

UNIVERSITAT DE VALENCIA

Facultad de Medicina y Odontología

Departamento de Medicina

Programa de doctorado en Medicina



TESIS DOCTORAL

Diagnóstico precoz de la neumonía asociada al ventilador. Evaluación seriada de biomarcadores en minilavado broncoalveolar y monitorización microbiológica, complementada con condensado de aire exhalado y sangre

Doctorando:

Santiago Borrás Pallé.

Directores:

Dr. D. José Blanquer Olivas. Prof.

Dr. D. Manuel Mata Roig. Prof.

Dr. D. Francisco Javier Chorro Gascó

Los Doctores D. José Blanquer Olivas, D. Manuel Mata Roig y D. Francisco Javier Chorro Gascó.

HACEN CONSTAR

Que la tesis doctoral titulada: “Diagnóstico precoz de la neumonía asociada al ventilador. Evaluación seriada de biomarcadores en minilavado broncoalveolar y monitorización microbiológica, complementada con condensado de aire exhalado y sangre”, presentada por Santiago Borrás Pallé, Licenciado en Medicina y Cirugía, para la obtención del doctorado por la Universitat de Valencia ha sido realizada bajo su dirección y reúne las condiciones necesarias para su presentación y defensa ante el Tribunal correspondiente.

Los directores:

Dr. D. José Blanquer
Olivas

Dr. D. Manuel Mata
Roig

Dr. D. Francisco Javier
Chorro Gascó

Valencia, 2014.

A mi familia. Mi mujer, Susana, y mis hijos Jaime y Lucía, principal motivación en mi vida.

A mis padres y mi hermano, por darme todo para ser quién soy.

A mis profesores, maestros y compañeros.

Disfruta de tus éxitos, lo mismo que de tus planes.
Mantén el interés en tu propia carrera, por humilde que sea,
ya que es un verdadero tesoro en el fortuito cambiar de los tiempos.

Max Ehrman.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se inició hace ya años, durante los que ha habido momentos duros y llenos de dudas. Esta tesis doctoral no habría podido llevarse a cabo sin la iniciativa y guía de mis directores de tesis:

El Dr José Blanquer, que en medio de nuestro quehacer diario en la asistencia a los pacientes respiratorios de la UCI, tuvo una idea, diseñó el proyecto y confió en mí para llevarlo a cabo. Pieza fundamental en este trabajo. Gracias por creer en mí, por su paciencia y por no haber dejado que me rindiese, sin él este proyecto hubiera sido inconcebible.

El Dr. Manuel Mata. Gracias por su dedicación al análisis de biomarcadores. Por su disponibilidad, motivación y los buenos consejos. Por las horas de trabajo conjunto, por tener siempre una palabra de ánimo y ser una inyección constante de optimismo.

El Dr. Javier Chorro. Por haber puesto su experiencia y conocimiento en la puesta a punto de esta tesis y por su ayuda para mejorar el resultado final.

A todos mis compañeros de la UCI del Hospital Clínico Universitario de Valencia, jefes, compañeros y residentes, con los que tantas horas he compartido, por su comprensión y colaboración en la recogida de muestras. En especial a Ainhoa Serrano que siempre ha estado ahí, colaborando donde yo no podía llegar, compartiendo penas y alegrías, por su auténtica amistad y por creer en que podíamos lograrlo.

A todos los pacientes y familiares que desinteresadamente aceptaron formar parte de este trabajo.

A todos ellos muchas gracias

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

APACHE II: "Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II".

AT: Aspirado traqueal

BGN: Bacilo Gram Negativo

CBP: Cepillado bronquial protegido

CGP: Cocos Gram Positivos

CAE: Condensado de Aire Exhalado

CPIS: Clinical Pulmonary Infection Score

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

IL: Interleuquina

IL-1 β : Interleuquina 1 beta.

IL-6: Interleuquina 6.

IL-8: Interleuquina 8.

IL-10: Interleuquina 10.

IT: Intubación traqueal.

NAV: Neumonía asociada a la ventilación mecánica.

NIH: Neumonía adquirida en el Hospital.

PaO₂/ FiO₂: relación entre la presión parcial de oxígeno en la gasometría y la fracción inspiratoria de oxígeno administrada.

ROC: Receiver Operating Characteristic

SaO₂: Saturación arterial de Oxígeno

SDRA: Síndrome de dificultad respiratoria aguda.

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment.

TET: Tubo endotraqueal.

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

m-LBA: minilavado broncoalveolar

PCR: Proteína C-Reactiva.

PCR-us: Proteína C-Reactiva ultrasensible.

PCT: Procalcitonina.

PC: Punto de corte.

REF: valor de referencia

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

Ufc: Unidades formadoras de colonias.

VM: Ventilación Mecánica.

VMNI: Ventilación Mecánica No Invasiva.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Factores de riesgo para el desarrollo de una NAV.....	26
Tabla 2.	Estrategias preventivas de la NAV.....	31
Tabla 3.	Métodos microbiológicos diagnósticos de NAV.....	51
Tabla 4.	Aplicación de la PCT en sangre en el diagnóstico de NAV.....	55
Tabla 5.	Aplicación de la PCR en sangre en el diagnóstico de NAV.....	59
Tabla 6.	Aplicación de las citoquinas en sangre y LBA en el diagnóstico de NAV.....	63
Tabla 7.	Características basales de los pacientes.....	95
Tabla 8.	Signos vitales y datos analíticos basales.....	96
Tabla 9.	Niveles basales de PCR, PCR-us y PCT en las diferentes muestras.....	98
Tabla 10.	Niveles basales de citoquinas en las diferentes muestras.....	100
Tabla 11.	Aislamientos microbiológicos en el momento de inclusión en el estudio.....	103
Tabla 12.	Datos de morbimortalidad	105
Tabla 13.	Evolución de PCR, PCR-us y PCT en m-LBA de los pacientes que desarrollan NAV.....	107
Tabla 14.	Evolución de PCR, PCR-us y PCT en sangre y CAE de los pacientes que desarrollan NAV.....	110
Tabla 15.	Evolución de citoquinas previa al diagnóstico de NAV.....	113
Tabla 16.	Resultados microbiológicos en m-LBA en el momento del diagnóstico de NAV.....	120
Tabla 17.	Evolución microbiológica en los cultivos de vigilancia de los pacientes que desarrollan NAV	121
Tabla 18.	Cultivos de vigilancia de los pacientes que no desarrollaron NAV.....	122
Tabla 19.	Valores de PCR, PCR-us y PCT en el m-LBA de los pacientes que desarrollaron NAV frente a los que no lo hicieron a los 10 días de VM.....	125
Tabla 20.	Niveles de PCR, PCR-us y PCT en sangre y CAE de los pacientes que desarrollaron NAV frente a los que no lo hicieron a los 10 días de VM.....	127
Tabla 21.	Niveles de citoquinas de los pacientes que desarrollan NAV frente los que no la padecen a los 10 días de VM.....	130

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Microorganismos causales aislados en 1.689 casos de NAV.....	28
Figura 2.	Protocolo de recogida de datos.....	83
Figura 3.	Número de pacientes reclutados y excluidos.....	93
Figura 4.	Niveles basales de PCR, PCR-us y PCT agrupados según las muestras analizadas.....	99
Figura 5.	Niveles basales de PCR, PCR-us y PCT en cada muestra, agrupados por biomarcadores.....	99
Figura 6.	Curva ROC. Correlación de niveles basales de TNF- α en sangre y desarrollo de NAV.....	101
Figura 7.	Episodios de NAV respecto a los días de VM.....	104
Figura 8.	Evolución de PCR, PCR-us y PCT en m-LBA de los pacientes que desarrollan NAV.....	108
Figura 9.	Evolución de PCR, PCRus y PCT en sangre de los pacientes que desarrollan NAV.....	111
Figura 10.	Evolución de la PCT en CAE de pacientes que desarrollan NAV.....	112
Figura 11.	Evolución de las citoquinas en m-LBA, sangre y CAE de los pacientes que desarrollan NAV.....	114
Figura 12.	Evolución de cada citoquina en todas las muestras de los pacientes que desarrollan NAV.....	115
Figura 13.	Número de pacientes que desarrollaron o no NAV en los diferentes días de VM.....	124
Figura 14.	Niveles de PCR, PCR-us y PCT en m-LBA de pacientes que presentan NAV al 10 ^o día de VM frente a los que no la desarrollan.....	125
Figura 15.	Niveles de PCR, PCR-us y PCT en sangre de los pacientes que presentan NAV al 10 ^o día de VM frente a los que no la sufrieron.....	128
Figura 16.	Niveles de PCT en CAE de los pacientes que presentan NAV al 10 ^o día de VM frente a los pacientes que no lo hicieron.....	129
Figura 17.	Curva ROC. Correlación de los niveles de PCR-us en m-LBA en los pacientes que desarrollan NAV al 10 ^o día de VM.....	131
Figura 18.	Curva ROC. Correlación de los niveles de PCR en sangre en los pacientes que desarrollan NAV al 10 día de VM	132

