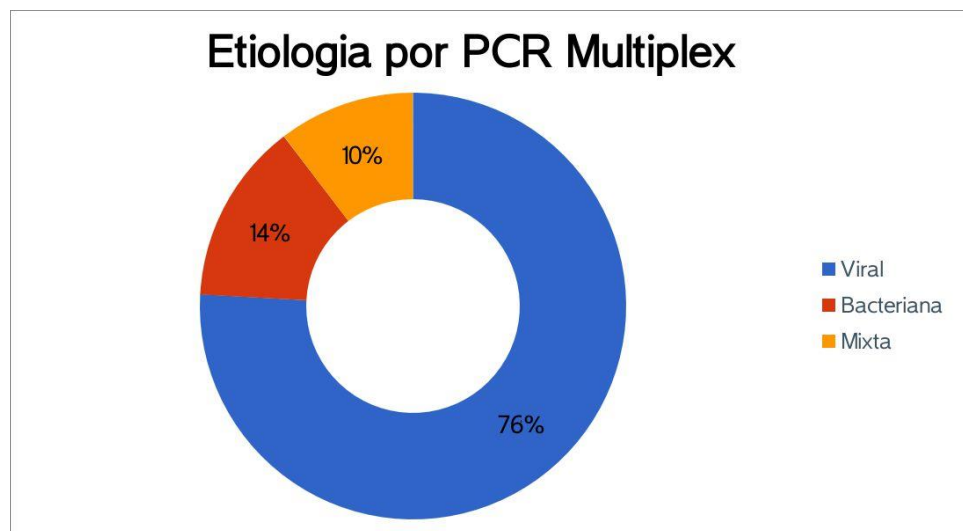
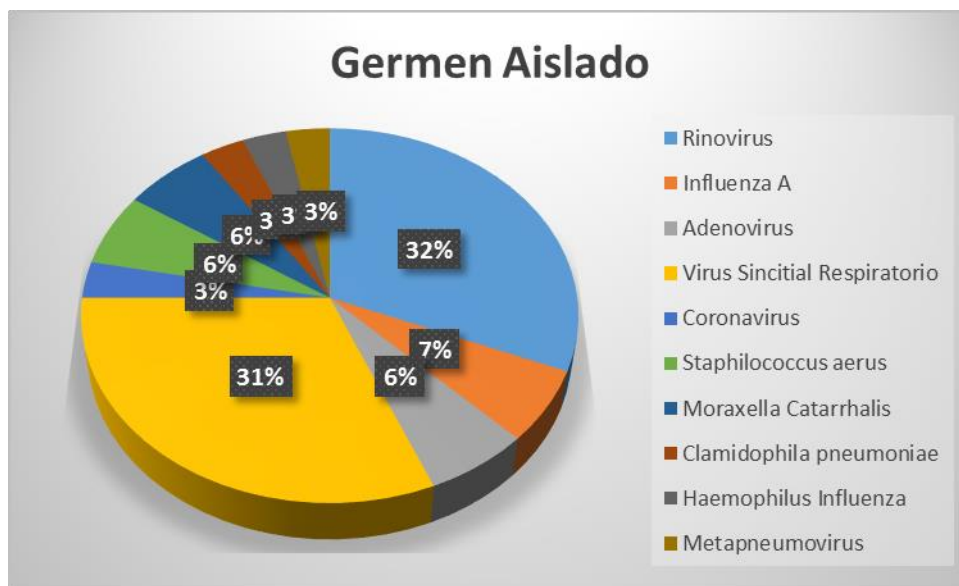


Tabla 10

Germen aislado	No de Pacientes
Rinovirus	10
Influenza A	2
Adenovirus	2
Virus Sincitial Respiratorio	10
Coronavirus	1
Staphilococcus aerus	2
Moraxella Catarrhalis	2
Clamidophila pneumoniae	1
Haemophilus Influenza	1
Metapneumovirus	1

Grafica 10



Chi-Square Calculator

Okay, we've now set up the 2 x 2 contingency table, and we're almost ready to do the chi-square calculation. However, before you hit the "Calculate" button, you need to select a significance level. It defaults to .05, but you can choose .01 or .10 if you prefer. You should also take a moment to check your data, and make any changes you require by clicking "Edit".