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	19
1.1. IMPORTANCIA DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A VENTILACIÓN MECÁNICA (NAV).....	21
1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA NAV	23
1.2.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN EN LA NAV.....	26
1.2.2. MICROBIOLOGÍA DE LA NAV.....	27
1.2.3. FACTORES DE RIESGO Y MEDIDAS DE PREVENCIÓN PARA EL DESARROLLO DE UNA NAV.....	29
1.2.3.1. Medidas Generales.....	31
1.2.3.2. Prevención de la aspiración.....	33
1.2.3.3. Reducción de la colonización del tracto aéreo y digestivo.....	35
1.2.3.4. Minimizar la contaminación del equipo.....	37
1.3. PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LA NAV.....	38
1.4. DIAGNÓSTICO DE LA NAV.....	40
1.4.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	40
1.4.2. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO.....	43
1.4.2.1. Análisis microscópico y microbiológico	44
1.4.2.2. Métodos diagnósticos no invasivos.....	45
1.4.2.3. Métodos diagnósticos invasivos.....	48
1.4.2.4. Cultivos de vigilancia.....	51
1.4.3. MARCADORES BIOLÓGICOS.....	52
1.4.3.1. Procalcitonina (PCT).....	53
1.4.3.1.1. Determinación de PCT en sangre.....	54
1.4.3.1.2. Determinación de PCT en muestras respiratorias: Lavado broncoalveolar (LBA) y condensado de aire exhalado (CAE).....	55
1.4.3.2. Proteína C reactiva (PCR).....	57
1.4.3.2.1. Determinación de PCR en sangre.....	58
1.4.3.2.2. Determinación de PCR en muestras respiratorias: LBA y CAE.....	59
1.4.3.3. Citoquinas.....	59
1.4.3.3.1. Determinación de citoquinas en sangre.....	61
1.4.3.3.2. Determinación de citoquinas en muestras	

respiratorias: LBA y CAE.....	62
2. HIPÓTESIS.....	65
3. OBJETIVOS.....	69
3.1.OBJETIVO PRIMARIO.....	71
3.2.OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	71
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	73
4.1.TIPO DE ESTUDIO Y PACIENTES INCLUIDOS.....	75
4.1.1. Tamaño muestral.....	75
4.2.DIAGNÓSTICO DE LA NAV.....	76
4.3.PROTOCOLO DE ESTUDIO.....	77
4.3.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y GENERALES.....	77
4.3.2. ESCALAS.....	77
4.3.2.1. Índice de comorbilidad de Charlson.....	77
4.3.2.2. Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation (APACHE II).....	78
4.3.2.3. Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)	79
4.3.2.4. Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS)	80
4.3.3. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS.....	80
4.3.3.1. Determinación basal.....	80
4.3.3.2. Seguimiento.....	81
4.3.4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS.....	84
4.3.4.1. m-LBA.....	84
4.3.4.2. CAE.....	85
4.3.4.3. Sangre.....	86
4.3.5. PROCESADO DE LAS MUESTRAS.....	86
4.3.6. ANALISIS MICROBIOLÓGICO.....	87
4.4.ANÁLISIS DE DATOS.....	88
4.5.ASPECTOS MÉDICO-LEGALES.....	89
5. RESULTADOS.....	91
5.1.CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.....	94
5.2.NIVELES BASALES DE BIOMARCADORES.....	97

5.2.1. NIVELES BASALES DE PCR, PCR-us Y PCT.....	97
5.2.2. NIVELES BASALES DE CITOQUINAS.....	99
5.2.3. CURVAS ROC.....	101
5.3. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS BASALES EN EL MOMENTO DE INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO.....	102
5.4. EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES.....	104
5.5. ANÁLISIS EVOLUTIVO DE LOS BIOMARCADORES EN LOS PACIENTES QUE DESARROLLAN NAV.....	106
5.5.1. EVOLUCIÓN DE LA PCR, PCR-US Y PCT EN M-LBA.....	106
5.5.2. EVOLUCIÓN DE LA PCR, PCR-US Y PCT EN SANGRE Y CAE.....	109
5.5.3. EVOLUCIÓN DE LAS CITOQUINAS EN M-LBA, SANGRE Y CAE...	112
5.6. EVOLUCIÓN MICROBIOLÓGICA DE LOS PACIENTES QUE DESARROLLAN NAV.....	117
5.7. COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES EN LAS SUBPOBLACIONES DE PACIENTES QUE DESARROLLAN NAV FRENTE A LOS QUE NO LA PRESENTAN.....	123
5.7.1. COMPARACIÓN DE PCR, PCR-US Y PCT EN M-LBA.....	124
5.7.2. COMPARACIÓN DE PCR, PCR-US Y PCT EN SANGRE Y CAE.....	126
5.7.3. COMPARACIÓN DE CITOQUINAS EN M-LBA, SANGRE Y CAE....	129
5.7.4. CURVAS ROC.....	130
6. DISCUSIÓN.....	133
7. CONCLUSIONES.....	151
8. BIBLIOGRAFÍA.....	155
9. ANEXOS.....	173
ANEXO 1: CPIS.....	175
ANEXO 2: Índice de comorbilidad de Charlson.....	177
ANEXO 3: APACHE II	179
ANEXO 4: SOFA.....	181

1. INTRODUCCIÓN

1.1.IMPORTANCIA DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A VENTILACIÓN MECÁNICA.

Las infecciones nosocomiales constituyen una complicación mayor en los pacientes ingresados en el hospital, sobre todo en aquellos que por la gravedad de su proceso requieren su asistencia en unidades de críticos. Los pacientes con infecciones nosocomiales del tracto respiratorio pueden presentar una infección del parénquima pulmonar (neumonía) o de la vía aérea (traqueobronquitis). La neumonía adquirida intrahospitalaria (NIH) se refiere al desarrollo de una infección del parénquima pulmonar al menos tras 48 horas de hospitalización, que no se estaba incubando en el momento del ingreso. Si aparece tras 48 horas de haber sido sometido el paciente a intubación traqueal (IT) y recibir ventilación mecánica (VM) hablaremos de neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV). Además, hay pacientes que requieren intubación traqueal tras desarrollar una NIH grave, y debe manejarse de forma similar a una NAV ^{1,2}.

La neumonía nosocomial suele ser de origen bacteriano y representa la segunda complicación infecciosa más frecuente en el medio hospitalario, ocupando el primer lugar en los servicios de Medicina Intensiva donde su riesgo aumenta entre 6 y 20 veces por la presencia de la vía aérea artificial. El 80% de los episodios de neumonía nosocomial en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) ocurren en pacientes con vía aérea artificial ³⁻⁵. La NAV puede afectar hasta un 50% de los pacientes que ingresan en UCI, según la patología de ingreso, con una incidencia que varía entre 10 - 20 episodios por cada mil días de VM ⁶. El riesgo diario de contraerla oscila entre el 1 - 3%, siendo especialmente elevado los primeros días de estancia (estimándose un riesgo del 3%/día en los primeros 5 días, 2%/día entre el quinto y décimo día y del 1%/día en días sucesivos), así como en pacientes ingresados en coma, donde se puede llegar a diagnosticar hasta en el 50% de los mismos ⁷. En Europa, la neumonía ocurre en al menos el 7% de los pacientes que permanecen más de dos días en la UCI. La proporción de NAVs que se puede prevenir es debatible, pero no hay duda de que hay margen para reducirlas y que la prevención de la NAV se está convirtiendo en una meta fundamental en la seguridad del paciente ⁸.

La NAV se caracteriza además, por una importante morbilidad y mortalidad asociadas. Conlleva un aumento en la estancia hospitalaria entre 7 a 9 días ⁹, con un coste calculado por cada NAV superior a los 40000 dólares en Estados Unidos ¹⁰. Su tasa cruda de mortalidad oscila entre el 30 y el 70% y su mortalidad atribuible puede llegar al 50% ^{1, 5, 11}. El aumento de la mortalidad se asocia con la presencia de bacteriemia o de microorganismos multiresistentes y con un tratamiento antibiótico tardío o inefectivo, siendo por ello importante un diagnóstico y tratamiento precoz y efectivo ^{1, 10-13}.

1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA NEUMONÍA ASOCIADA A LA VENTILACIÓN MECÁNICA.

El desarrollo de la NAV es un proceso complejo y dinámico en el que intervienen factores relacionados con el huésped y los microorganismos responsables. El conocimiento de la patogénesis de la NAV es importante para desarrollar estrategias que permitan su prevención. Los huéspedes presentan mecanismos defensivos para evitar el desarrollo de una neumonía como son: la anatomía de la vía aérea, la tos, el moco, el aclaramiento mucociliar y la inmunidad humoral y celular (macrófagos alveolares, leucocitos polimorfonucleares, linfocitos, citoquinas, inmunoglobulinas, complemento, etc.). El tracto aerodigestivo superior, por encima de las cuerdas vocales se encuentra colonizado por microorganismos, sin embargo, en personas sanas el tracto respiratorio inferior es normalmente estéril. En los pacientes sometidos a VM gran parte de los mecanismos defensivos del huésped se encuentran comprometidos ^{14, 15}. Para que se desarrolle una NAV debe romperse el balance entre las defensas del huésped y la capacidad colonizadora e invasora del tracto respiratorio inferior por parte de los microorganismos.

Clásicamente se han venido distinguiendo cuatro vías patogénicas para el desarrollo de una NAV: i) la aspiración de secreciones colonizadas procedentes de la orofaringe; ii) por contigüidad; iii) por vía hematogena; iv) por inhalación a través de los circuitos del respirador o tubuladuras. De todas ellas, la microaspiración de microorganismos que previamente han colonizado la orofaringe y en menor grado el tracto gastrointestinal es la vía más frecuente y casi la única ruta de infección pulmonar ¹⁶⁻¹⁸. La flora orofaríngea normal en pacientes sanos no intubados se compone predominantemente de *Streptococcus viridans*, *Haemophilus* spp y anaerobios, siendo raro encontrar bacilos gram-negativos (BGN). En los pacientes críticos, la flora se modifica dramáticamente predominando BGN y *Staphylococcus aureus* ^{15, 19}. El tracto digestivo también puede suponer un reservorio importante de organismos causantes de NAV. Aunque en personas sanas pocas bacterias sobreviven en presencia de ácido gástrico, las situaciones que modifican el pH gástrico (como son el empleo de inhibidores de la bomba de protones, antagonistas de los receptores de la histamina H2 o la nutrición enteral), predisponen a la

proliferación bacteriana en el estómago ^{15, 20}. Estos microorganismos pueden refluir al esófago, facilitado por la presencia de sondas nasogástricas y ser aspirados en la tráquea. Sin embargo, pese a que el estómago puede ser un reservorio de BGN entéricos causantes de NAV, la ruta gastropulmonar no es una fuente patogénica principal de esta patología.

Por otra parte, hasta el 75 % de los pacientes graves y críticamente enfermos pueden ser colonizados por microorganismos de origen hospitalario a las 48 horas de ingreso en el Hospital ^{1, 15, 21}. Las fuentes de infección de las neumonías nosocomiales incluyen reservorios ambientales, entre ellos dispositivos y equipo médico, así como la transferencia desde el propio personal sanitario o desde otros pacientes, contaminación que acontece incluso pese a rigurosas medidas higiénicas. Múltiples factores como la patología de base, presencia de cirugía previa, tratamiento administrado (con un lugar destacado para los antibióticos previos), así como la exposición a técnicas o dispositivos que invaden la vía aérea son determinantes en el desarrollo de la NAV ^{22- 24}.

La vía aérea inferior es una zona habitualmente estéril, aunque con la excepción de pacientes con enfermedades crónicas pulmonares o cuyo tracto respiratorio haya sido instrumentalizado. El tubo endotraqueal (TET) imprescindible para la administración de la VM, rompe el aislamiento de la vía aérea inferior, facilita la entrada de microorganismos en el tracto respiratorio inferior y la consiguiente colonización traqueal. El TET, impide el mecanismo de la tos, compromete el aclaramiento mucociliar, lesiona el epitelio traqueal y permite el acceso directo de bacterias al tracto respiratorio inferior. El balón del neumotaponamiento del TET es un sistema que ayuda a mantener la vía aérea aislada, evitando pérdidas aéreas y la entrada de material a los pulmones. Sin embargo, no crea un sellado completamente estanco e incluso sobre él se acumulan secreciones provenientes de la cavidad oral, que pueden estar contaminadas por patógenos que colonizan la orofaringe. Estas secreciones contaminadas pasan alrededor del neumotaponamiento y alcanzan la vía aérea inferior. El inóculo será mayor si la integridad del sistema está alterada, y cuando supere la capacidad de defensa del huésped, se produce la reacción inflamatoria con la aparición de un infiltrado agudo con leucocitos

polimorfonucleares y el desarrollo de una infección. Una baja presión del neumotaponamiento permitiría un mayor paso de secreciones y se puede asociar al desarrollo de NAV. Por otro lado, una presión mayor comprometería la circulación en la mucosa respiratoria pudiendo llegar a lesionarla. Por todo ello, se recomienda que la presión del neumotaponamiento se mantenga entre 25–30 cm de H₂O ²⁴. Así, se entiende que las medidas dirigidas al cuidado de la vía aérea evitando la presencia de secreciones, su contaminación, o el paso de ellas a la vía aérea inferior son potenciales objetivos para la prevención de la NAV.

Existen múltiples factores que influyen en el desarrollo e incluso en la etiología de la NAV como son: el tiempo de VM, la administración previa de antibióticos y factores dependientes del huésped como la presencia de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o coma entre otras (**tabla 1**). Además, hay que destacar que la etiología depende en gran medida de factores locales, pudiendo diferir entre diferentes UCIs.

Los episodios de NAV se han clasificado tradicionalmente como NAV precoz y tardía. El tiempo de inicio de la NAV es una variable epidemiológica importante y un factor de riesgo tanto para patógenos específicos como para su pronóstico ¹. Los episodios de NAV precoces acontecen en los primeros 4 días de VM, suelen estar producidos por patógenos que generalmente no presentan problemas para su tratamiento antibiótico, y la mayoría de las pautas de tratamiento empírico incluyen fármacos activos contra ellos, conllevando un mejor pronóstico. En contraste, los pacientes con episodios de NAV tardíos (a partir del quinto día) presentan riesgo de estar producidos por microorganismos con un perfil de resistencia antibiótica compleja y se asocian a mayor morbimortalidad. Además, la etiología puede estar modulada por la existencia de enfermedades de base (EPOC, inmunodepresión), tratamiento antibiótico previo o factores locales (alta presión de colonización por algún patógeno), favoreciendo, la colonización primero, y posteriormente la presencia de episodios por microorganismos de difícil tratamiento ²⁵.

Tabla 1: Factores de riesgo para el desarrollo de una NAV.

Enfermedades y comorbilidades	Traumatismo craneal
	Presencia de coma o sedación profunda
	Parada cardiorespiratoria
	Periodo postoperatorio precoz
	Quemados con lesión pulmonar por inhalación
	EPOC u otra enfermedad respiratoria crónica
	Pacientes inmunodeprimidos
	Enfermedad grave previa
Situaciones	Contraindicación para la posición de semi-incorporado
	Intubación nasotraqueal
	Exposición a antibiótico
	Politransfusión
	Transporte intrahospitalario

1.2.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN EN LA NAV.

Durante los últimos años han aparecido evidencias sobre la importancia de la respuesta inflamatoria del huésped en la evolución de la NAV. Tras la llegada de microorganismos patógenos a la vía aérea inferior y al espacio alveolar se produce una respuesta inflamatoria con la intervención de reactantes de fase aguda y mediadores de la respuesta inflamatoria, cuyo objetivo es controlar la progresión de la infección y destruir a los patógenos ²⁶. En esta reacción están implicadas citoquinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleuquina 1 beta (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6) o la interleuquina 8 (IL-8) así como antiinflamatorias como la interleuquina (IL-10). Estos mediadores promueven la migración celular de neutrófilos, linfocitos o plaquetas con el objetivo de limitar la infección local, aunque sin embargo también puede producirse una respuesta exagerada con consecuencias

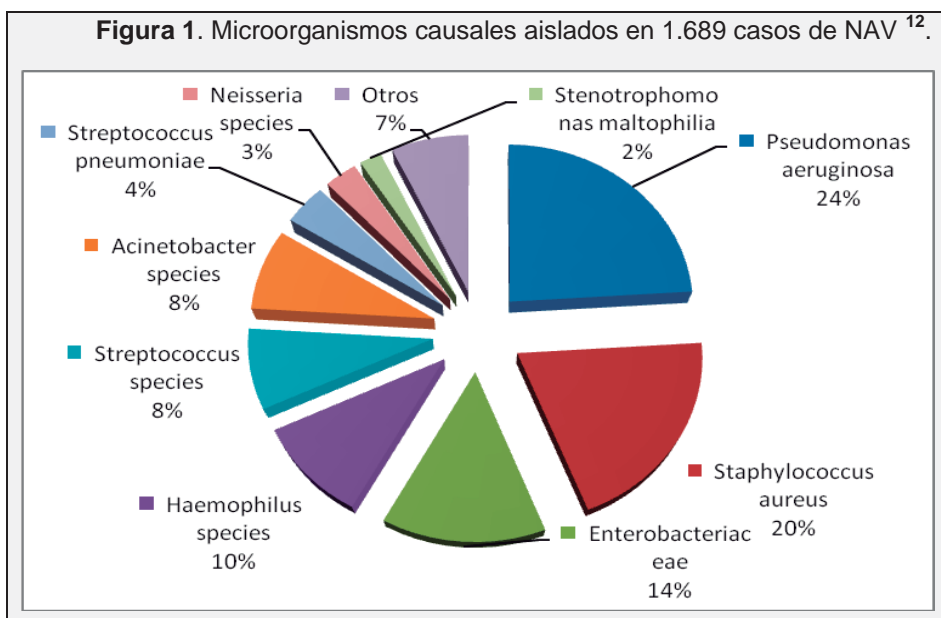
sistémicas ^{27, 28}. Se han detectado niveles altos de estas citoquinas en tejido pulmonar y sangre de pacientes con neumonía grave y se ha descrito que una respuesta inflamatoria desproporcionadamente incrementada predice la ausencia de respuesta al tratamiento y un mayor riesgo de muerte ^{29, 30}.

En estudios experimentales de NAV inducida en animales se objetivó un incremento de las citoquinas inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) en lavado broncoalveolar (LBA) y suero tras la inducción de una neumonía bacteriana, siendo mayor la respuesta inflamatoria detectada a nivel pulmonar que sistémica, sugiriendo que la producción de citoquinas está compartimentalizada inicialmente. La administración de antibióticos o la presencia de comorbilidades pueden influenciar la respuesta inmune local y sistémica ³¹.

1.2.2. MICROBIOLOGÍA DE LA NAV.

La NAV puede ser provocada por gran variedad de patógenos e incluso por varios. Como hemos visto, la colonización del tracto respiratorio superior es un factor predisponente para el desarrollo de una NAV. La flora mixta local orofaríngea, que es habitualmente poco virulenta, va siendo sustituida por microorganismos endógenos o por otros transmitidos de forma exógena a través del material y personal sanitario. La flora varía conforme transcurren los días de ingreso y de VM, especialmente si el paciente está recibiendo tratamiento antibiótico. Entre los microorganismos más frecuentes encontramos BGN aerobios como la *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp, así como cocos gram-positivos (CGP) como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* spp. La infección puede ser monomicrobiana o polimicrobiana. La neumonía nosocomial causada por virus y hongos es mucho menos frecuente salvo en pacientes inmunodeprimidos ^{32, 33}. En un trabajo clásico de Chastre y Fagon ¹² se recogen los hallazgos microbiológicos encontrados en 24 estudios que emplearon métodos fibrobroncoscópicos para la toma de cultivos en 1698 episodios de NAV. De forma global, los BGN aerobios supusieron el 58% de los aislamientos, mientras que los CGP alcanzaron hasta el 35% de los casos. Podemos ver los patógenos aislados en la **Figura 1**. El patógeno más común fue *Pseudomonas aeruginosa* (24%), seguido por *Staphylococcus aureus* (20%

de los aislamientos, de los cuales más de la mitad fueron resistentes a metilina). Las *Enterobacteriaceae* o BGN entéricos, fueron el tercer grupo de patógenos más frecuentes, alcanzando el 14% de los casos (entre ellos *Proteus species*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* o *Serratia*). El resto de aislamientos incluyen: *Haemophilus species* (9,8%), *Streptococcus species* (8%), *Acinetobacter species* (7,9%), *Streptococcus pneumoniae* (4%), *Neisseria species* (3%), *Stenotrophomonas maltophilia* (2%) y otros en porcentajes inferiores. La etiología varía y se ve influenciada por la situación clínica del paciente y sus comorbilidades, el tratamiento administrado, del tiempo de hospitalización y de VM, así como del tipo de hospital y la flora propia del mismo.