	Positivo	Negativo	Marginal Row Totals
Hemocultivo	5	13	18
PCR Multiplex	23	3	26
Marginal Column Totals	28	16	44 (Grand Total)

Significance Level:

- .01
 .05
 .10

Chi-Square Calculator

Success! The contingency table below provides the following information: the observed cell totals, (the expected cell totals) and [the chi-square statistic for each cell].

The chi-square statistic, p -value and statement of significance appear beneath the table. Blue means you're dealing with dependent variables; red, independent.

You'll notice we've also calculated a chi-square statistic with the popular Yates correction. There's probably a consensus now that the correction is over-cautious in its desire to avoid a type 1 error, but the statistic is there if you want to use it.

	Positivo	Negativo	Marginal Row Totals
Hemocultivo	5 (11.45) [3.64]	13 (6.55) [6.36]	18
PCR Multiplex	23 (16.55) [2.52]	3 (9.45) [4.41]	26
Marginal Column Totals	28	16	44 (Grand Total)

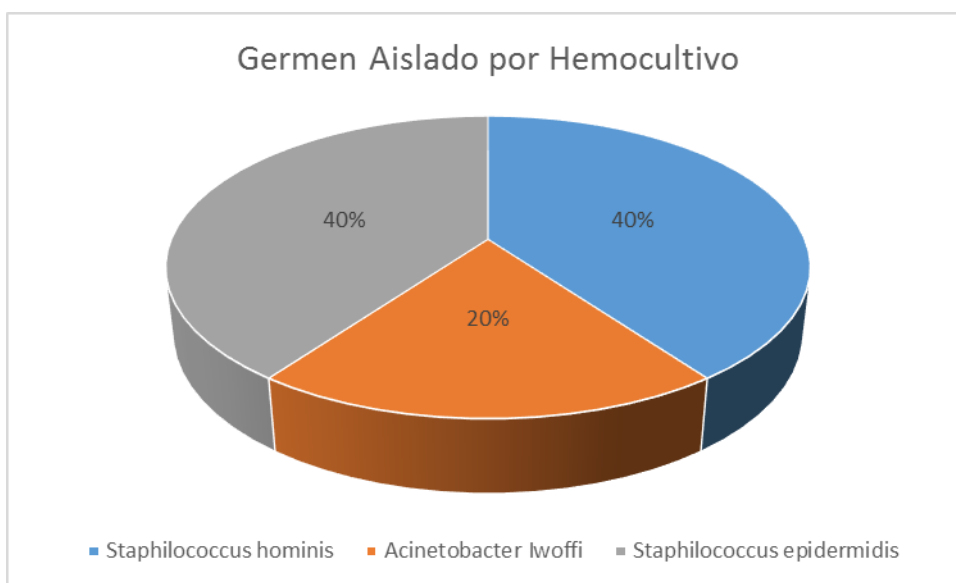
The chi-square statistic is 16.9264. The p -value is .000039. This result is significant at $p < .05$.

The chi-square statistic with Yates correction is 14.4056. The p -value is .000147. Significant at $p < .05$.

Tabla 11

Germen aislado por Hemocultivo	No pacientes
Staphilococcus hominis	2
Acinetobacter lwoffii	1
Staphilococcus epidermidis	2

Gráfico 11



VI. DISCUSION Y ANALISIS

En el presente estudio se realizó la prueba PCR Multiplex por medio de hisopado a pacientes que ingresaron con diagnóstico de Neumonía encontrándose mayor presentación en menores de un año de edad y en sexo masculino.

De los 25 pacientes incluidos en el estudio 19 fueron procedentes de la Ciudad de Guatemala, seguido de Sacatepequez con 2 pacientes.

Dentro de la sintomatología que presentaban a su ingreso 58% tenían taquipnea, 24% fiebre arriba de 38° C, 76% retracciones subcostales, 26% cianosis y 96% tos.

La etiología que prevaleció con la PCR Multiplex fue Viral, con predominio del Rinovirus y Virus Sincitial Respiratorio en 32% cada uno, seguido de Influenza y Adenovirus con 7%.

Dentro de las bacterias encontradas está el *Staphilococcus aureus* 6%, seguido de *Haemophilus Influenza* con 1 paciente.

De los 25 pacientes tomados en el estudio solo a 19 le realizaron hemocultivo, encontrándose 5 positivos, 2 para *Staphilococcus hominis*, 2 para *Staphilococcus epidermidis* y 1 para *Acinetobacter Iwoffii*.