Muchos de los patógenos causantes de NAV, como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* *Stenotrophomonas species*, así como *Staphylococcus aureus* resistente a metilina, y BGN entéricos que expresan β -lactamasas de espectro extendido presentan altos niveles de resistencia a antibióticos y se denominan patógenos multirresistentes o potencialmente resistentes. Además, su incidencia se está incrementando especialmente en las UCIs. Los episodios de NAV precoces, que acontecen en los primeros 4 días de VM, en líneas generales, suelen estar producidos por patógenos que no suelen presentar

problemas de resistencia a antibióticos como son: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, mientras que en los casos tardíos (a partir del quinto día) el riesgo de microorganismos potencialmente resistente es mayor. Además, la etiología puede estar modulada por la patología del paciente, la existencia de comorbilidades (EPOC, inmunodepresión), la administración de tratamiento antibiótico previo o factores locales (alta presión de colonización por algún patógeno), favoreciendo, la colonización primero, y posteriormente la infección por algunos de los microorganismos de difícil tratamiento ^{2, 25, 34}. La incidencia de determinados patógenos resistentes a dos o más antibióticos varía entre hospitales, diferentes UCIs, unidades específicas dentro de cada hospital y según tipo de población atendida, siendo importante conocer en cada hospital y unidad la flora microbiana y la presencia de estos microorganismos a la hora de ajustar los tratamientos antibióticos empíricos administrados.

Los factores de riesgo asociados a la infección por patógenos potencialmente resistentes incluyen ^{2, 25, 33, 34}.

- Haber recibido tratamiento antibiótico reciente (en los 90 días previos).
- Hospitalización actual superior a los 5 días.
- Hospitalización reciente (superior a dos días en los 90 días previos).
- Alta frecuencia de resistencia a antibióticos en la comunidad o en la unidad de hospitalización.
- Pacientes con patología o tratamiento inmunosupresor.
- Sepsis grave / shock séptico.
- Estancia en hospitales de larga estancia o residencias.
- Tratamiento intravenoso domiciliario.
- Hemodiálisis crónica.

1.2.3. FACTORES DE RIESGO Y MEDIDAS DE PREVENCIÓN PARA EL DESARROLLO DE UNA NAV.

En el desarrollo de la NAV intervienen factores relacionados con el huésped y con los microorganismos causales. En base al conocimiento su patogénesis podremos desarrollar estrategias para permitan prevenirla. Aunque

no sabemos con certeza la proporción de episodios de NAV que pueden evitarse, el desarrollo de medidas de prevención debe ser un punto de esfuerzo para disminuir la morbimortalidad de este cuadro. Los factores de riesgo para la NAV son múltiples y algunos de ellos pueden ser modificables ^{1, 16, 35- 36};

- Edad > 70 años.
- VM prolongada y reintubación.
- Uso previo de antibióticos, en especial cefalosporinas de tercera generación.
- Uso de relajantes musculares.
- Posición supina.
- Enfermedad pulmonar crónica.
- Depresión del nivel de conciencia. Coma.
- Traumatismo craneoencefálico con dispositivos de control de la presión intracraneal.
- Cirugía torácica.
- Uso de inhibidores de los receptores H2 y antiácidos.
- Presencia de sonda nasogástrica.
- Traslados frecuentes del paciente fuera de la UCI para procedimientos diagnósticos o terapéuticos.
- Baja presión del neumotaponamiento.
- VM por síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA).

Se han descrito el desarrollo de “ventilator bundles” o paquetes de medidas que incluyen grupos de intervenciones que aplicadas conjuntamente tienen el objetivo de reducir la incidencia de NAV y de sus complicaciones asociadas. Aunque no existe un paquete universalmente aceptado y las diferentes medidas clínicas incluidas en los distintos “ventilator bundles” no son las mismas, hay una serie de recomendaciones en diferentes guías de práctica clínica para reducir el riesgo de NAV ³⁵⁻⁴¹. Se incluyen medidas farmacológicas y no farmacológicas que vemos de forma resumida en la **tabla 2**.

Tabla 2: Estrategias preventivas de la NAV ³⁵.

Medidas generales	Higiene de manos
	Uso de ventilación no invasiva cuando sea posible
	Minimizar la duración de la ventilación
	Intentar destete precoz
	Educación y entrenamiento del personal
Prevención de la aspiración de secreciones	Evitar intubación nasotraqueal
	Paciente semiincorporado entre 30-45°
	Mantener presión del neumotaponamiento en 20 cmH ₂ O
	Emplear tubos endotraqueales con aspiración subglótica
	Evitar extubaciones no planeadas
	Evitar distensión gástrica
Reducir colonización del tracto aéreo y digestivo	Evitar el empleo de bloqueantes de los receptores de la histamina H ₂ y de la bomba de protones en pacientes sin alto riesgo de úlcera por stress
	Antisépticos orales
	Descontaminación digestiva selectiva
Minimizar la contaminación del equipo	Emplear agua estéril para la limpieza de los equipos
	Retirar el condensado en los circuitos del respirador
	Cambiar el circuito del respirador solo en caso de malfuncionamiento o suciedad
	Desinfección adecuada de los equipos

1.2.3.1. Medidas Generales.

Se recomienda la aplicación de una serie de cuidados y medidas generales dirigidas a evitar la transmisión cruzada y optimizar el uso de

dispositivos invasivos. Dentro de las estrategias para prevenir la NAV se encuentran:

La educación y colaboración del equipo sanitario, acompañada de la adecuada desinfección de sus manos con frecuencia colonizadas por patógenos, empleo de métodos barrera, ratio adecuado del personal que atiende a los pacientes bajo VM o la presencia de terapeutas respiratorios.

A menudo es necesario trasladar a los pacientes sometidos a VM a otras áreas hospitalarias a fin de efectuarles pruebas diagnósticas o terapéuticas. Los pacientes en muchas ocasiones se trasladan en posición supina y precisan manipulación de los sistemas de ventilación o del TET, lo que podría facilitar la aspiración de secreciones. El **traslado intrahospitalario** de pacientes bajo VM aumenta el riesgo de desarrollar NAV ^{40, 42}. Aunque no se ha establecido una causa fisiopatológica clara se recomienda, cuando sea preciso realizar un traslado, tomar medidas preventivas como suspender la nutrición enteral, evitar el desplazamiento de condensaciones hacia la vía aérea inferior al manipular las tubuladuras, y si es posible realizar el traslado del paciente semisentado.

En tanto que los pacientes intubados tienen un riesgo hasta 20 veces superior de desarrollar una neumonía nosocomial que los pacientes sin vía aérea artificial, evitar la IT y reducir los días de la misma debería ser objetivos prioritarios. En esta línea se aboga por el **uso de la ventilación mecánica no invasiva (VMNI)**, sobre todo en pacientes con exacerbaciones agudas de una EPOC, fallo respiratorio hipoxémico debido a edema pulmonar cardiogénico, y aunque con menos evidencia en el destete de la VM invasiva ^{1, 37, 41, 43- 44}. Por otro lado, una vez instaurada la VM, reducir su duración puede disminuir la incidencia de NAV, por lo que se recomiendan protocolos de desconexión temprana de la VM que incluyen estrategias como la retirada diaria de la sedación.

1.2.3.2. Prevención de la aspiración.

Se debe emplear la **intubación orotraqueal** en lugar de la nasotraqueal, ya que esta última favorece el desarrollo de sinusitis nosocomial, que a su vez puede predisponer al desarrollo de una NAV, si se produce una aspiración de secreciones infectadas desde los senos paranasales.

La **posición semi-incorporada** del paciente en la cama, entre 30 - 45°, parece asociarse con menos riesgo de broncoaspiración que la posición supina (cabezal de la cama incorporada por debajo de 10°), sobre todo en aquellos pacientes que estén recibiendo nutrición enteral. Aunque no se ha demostrado efecto en la mortalidad de los pacientes, parece preferible mantener a los pacientes sometidos a VM semiincorporados, a no ser que exista alguna contraindicación.

Se debe controlar la **presión del balón del neumotaponamiento** dentro de unos límites adecuados. La presión debe ser suficiente para evitar la pérdida de gases administrada por el ventilador, así como el paso de bacterias patógenas alrededor del balón de neumotaponamiento en el tracto aéreo inferior. Por otro lado la presión no debe ser excesiva, a fin de evitar el daño traqueal inducido por la compresión del citado balón. Así, la presión óptima dentro del neumotaponamiento debe mantenerse entre 20 y 30 cmH₂O.

Como se ha descrito, la presencia de un TET lleva a la acumulación de secreciones orofaríngeas o del tracto gastrointestinal por encima del balón del neumotaponamiento y al paso posterior al tracto respiratorio inferior. La retirada de estas secreciones acumuladas podría disminuir este riesgo. Por ello, se han diseñado TET con un canal dorsal que permite la **aspiración subglótica** de estas secreciones acumuladas, de forma continua o intermitente. Un metaanálisis de 13 estudios randomizados, con 2442 pacientes incluidos, confirma una reducción en las tasas de NAV en aquellos casos en los que se empleó la aspiración subglótica de secreciones, además de alargar el tiempo hasta la aparición del primer episodio de NAV y reducir la estancia en

UCI y la duración de la VM, aunque no se objetiva impacto sobre la mortalidad ⁴⁵.

La aspiración de las secreciones respiratorias a través del TET es necesaria a fin de eliminarlas y mantener la permeabilidad de la vía aérea. Esta aspiración puede realizarse mediante sistemas abiertos, con una sonda de aspiración de un solo uso y que requieren la desconexión del respirador, o bien mediante **sistemas de aspiración cerrados** con catéteres reutilizables, pero que no precisan la desconexión de la VM. No se han detectado diferencias entre ambos sistemas respecto a la disminución de episodios de NAV entre ambos sistemas, por lo que la evidencia no sustenta el empleo rutinario de sistemas cerrados.

Se ha descrito la formación de una biocapa o *biofilm*, compuesto por un agregado bacteriano dentro del TET, que protege a los microorganismos de la acción de los antibióticos y las defensas del huésped. A fin de evitar su formación se han diseñado tubos recubiertos de plata, que previene la formación de la biocapa, tiene actividad bactericida y reduce la carga bacteriana. En el estudio NASCENT ⁴⁶, el empleo de un **TET recubierto de plata** frente al tubo convencional, en 2003 pacientes intubados durante más de 24 horas, redujo significativamente la aparición de NAV microbiológicamente confirmada, además de retrasar su desarrollo. Sin embargo, no se redujo el tiempo bajo VM, la estancia en UCI ni la mortalidad.

La desnutrición en el paciente crítico produce deterioro del sistema inmune, disfunción del impulso respiratorio y debilidad muscular, por lo que el soporte nutricional se considera un componente integral del tratamiento óptimo del paciente en UCI. Sin embargo, la nutrición enteral se ha considerado factor de riesgo de desarrollar NAV por la posibilidad de aspiración de material gástrico ⁴⁰. Es necesario establecer un protocolo de nutrición fraccionada que evite la sobredistensión gástrica y que incluya la posición semisentada del paciente. No hay un consenso definido sobre el empleo de nutrición postpilórica para prevenir el desarrollo de NAV.

La necesidad de reintubación de los pacientes se asocia al desarrollo de NAV debido a que aumenta el riesgo de aspiración de patógenos desde la orofaringe, en pacientes que además presentan disfunción subglótica por la presencia previa de un TET. Podemos **reducir la necesidad de reintubación** planeando correctamente el momento de la extubación, mediante protocolos de destete de VM, empleando VMNI y evitando extubaciones accidentales ³⁷.

1.2.3.3. Reducción de la colonización del tracto aéreo y digestivo.

La utilización de **profilaxis para la hemorragia digestiva alta** es un tema controvertido. La incidencia de esta complicación se ha estimado entre el 0,6 al 6% y, pese a que la profilaxis del sangrado digestivo es ampliamente utilizada en las UCIs, su efectividad en la disminución de la mortalidad de los pacientes no ha sido demostrada ⁴⁷. La modificación del pH gástrico puede predisponer a la proliferación bacteriana en el estómago y a su vez estos microorganismos pueden refluir al esófago y ser aspirados en la tráquea ^{15, 20}. Varios estudios han demostrado un aumento de la incidencia de neumonía nosocomial cuando se incrementa el pH gástrico con el uso de sucralfato, antagonistas de los receptores H2 o inhibidores de la bomba de protones que suelen emplearse para evitar la aparición de úlceras de estrés en los pacientes ingresados en UCI ⁴⁸⁻⁵⁰. En 2008, la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas recomienda evitar el empleo de antagonistas de los receptores H2 o inhibidores de la bomba de protones en pacientes que no muestran riesgo elevado de desarrollar gastritis o úlcera de estrés ³⁵.

El desarrollo de la NAV requiere la presencia de patógenos que acceden al tracto respiratorio inferior provenientes de otras fuentes primarias. Las placas gingival y dental se colonizan rápidamente cuando hay una higiene oral pobre y ausencia de mecanismos propios de eliminación. La **modulación de la colonización mediante antisépticos tópicos orales** resulta crucial. De entre los antisépticos empleados, la

clorhexidina ha sido el más ampliamente estudiado y evaluado. En diversos estudios, así como en una revisión sistemática y meta-análisis⁵¹, se ha visto que en pacientes ventilados la incidencia de NAV se disminuye mediante el empleo oral de antisépticos, con una reducción del riesgo relativo del 44%, aunque no demostró una reducción en la mortalidad o la duración de la VM. De esta forma, en base a los datos disponibles se recomienda implementar el aseo de la cavidad oral con clorhexidina junto con su cepillado mecánico al disminuir la incidencia de NAV y ser una medida costo-efectiva. Aunque no se ha establecido el régimen definitivo, se sugieren soluciones entre 0,12 - 0,2%, con 15 ml, al menos dos veces al día y hasta 24 horas tras la extubación.

La descontaminación selectiva del tracto gastrointestinal, supone un intento de disminuir la incidencia de NAV al reducir la colonización del tracto respiratorio superior por BGN aerobios y *Candida* spp sin alterar la flora anaerobia habitual. Consiste en la administración de antibióticos orales no absorbibles (habitualmente colistina, tobramicina y amfotericina B o nistatina) de forma tópica como una pasta en orofaringe y como suspensión en estómago a través de sonda nasogástrica, junto a antibióticos intravenosos (cefotaxima). La incorporación de los procedimientos de descontaminación intestinal selectiva ha sido un tema polémico en las UCIs. Pese a la variedad de ensayos clínicos aleatorizados y metaanálisis que han ido mostrando una disminución neta de la frecuencia de NAV e incluso de la mortalidad⁵²⁻⁵⁵, no todas las recomendaciones publicadas por sociedades científicas incluyen la descontaminación digestiva para evitar el desarrollo de NAV^{1, 41, 56}. En contrapartida a los efectos beneficiosos, la validez de esta técnica se ve limitada ante la dificultad de establecer el diagnóstico definitivo de NAV. Por otra parte, la aplicabilidad de algunos de los estudios está limitada, por tratarse de instituciones con muy bajas tasas de resistencia a los antibióticos empleados para la profilaxis. Además, hay que considerar que el propio empleo de esta práctica puede incrementar el desarrollo de bacterias resistentes.

1.2.3.4. Minimizar la contaminación del equipo.

Los gases medicinales empleados en la VM son fríos y secos lo que condiciona la evaporación del agua en el moco y fluido periciliar condicionando un descenso en la capacidad de aclaramiento del moco, por lo que para evitarlo se emplean humidificadores, que a su vez, puede producir condensación de líquido a nivel de las tubuladuras. Este líquido puede contaminarse por la manipulación de la vía aérea y el circuito o a través de las secreciones del propio paciente. Por tanto, se recomienda drenar adecuadamente el condensado acumulado y evitar así que con las movilizaciones se desplace a la vía aérea inferior del paciente. Se debe evitar la manipulación y los cambios innecesarios de las tubuladuras del respirador que no se recomienda se hagan de forma rutinaria, sino tan solo cuando visualmente esté contaminadas por sangre, vómito o secreciones purulentas ^{1, 17- 18, 40, 41, 57}.

1.3. PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LA NAV.

La NAV es un tipo de neumonía nosocomial que se desarrolla tras más de 48 horas de VM. Su presentación típica consiste en la aparición de infiltrados pulmonares nuevos o junto con signos de infección local (secreciones purulentas por el TET) y sistémica (fiebre, leucocitosis o leucopenia), así como un deterioro respiratorio (descenso de la oxigenación, aumento de la frecuencia y el trabajo respiratorios o descenso del volumen corriente en el respirador). El desarrollo de estos síntomas suele ser gradual, aunque puede aparecer de forma súbita ^{1,2}. En el examen físico se pueden encontrar, además de la fiebre y las secreciones purulentas e incluso hemoptoicas, alteraciones en la auscultación pulmonar que incluyen *roncus* dispersos, crepitantes o zonas con disminución del murmullo vesicular, no siendo excepcional la hiperreactividad bronquial. Suelen además asociarse cambios en los parámetros ventilatorios, que se pueden identificar en el respirador mecánico, entre los que se incluyen el aumento de la frecuencia respiratoria, descenso del volumen corriente, hipoxemia, alteraciones en la resistencia o complianza pulmonar.

Sin embargo, estos signos y síntomas no son específicos o patognomónicos de NAV. Existen múltiples entidades que cursan con infiltrados pulmonares, en pacientes que pueden presentar fiebre y/o leucocitosis por otras razones, lo que complica el diagnóstico. Muchos pacientes críticos ingresados en las UCIs a menudo tienen infiltrados pulmonares previos que no tienen origen infeccioso. Por todo ello, en el diagnóstico diferencial de la NAV se deben incluir otras patologías como: la neumonitis aspirativa, las atelectasias, el embolismo e infarto pulmonar, el SDRA, la hemorragia pulmonar, la contusión pulmonar, la infiltración neoplásica, la neumonitis por radiación e incluso el edema agudo de pulmón ^{9, 58- 59}.

Por otra parte, se pueden encontrar muchos de los signos y síntomas descritos sin evidencia de infiltrados radiológicos nuevos o progresivos. En este caso se debe considerar el diagnóstico de traqueobronquitis ^{1, 22, 59- 60}. Ambas patologías comparten mecanismos patogénicos e incluso morbimortalidad

asociada. Además, el desarrollo de la misma incrementa el riesgo de NAV, ya que la traqueobronquitis puede progresar a NAV.

El objetivo de lograr un correcto diagnóstico de la NAV es doble. En primer lugar, definir si realmente es una neumonía la causa de los signos y síntomas que presenta el paciente, además de intentar identificar el agente etológico para un correcto tratamiento. Desgraciadamente, con las herramientas actuales no siempre es posible llegar a un diagnóstico correcto y definitivo. A continuación pasamos a describir las técnicas diagnósticas de NAV.

1.4. DIAGNÓSTICO DE LA NAV.

El diagnóstico de la NAV requiere, en primer lugar, una sospecha clínica en base a la aparición de alguno de los síntomas y signos comentados en el punto anterior. Además de definir si el paciente tiene una neumonía como causa de una constelación de síntomas y signos, se debe buscar una confirmación microbiológica e identificar el patógeno causante a fin de administrar el tratamiento correcto y lo antes posible. El diagnóstico de NAV ha estado y está sujeto a controversia, ya que una aproximación clínica es sensible pero poco específica, sin embargo el empleo de criterios microbiológicos no está exento de problemas⁶¹⁻⁶⁷. El principal obstáculo para el diagnóstico de NAV es la ausencia de un patrón de referencia. La ausencia de unos criterios estándar bien definidos, dificulta incluso los esfuerzos para evaluar y comparar estudios sobre NAV. Las últimas guías, publicadas en 2005 por la Sociedad Americana del Tórax junto a la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas¹ tratan de combinar características clínicas y microbiológicas para dirigir el tratamiento.

1.4.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO.