6.1 CONCLUSIONES

1. En los pacientes que fueron incluido en el estudio el 85% son de origen viral, prevaleciendo el Rinovirus con 32%, seguido del Virus sincitial Respiratorio con 31%.
2. De los pacientes con Neumonía atendidos en la emergencia del Hospital Roosevelt 73% fueron del sexo masculino.
3. De las 25 pruebas realizadas solo una resultado negativo, las demás si determino germen causal.
4. Las pruebas con resultado bacteriano prevalecía el Staphilococcus aureus como agente causal, en comparación con lo encontrado en el hemocultivo donde se encontró Staphilococcus epidermidis y Staphilococcus hominis considerándose como contaminación al momento de la toma de muestra
5. El 56% de los pacientes ingresados con Neumonía fueron menores de 1 año de edad.
6. De los 25 pacientes que entraron en el estudio 19 (76%) eran procedentes de la Ciudad de Guatemala.
7. Los síntomas con los que se presentaron fueron tos (96%), taquipnea (60%) y retracciones subcostales (76%).
8. De los 25 pacientes del estudio se encontró que 3 (12%) presentaban etiología mixta.

6.2 RECOMENDACIONES

1. AL Hospital Roosevelt se le recomienda contar con los recursos necesarios para la atención de pacientes en área de emergencia y en encamamiento.
2. Se recomienda contar con la prueba de PCR Multiplex ya que es de mucha utilidad en cuanto al diagnóstico de Neumonía, con lo cual se puede realizar tratamiento dirigido.
3. Se recalca a todos los estudiantes de postgrado a realizar una adecuada historia clínica de pacientes ya que con eso se dirige mejor el tratamiento.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Johansson, N., Kalin, M., Tiveljung-Lindell, A., Giske, C. G., & Hedlund, J. (2010). Etiology of Community-Acquired Pneumonia: Increased Microbiological Yield with New Diagnostic Methods. *Clinical Infectious Diseases*, 50(2), 202-209. <https://doi.org/10.1086/648678>
2. Libia, D. L. (2013). Diagnóstico de neumonía adquirida en la comunidad en la población infantil. *Neumología Pediátrica*, 8, 66-73.
3. Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 22(5), 299-305. <https://doi.org/10.1157/13059826>
4. Guillén, R., Franco, R., Franco, L., Moraga, P., Ojeda, M., & Russomando, G. (2012). Detección por PCR múltiple de gérmenes atípicos en pacientes con neumonía adquirida de la comunidad que concurren al INERAM. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, 10(1), 24-35.
5. Andrés Martín, A., Moreno-Pérez, D., Alfayate Miguélez, S., Couceiro Gianzo, J. A., García García, M. L., Korta Murua, J. Pérez Pérez, G. (2012). Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *Anales de Pediatría*, 76(3). <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2011.09.011>
6. Ygreña, J. P., Lindo, F., Galarza, R., Morales, S., Gadea, S., & Guerra, G. H. (2010). Perfil etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad en niños de 2 a 59 meses en dos zonas ecológicamente distintas del Perú.
7. Kuszniarz, G., Chiani, Y., Rudi, J., Ortellao, L., Cantarutti, D., Pierini, J. Gasparri, J. (2016). Detección de *Streptococcus pneumoniae* en niños con neumonía adquirida en la comunidad. *Detection of Streptococcus Pneumoniae in Children with Community-Acquired Pneumonia.*, 88(3), 323-334. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=117919613&lang=es&site=ehost-live>