No hay ninguna manifestación clínica que pueda emplearse por sí sola para diagnosticar una NAV. Ante su sospecha clínica siempre debe realizarse una radiografía de tórax. Los hallazgos radiográficos más comunes incluyen la presencia de infiltrados alveolares, broncograma aéreo o borramiento de la silueta de órganos sólidos adyacentes. La radiografía de tórax presenta una sensibilidad muy elevada aunque con baja especificidad, de forma que una radiología normal excluye la existencia de una NAV, mientras que las alteraciones radiológicas por si solas no son suficientes para hacer el diagnóstico de la enfermedad¹. En este sentido, un estudio observacional clásico de Wunderink y cols⁶⁸ mostró que ningún hallazgo radiológico encontrado, en los pacientes bajo VM, se correlacionó definitivamente con una neumonía tras el análisis de la autopsias de estos pacientes, en el que solo se confirmó la NAV en el 43% de los casos con sospecha radiológica de la misma. Las atelectasias lobares o subsegmentarias, el SDRA, la hemorragia alveolar así como el infarto pulmonar podían confundirse con una neumonía.

El resto de signos y síntomas clínicos (fiebre, leucocitosis, deterioro del intercambio gaseoso o de la mecánica respiratoria, secreciones purulentas, etc...) también tienen un valor predictivo limitado en el diagnóstico de NAV ^{1, 61, 64}, por su falta de especificidad.

Por ello, para establecer el diagnóstico clínico de NAV debe existir la combinación de varios de los anteriores signos y síntomas. Así, si empleamos una aproximación clínica, el diagnóstico de NAV se define como: la presencia de un infiltrado radiológico nuevo o progresivo junto con dos de las siguientes características clínicas: fiebre superior a 38°C, leucocitosis o leucopenia y secreciones traqueales purulentas. Estos criterios clásicos fueron propuestos por Johanson y cols ⁶⁹ y comparados con estudios histológicos postmortem de biopsias pulmonares por Fábregas y cols ⁷⁰, presentando esta combinación una sensibilidad del 69% y una especificidad del 75 % (precisión del 72%). Un aumento o descenso en el número de criterios clínicos podría incrementar o reducir la sensibilidad, pero a costa de la especificidad. Pese a esta baja precisión, estos criterios fueron adoptados y recomendados en las guías de práctica clínica ¹. La estrategia de diagnóstico clínico busca la administración de un tratamiento empírico de forma precoz en aquellos pacientes en que se sospeche NAV, ya que el retraso en el inicio del tratamiento se asocia a mayor morbi-mortalidad ^{1, 10-13, 64}. Su principal limitación es que puede conducir a un uso excesivo de antibióticos al diagnosticar de neumonía a pacientes que no la sufren.

En un intento por mejorar la especificidad del diagnóstico clínico, Pugin y cols desarrollaron el "Clinical Pulmonary Infection Score" (CPIS) ⁷¹. Se trata de una escala de puntuación ampliamente empleada en la práctica clínica en la UCIs que combina hallazgos clínicos, radiológicos, fisiológicos y microbiológicos. Las variables analizadas son seis: temperatura corporal, recuento leucocitario, volumen y características de las secreciones traqueales, oxigenación, infiltrados radiológicos y tinción de Gram con cultivos semicuantitativos del aspirado traqueal, dando una puntuación final cuyo valor numérico oscila entre 0 y 12 puntos. Cuando el valor del CPIS es igual o superior a 6 puntos, presenta una buena correlación con la presencia de NAV

definida por cultivos cuantitativos. La descripción original mostró una sensibilidad del 93% y especificidad del 100%, aunque con las limitaciones propias de ser un estudio con 28 pacientes en el que se comparó con un método diagnóstico considerado un patrón de referencia para el diagnóstico de NAV. Estudios posteriores han intentado validar esta escala de puntuación sin lograr resultados definitivos ^{70, 72- 73}. Se ha de tener en cuenta además, que algunos de los ítems evaluados (como la progresión de infiltrados, o la calidad de las secreciones traqueales) pueden ser interpretables y dar lugar a variabilidad entre observadores, principalmente en pacientes con SDRA o lesión pulmonar aguda previa. Teniendo en cuenta sus limitaciones, el CPIS es una escala sencilla para ser realizada a la cabecera del enfermo, que puede ser de utilidad en el diagnóstico de NAV aunque debe utilizarse con precaución y realizarse más estudios para validarlo ^{1, 61, 64, 74}. Cuando el CPIS se aplica de forma prospectiva, se puede evaluar la progresión de los infiltrados pulmonares, mientras que la tinción de Gram con cultivos semicuantitativos del aspirado traqueal pueden demorarse en ocasiones hasta 48 - 72 horas. En este sentido se ha propuesto el empleo de CPIS modificado (ANEXO 1), con una puntuación entre 0 y 12 puntos ^{72, 75- 76}. Esto permite que el “score” pueda realizarse diariamente para orientar el manejo clínico de la NAV. El uso de valores de CPIS modificado mayores de 6 puntos, pueden mejorar la capacidad diagnóstica.

El empleo de una aproximación clínica, enfatiza el tratamiento precoz. Implica usar todos los datos clínicos disponibles, incluyendo el CPIS, para decidir si un paciente sufre una NAV y en base a ello iniciar un tratamiento empírico de forma precoz, a fin de evitar retrasos que condicionan un peor pronóstico ^{1, 64}. Previamente al inicio del tratamiento antibiótico empírico, que se ajustará a los protocolos y microbiota de cada UCI, deben tomarse muestras respiratorias para cultivo microbiológico. Debe mantenerse dicho tratamiento, que se modificará o suspenderá posteriormente en función de la evolución clínica y los hallazgos microbiológicos. Las decisiones a este respecto pueden hacerse habitualmente a partir del tercer día. Si la clínica se ha resuelto y los cultivos son negativos (sin que se haya modificado la cobertura antibiótica inicial), se puede descartar razonablemente la presencia de NAV y si hay un diagnóstico alternativo tratar dicho proceso. Si hay mejoría clínica y los cultivos

son positivos podemos ajustar la duración y cobertura antibiótica según los aislamientos microbiológicos. Si a las 72 horas de tratamiento no hay mejoría clínica y los cultivos son negativos se deben descartar otros patógenos y/o focos de infección, así como la aparición de complicaciones, y si los cultivos son positivos adaptar además la cobertura antibiótica. Se ha de tener en cuenta que las modificaciones antibióticas hechas en las 72 horas previas a las toma de muestras para cultivo pueden alterar el resultado microbiológico y dar lugar a falsos negativos.

1.4.2. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO.

Ante las posibles limitaciones de un diagnóstico clínico que puede carecer de una especificidad adecuada y conducir a un exceso en el diagnóstico de NAV, muchos autores abogan por el empleo de una estrategia microbiológica. Una vez realizado el diagnóstico clínico, la recomendación es realizar una prueba de diagnóstico etiológico antes de iniciar o cambiar el tratamiento antibiótico, sin que esto comporte un retraso en el inicio de su administración. Aunque el cultivo negativo debe hacer cuestionar el diagnóstico de NAV, sobre todo si no ha habido introducción o cambio de antibiótico reciente, en un porcentaje no despreciable de pacientes con diagnóstico clínico de NAV no encontramos criterios microbiológicos que lo confirmen. Para el diagnóstico definitivo basado en una estrategia microbiológica, además de los criterios clínicos, se emplean cultivos cuantitativos de muestras respiratorias procedentes de la vía aérea inferior (aspirado traqueal -AT-, LBA o cepillado bronquial protegido (CBP)), con lo que además de definir la presencia de neumonía identificamos el patógeno causante. Sin embargo, el empleo de cultivos cuantitativos para definir el diagnóstico de NAV no está tampoco exento de problemas. No está claramente definido cual es el método diagnóstico de elección. En algunos casos pueden producirse falsos positivos como resultado de colonización de la vía aérea por VM prolongada. También pueden darse falsos negativos en algunos pacientes bajo cobertura antibiótica, que podría demorar el tratamiento correcto. El empleo de cultivos cuantitativos, en los que por debajo de una determinada concentración de microorganismos no hay infección, conceptualmente no está libre de controversia, ya que la infección es un proceso dinámico.

Disponemos de diversos métodos para la obtención de muestras respiratorias para cultivo bacteriológico, que pueden ser más o menos invasivos, ciegos o dirigidos, y con recuentos microbiológicos cualitativos o cuantitativos. La diversidad existente se explica por las limitaciones en sensibilidad y especificidad que tienen cada una de ellas^{65, 77-80}. Actualmente, en las UCIs europeas los métodos realizados con fibrobroncoscopio no son mayoritarios, empleándose en el 23% de los pacientes con NAV, mientras que en el 62% se realiza AT. La existencia de una vía aérea artificial comporta que la esterilidad de la vía aérea inferior se pierde a las pocas horas; así, las muestras microbiológicas cualitativas, como el AT simple, casi siempre mostrará la existencia de microorganismos, sin que ello implique un papel patogénico en la NAV que presente el paciente en ese momento.

A continuación se describe el análisis microbiológico de las muestras y se detallan algunas de las características de los diferentes métodos diagnósticos empleados para el diagnóstico microbiológico de la NAV.

1.4.2.1. Análisis microscópico y microbiológico.

Las muestras obtenidas del tracto respiratorio inferior deben remitirse para el análisis microscópico, siendo el método más común la tinción de Gram, que permite poner en evidencia la presencia de leucocitos polimorfonucleares y otras células (linfocitos, células epiteliales, macrófagos) así como caracterizar la morfología bacteriana, lo que puede orientar al tipo de patógeno. La presencia de abundantes neutrófilos (en un porcentaje superior al 50% de todas las células nucleadas) sugiere la presencia de NAV. La tinción de Gram puede reducir el uso de tratamiento antibiótico inadecuado y mejorar la capacidad diagnóstica, además de formar parte de la escala CPIS^{1,71}.

Además de la tinción de Gram las muestras respiratorias deben ser procesadas para cultivo bacteriológico cuantitativo o no cuantitativo. El cultivo cuantitativo establece la cantidad de unidades formadoras de colonias por cada ml de muestra (ufc/ ml). La presencia de NAV se

apoya en crecimientos bacterianos por encima de un determinado umbral de ufc/ ml, diferente en cada tipo de muestra y que se revisan a continuación. Crecimientos inferiores a los umbrales diagnósticos definidos sugieren colonización ¹. Además, tan sólo se deben tener en cuenta aquellas bacterias que se consideran patógenos pulmonares (no así por ejemplo *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococci* y gran parte de los bacilos gram positivos, salvo *Nocardia* y *Actinomyces*). En los cultivos no cuantitativos el número de falsos positivos suele ser superior y conducir a mayor número de tratamientos inapropiados.