8. Bobek, V., Kolostova, K., Pinterova, D., Kacprzak, G., Adamiak, J., Kolodziej, J. Hoffman, R. M. (2010). A clinically relevant, syngeneic model of spontaneous, highly metastatic B16 mouse melanoma. *Anticancer Research*, 30(12), 4799-4804. <https://doi.org/10.1002/jmv>
9. Wessels, E., Schelfaut, J. J. G., Bernards, A. T., & Claas, E. C. J. (2012). Evaluation of several biochemical and molecular techniques for identification of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pseudopneumoniae* and their detection in respiratory samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1171-1177. <https://doi.org/10.1128/JCM.06609-11>
10. Subramony, A., Zachariah, P., Krones, A., Whittier, S., & Saiman, L. (2016). Impact of multiplex polymerase chain reaction testing for respiratory pathogens on healthcare resource utilization for pediatric inpatients. *Journal of Pediatrics*, 173, 196-201.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.02.050>
11. Schulte, B., Eickmeyer, H., Heininger, A., Juretzek, S., Karrasch, M., Denis, O. Keller, P. M. (2014). Detection of pneumonia associated pathogens using a prototype multiplexed pneumonia test in hospitalized patients with severe pneumonia. *PLoS ONE*, 9(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110566>
12. Abdeldaim, G., Herrmann, B., Korsgaard, J., Olcén, P., Blomberg, J., & Strålin, K. (2009). Is quantitative PCR for the pneumolysin (ply) gene useful for detection of pneumococcal lower respiratory tract infection? *Clinical Microbiology and Infection*, 15(6), 565-570. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02714.x>
13. Nelson tratado de Pediatria, 18° ed
14. Napoleón González Saldaña, Infectología clínica pediátrica, 8va ed.
15. José Alberto Correa V. Juan Fernando Gómez R. Ricardo Posada S., Fundamentos de pediatría, 3ra ed.
16. Badalà, F., Nouri-mahdavi, K., & Raouf, D. A. (2008). NIH Public Access. *Computer*, 144(5), 724-732. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>

17. Bolivar, A. M., Rojas, A., & Garcia-lugo, P. (2014). PCR y PCR-Múltiple : parámetros críticos y protocolo de estandarización (PCR and PCR-Multiplex : critical parameters and standardization protocol). *Avan Biomed.*, 3(1), 25–33.
18. Hazelton, B. J., Thomas, L. C., Unver, T., & Iredell, J. R. (2013). Rapid identification of Gram-positive pathogens and their resistance genes from positive blood culture broth using a multiplex tandem RT-PCR assay. *Journal of Medical Microbiology*, 62(PART 2), 223-231. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.050385-0>
19. Ruuskanen, O., Lahti, E., Jennings, L. C., & Murdoch, D. R. (2011). Viral pneumonia. *The Lancet*, 377(9773), 1264-1275. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61459-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61459-6)
20. Original, A. (2012). Detección por PCR múltiple de gérmenes atípicos en pacientes con neumonía adquirida de la comunidad que concurren al INERAM Multiplex PCR for detection of atypical bacteria in community-acquired pneumonia patients attending INERAM Hospital, 10(1), 24-35.
21. Dalpke, A., Zimmermann, S., & Schnitzler, P. (2016). Underdiagnosing of *Mycoplasma pneumoniae* infections as revealed by use of a respiratory multiplex PCR panel. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 86(1), 50-52. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.06.013>
22. Kumar, S., Wang, L., Fan, J., Kraft, A., Bose, M. E., Tiwari, S., ... Henrickson, K. J. (2008). Detection of 11 Common Viral and Bacterial Pathogens Causing Community-Acquired Pneumonia or Sepsis in Asymptomatic Patients by Using a Multiplex Reverse Transcription-PCR Assay with Manual (Enzyme Hybridization) or Automated (Electronic Microarray) Detection □, 46(9), 3063–3072. <https://doi.org/10.1128/JCM.00625-08>

VIII. ANEXOS

Instrumento

Datos Generales

1. Registro No:

2. Edad:

3. Sexo: Femenino Masculino

4. Lugar de Procedencia:

5. Padece de alguna enfermedad: Si No
Cual:

Signos vitales

6. Temperatura:
7. Frecuencia Respiratoria:
8. Saturación de Oxígeno:

Clínica:

9. Tos: Si No
10. Retracciones Torácicas:
Subcostales: Intercostales Supraesternales

Uso de músculos accesorios

11. Cianosis: Si No
12. Radiografía descripción:

Laboratorios

13. Hemograma:

14. PCR:

15. Hemocultivo Realizado: Si No
Resultado:

16. PCR Multiplex realizado: Si No
Resultado

17. Diagnostico:

PERMISO DE AUTOR PARA COPIAR TRABAJO

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada: "IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES DE NEUMONIA DE LA COMUNIDAD A TRAVES DE PCR MULTIPLEX HISOPADO" para propósitos de consulta académica. Sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción o comercialización total o parcial.