En general, al emplear cultivos microbiológicos cuantitativos, la situación clínica debe prevalecer sobre un valor numérico preestablecido. Deben interpretarse teniendo en cuenta factores que pueden influir como son: la antibioterapia previa, los días de VM, el microorganismo aislado así como el estado inmune y los antecedentes del paciente. Además tampoco existe un patrón de referencia definitivo sobre el que validar estos puntos de corte más allá de resultados de biopsia, en la mayoría de casos post-mortem ^{79, 81}.

Uno de los aspectos de capital importancia en la interpretación de los estudios microbiológicos es la cobertura antibiótica que reciben los pacientes en el momento de la toma de la muestra. La recogida de secreciones respiratorias con fines diagnósticos en pacientes con sospecha de NAV tras el inicio de una nueva pauta antibiótica puede dar lugar a falsos negativos, de forma que todas las técnicas microbiológicas pierden valor cuando los pacientes se encuentran bajo cobertura antibiótica durante al menos 24h, o bien han sufrido modificaciones en la pauta antibióticas en los días previos ^{1, 61, 65, 82}, por lo que lo deseable sería tomar las muestras antes de cualquier manipulación antibiótica, situación que no es siempre posible.

1.4.2.2. Métodos diagnósticos no invasivos.

Los métodos no invasivos son aquellos en los que la muestra para cultivo se obtiene sin el empleo del fibrobroncoscopio. Incluimos el AT y

el mini lavado broncoalveolar (m-LBA). Al no estar guiados por la visión directa de un fibrobroncoscopio se consideran técnicas a ciegas, no dirigidas. Son poco invasivas y baratas, pueden ser realizadas de forma sencilla sin comprometer el intercambio gaseoso durante el procedimiento. Sin embargo, no están exentas de errores a la hora de tomar la muestra, al no poder visualizar la vía aérea y seleccionar el área donde se quiere obtener, siendo especialmente problemático en el caso de las neumonías que afectan a lóbulos superiores y al pulmón izquierdo

65

El **AT**, es probablemente el método de diagnóstico microbiológico empleado con más frecuencia. Se trata de un procedimiento rápido y sencillo, sin apenas complicaciones y que requiere escaso entrenamiento para su realización ⁷⁹⁻⁸¹. Se lleva a cabo, introduciendo mediante técnica estéril, un catéter a través del TET, hasta encontrar resistencia al paso del mismo, momento en que se aplica succión. Las muestras así obtenidas no son distales, ya que en enfermos en VM el aspirado de secreciones se produce a 4-5 cm del extremo distal del TET, próximo a carina. Una vez obtenido el aspirado se pueden emplear dos tipos de tratamiento de la muestra que conllevan diferentes implicaciones en el diagnóstico de la NAV.

Análisis cualitativo del AT. Además de la tinción de Gram se realiza un cultivo semicuantitativo, en el que no se cuantifican el número de ufc por cada ml de muestra analizada. Se caracteriza por presentar una alta sensibilidad, hasta el 90%, pero con una inaceptable especificidad que fluctúa entre el 0 – 30%. Dada su alta sensibilidad se ha postulado que resultados negativos con esta técnica podrían ser empleados para descartar NAV, siempre y cuando no se hayan efectuado modificaciones en el tratamiento antibiótico en las últimas 72h. Sin embargo, en la mayoría de ocasiones en el cultivo se aíslan microorganismos no patógenos que forman parte de la flora, lo que le confiere bajo valor predictivo positivo. Por ello, las recomendaciones de las principales sociedades científicas no lo incluyen como herramienta

diagnóstica de NAV ^{1, 83}, pudiendo ser considerado su empleo ante la imposibilidad de recuentos cuantitativos.

Análisis cuantitativo del AT. Se trata de un elemento diagnóstico muy útil para disminuir el alto número de falsos positivos que presenta el AT cualitativo. Los puntos de corte empleados para interpretar un resultado positivo se han definido entre 10^5 y 10^6 ufc/ ml, siendo 10^5 ufc/ ml el punto de corte más habitualmente aceptado en los estudios. También hay variabilidad en la sensibilidad y especificidad publicadas, con cifras de sensibilidad entre el 38 y el 100% y de especificidad de hasta el 92% con valores comparables a los obtenidos con técnicas broncoscópicas ^{61, 62, 70, 71, 81}. Estos márgenes tan amplios se deben a los diferentes puntos de corte empleados, la antibioterapia previa, el tipo de población estudiada y el método de referencia con el que se comparan.

El **m-LBA** se trata de una técnica clásica para la obtención de muestras respiratorias bajas descrita por Rouby y cols ⁸⁴. Se realiza mediante la introducción, según técnica estéril, de un catéter de doble luz a través del TET hasta encontrar una resistencia, momento en que se infunde a través del catéter interno suero salino estéril y posteriormente se aspira parte del mismo. Se trata de una técnica sencilla y con pocos riesgos con la que obtener muestras respiratorias distales, que además permite realizar tomas seriadas. Con el cultivo cuantitativo de las muestras obtenidas por este método se han observado rendimientos similares a los descritos para el LBA clásico por vía broncoscópica, tomando un punto de corte para el diagnóstico de NAV de 10^4 ufc/ ml, con una sensibilidad entorno al 74-83% y una especificidad descrita hasta del 86% ^{61, 77, 78, 80, 84- 89}.

También se ha aplicado el cultivo cuantitativo de muestras obtenidas a través de un **catéter telescopado protegido** dirigido a ciegas. Se emplea un catéter bilumen que se introduce a través de TET, tras encontrar una resistencia, el catéter interno se avanza y se aspiran secreciones con una jeringa vacía. El punto de corte para el diagnóstico de NAV se considera de 10^3 ufc/ ml, que fue establecido en comparación

con métodos broncoscópicos y estudios postmortem con escaso número de pacientes ^{77, 86, 90}.

1.4.2.3. Métodos diagnósticos invasivos.

Son aquellos métodos en los que la muestra para cultivo se obtiene con la ayuda de un fibrobroncoscopio. Permiten acceder al tracto respiratorio inferior y obtener muestras evitando la contaminación traqueal. En general, los cultivos derivados de muestras broncoscópicas tienden a tener menor sensibilidad que los de muestras no broncoscópicas, aunque mayor especificidad.

El empleo de un fibrobroncoscopio aporta la ventaja de poder dirigir la toma de muestra en la zona deseada, evitando la contaminación de la vía aérea superior, que suele estar colonizada por patógenos. Sin embargo, también presenta desventajas, en primer lugar implica la necesidad de personal entrenado para su realización, lo que limita la generalización de su uso 24 horas día 365 días al año, cuando ya se ha comentado la necesidad de obtenerlos antes de modificar la pauta antibiótica, para evitar falsos negativos. En segundo lugar, aunque considerada como una práctica segura, la fibrobroncoscopia no es una técnica exenta de complicaciones (que aparecen hasta en un 5% de los casos), como hipoxemia, arritmias, broncoespasmo e incluso de forma esporádica hemorragia pulmonar o neumotórax, (sobre todo si se toman biopsias pulmonares) ^{79, 91}.

El **LBA** consiste en la instilación de suero salino estéril a través del canal de un broncoscopio flexible de fibra óptica que se enclava en el bronquio segmentario a analizar, aspirando a continuación el contenido proveniente de las zonas distales del bronquio. El umbral cuantitativo que define infección para este procedimiento se establece en 10^4 ufc/ ml. La sensibilidad y especificidad documentada en diversos estudios oscila, teniendo una sensibilidad entre el 45 y el 93%, con una media \pm desviación estándar de $73 \pm 18\%$ y la especificidad entre el 45 y el 100%, con una media \pm desviación estándar de $82 \pm 19\%$ ^{65, 88, 92}. Se ha

sugerido que un LBA con un recuento inferior al 50% de neutrófilos hace improbable una NAV ⁹³.

El **CBP** se realiza introduciendo un cepillo específico para recogida de muestras unos centímetros más allá del extremo distal del fibrobroncoscopio; de esta forma se evita la contaminación con secreciones que puedan ser arrastradas por el extremo distal del mismo. Se debe introducir el broncoscopio hasta la proximidad de un bronquio segmentario, avanzar el cepillo en el interior de la vía aérea y cepillar la pared de la misma y de nuevo retirarlo dentro de la funda. El umbral cuantitativo que define infección con este procedimiento se establece en 10^3 ufc/ ml. Chastre y Fagon analizaron los resultados de 18 estudios que evaluaron esta técnica diagnóstica en 795 pacientes, demostrando una buena precisión, con una sensibilidad del 89% (intervalo de confianza del 95%: 87 - 93%) y una especificidad del 94% (intervalo de confianza del 95%: 92 - 97%) ^{88, 94}.

Biopsia pulmonar. Los estudios histopatológicos del pulmón han sido considerados como el patrón de referencia en la mayoría de estudios que han evaluado el rendimiento de las diferentes técnicas diagnósticas para la NAV, generalmente en muestras obtenidas post-mortem ^{1, 62, 70, 81, 95}. Sin embargo, esta técnica, ha sido cuestionada por problemas de reproducibilidad, debido a la discordancia entre informes histopatológicos del mismo operador o entre diferentes observadores. En un estudio prospectivo, a 39 pacientes que murieron mientras se encontraban bajo VM, se les realizó una biopsia pulmonar; la histología fue revisada separadamente por cuatro patólogos quienes diagnosticaron NAV en el 18 al 38% de los casos ⁹⁶. Por esto, por las dificultades operativas de obtener muestras de tejido pulmonar mediante biopsia, por sus riesgos potenciales, por la falta de unos criterios histológicos estandarizados para definir NAV y por el hecho de que la neumonía pueda ser multifocal y con características heterogéneas, esta técnica no tiene cabida en el algoritmo diagnóstico de la NAV, salvo cuando se haga con fines de investigación ⁸⁰.

En general, los cultivos cuantitativos son la técnica diagnóstica más recomendable. Sin embargo, no se objetivan diferencias definitivas cuando se comparan AT, m-LBA, LBA, o CBP, fundamentalmente debido a amplios márgenes de sensibilidad/especificidad. La evidencia indica que la obtención de muestras por medios broncoscópicas no mejora el pronóstico de los pacientes a nivel de mortalidad, días de VM o estancia en UCI ^{1, 61, 79, 97, 98}. Por otra parte, algunos autores abogan porque el empleo de métodos broncoscópicas y cultivos cuantitativos evita la contaminación de las muestras, permite analizar las poblaciones celulares alveolares y presenta mayor especificidad, lo que podría permitir un uso más restrictivo y juicioso de los antibióticos ^{1, 99}. Sin embargo, las técnicas broncoscópicas son poco empleadas en las UCIs de nuestro país como revelan los informes de 2008 del Estudio Nacional de Vigilancia de la Infección Nosocomial en servicios de Medicina Intensiva Españoles (ENVIN), probablemente motivado por la necesidad de personal entrenado, así como por la posibilidad de obtener muestras mediante técnicas no invasivas con resultados similares ^{79, 100}.

En la **tabla 3** se muestran los diferentes métodos diagnósticos comentados, con los valores de corte en los cultivos cuantitativos diagnósticos de NAV y los valores estimados de sensibilidad y especificidad.

Tabla 3: Métodos microbiológicos diagnósticos de NAV.

Técnica	Lugar de toma de muestra	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
TÉCNICAS CIEGAS				
AT no cuantitativo	Secreciones traqueales	n.a.	60 – 100%	< 30 %
AT cuantitativo	Secreciones traqueales	10 ⁵ ufc/ ml	40 – 100%	70 – 92%
m-LBA	Bronquiolos y alveolos	10 ⁴ ufc/ ml	74 – 78%	70 – 86%
CTP	Bronquiolos	10 ³ ufc/ ml	78%	100%
TÉCNICAS BRONCOSCÓPICAS				
LBA	Bronquiolos y alveolos	10 ⁴ ufc/ ml	45 - 93%	45 - 100%
CBP	Bronquiolos	10 ³ ufc/ ml	87 – 93%	92 – 97%
AT: Aspirado Traqueal. CBP: Cepillado bronquial protegido; CTP: Catéter telescopado protegido. LBA: Lavado broncoalveolar; m-LBA: mini Lavado broncoalveolar; n.a: no aplicable; ufc: unidades formadoras de colonias				

1.4.2.4. Cultivos de vigilancia.

En la actualidad existe controversia sobre la utilidad de la obtención sistemática de cultivos de vigilancia del tracto respiratorio inferior, dos o más veces por semana, en pacientes que aún no han desarrollado NAV. El objetivo es doble, en primer lugar poder seleccionar pacientes en riesgo de neumonía, y también saber si cuando se produce la NAV, el microorganismo causante de la misma es uno de los presentes en los cultivos previos. Esto puede contribuir a mejorar el tratamiento antibiótico empírico sobre todo en el caso de patógenos multiresistentes. Como contrapartida, esta estrategia supone incrementar las cargas de trabajo de enfermería y microbiología, y pueden inducir a errores clínicos de interpretación ¹⁰¹. Aunque los datos son limitados y progresivamente va incrementándose la evidencia a favor de su empleo, los resultados no son aún concluyentes ⁵⁹. Los

estudios, en general, incluyen un número reducido de pacientes y tienen una metodología no uniforme en cuanto al tipo, número de muestras y objetivos. Aunque son mayoritarios los trabajos que analizan el AT, también se ha empleado el m-LBA con dichos fines ¹⁰²⁻¹⁰⁸. En cuanto a la frecuencia de toma de muestras de vigilancia, la cifra oscila entre 1, 2 ó 3 veces por semana o incluso a diario. En algunas series se consigue anticipar el diagnóstico hasta en el 83 - 85% de los casos empleando el AT lo que mejora un tratamiento empírico correcto ^{103, 104} y hasta en el 85% de las muestras de m-LBA tomadas 48 horas antes del inicio de la NAV ¹⁰⁶. Sin embargo, otros trabajos evidencian que el AT solo es capaz de predecir la etiología en el 33 al 60% de los casos, sobre todo en neumonías tardías ^{102, 105, 108}, considerándose incluso, en algunos casos, más seguro basar el tratamiento antibiótico en la estrategia clínica descrita en las guías de práctica clínica ¹ que en los cultivos de vigilancia. Por tanto, para evaluar la relación coste-eficacia de estos cultivos se precisan ensayos prospectivos aleatorizados que estudien la supervivencia de los pacientes y que incluyan en la valoración la identidad de los patógenos y no solo la adecuación terapéutica ¹⁰¹. El uso de cultivos de vigilancia parece más útil para identificar patógenos multiresistentes en las NAV tardías, que conllevan mayor mortalidad ⁵⁹. Por el momento, específicamente, las recomendaciones actuales europeas señalan que no se deben emplear los resultados de estos cultivos para administrar un tratamiento antimicrobiano empírico de menor espectro a los pacientes con sospecha de NAV ⁶⁷. Un reciente metaanálisis que analiza 14 estudios, concluye que la obtención de cultivos de vigilancia puede ser de utilidad cuando estos se realizan al menos 2 veces por semana y cuando se aíslan gérmenes multirresistentes ¹⁰⁹.

1.4.3. MARCADORES BIOLÓGICOS.

Cuando los microorganismos alcanzan e invaden el tejido pulmonar se liberan productos y antígenos microbianos que generan una respuesta inmune por parte del huésped en la que se implican el sistema inmune celular y el humoral, liberando múltiples mediadores pro y antiinflamatorios endógenos a

nivel local y posteriormente a sistémico. Los marcadores biológicos o biomarcadores, son moléculas que participan en dicha respuesta, que pueden ser detectadas en diferentes muestras biológicas como sangre, LBA o condensado de aire exhalado (CAE). Su determinación, junto a los datos clínicos y microbiológicos, pueden ayudarnos a mejorar la capacidad y rapidez diagnóstica de la NAV e incluso a poder distinguir entre causas bacterianas o no bacterianas de la misma.

Un biomarcador de NAV debe presentar niveles bajos o ausentes cuando la infección no está presente y elevarse en caso de infección. De forma ideal, sus resultados deben obtenerse de forma precoz, antes que los resultados de los cultivos cuantitativos, que pueden demorarse 48 – 72 horas¹¹⁰. Aunque para muchos de estos mediadores analizados en diferentes muestras no existen puntos de corte definidos para el diagnóstico de NAV, varios han sido investigados con fines diagnósticos logrando buenos resultados^{61, 110- 111}. De entre las diferentes sustancias posibles, las moléculas más estudiadas han sido la procalcitonina (PCT), la proteína C-reactiva (PCR) y las citoquinas.

1.4.3.1. Procalcitonina (PCT).

La PCT es un péptido que contiene 116 residuos de aminoácidos, precursor de la calcitonina que contiene 32. Carece de actividad hormonal y su función exacta se desconoce, siendo en circunstancias normales apenas detectable en sangre. Esta pro-hormona se libera rápidamente y tiene una vida media larga. Es secretada principalmente por células del sistema neuroendocrino a nivel pulmonar (K-cells), intestinal o células tiroideas, y también por varias células parenquimatosas incluyendo el hígado, el riñón, o por monocitos¹¹⁰⁻¹¹². La PCT se libera en respuesta a infecciones bacterianas y en menor grado fúngicas, así como ante ciertos mediadores pro-inflamatorios del huésped secretados en estas infecciones (IL-1 β , IL-6 y TNF- α). Su expresión no aumenta ante situaciones de inflamación de naturaleza no infecciosa, (enfermedad inflamatoria intestinal, arteritis de la temporal o lupus eritematoso entre otras), ni ante infecciones víricas. En las

infecciones víricas su producción incluso se atenúa, al verse inhibida en presencia de interferon (IFN)- γ , cuyos niveles se incrementan en múltiples infecciones pulmonares víricas. Por tanto habrá un incremento de sus niveles sanguíneos ante infecciones bacterianas, aunque no en procesos virales o reacciones inflamatorias ¹¹¹⁻¹¹³, teniendo un origen fundamentalmente parenquimatoso ya que las reservas intracelulares son escasas. Tras la exposición a endotoxinas bacterianas la PCT puede ser detectada en sangre a partir de las tres horas, alcanzando un valor máximo a las seis horas y puede mantenerse elevada más allá de 24. Hay dos ensayos para medir PCT, ambos basados en mediciones inmunométricas y cuyos resultados pueden estar disponibles en menos de una hora con un volumen escaso de muestra (20-50 microl). El ensayo más antiguo es el LUMI-test, (Brahms Diagnostic, Alemania), que tiene un límite inferior de detección de 0,3-0,5 ng/mL. Por su parte, el método Kryptor (Brahms Diagnostics, Alemania), más reciente, es más sensible, emplea anticuerpos policlonales anti-calcitonina y presenta un límite inferior de detección de 0,06 ng/mL ¹¹²⁻¹¹³.

1.4.3.1.1. Determinación de PCT en sangre.

La medición de la PCT en sangre, como marcador de infección bacteriana ha sido ampliamente estudiada, y se ha propuesto para guiar el tratamiento antibiótico en diferentes situaciones clínicas y poblaciones de pacientes. Su uso rutinario puede limitar el empleo y duración del tratamiento antibiótico sin afectar el pronóstico de los pacientes, lo que reduce los costes y el riesgo de aparición de resistencias bacterianas ¹¹⁴⁻¹¹⁶. Por otra parte, su determinación en sangre para el reconocimiento y diagnóstico de NAV ha sido estudiada en varios trabajos con series limitadas de pacientes ^{111, 117-121}. Sin embargo los resultados de los estudios no son homogéneos al emplear diferentes puntos de corte para el valor en sangre de PCT, por lo que se han descrito sensibilidades que oscilan entre el 41 y el 100%, con una especificidad también muy variable. Esta disparidad en los resultados probablemente venga determinado por una falta de uniformidad metodológica, respecto de la

población de estudio, grupos control o criterios diagnósticos de NAV. En la **tabla 4** se resumen los resultados de los trabajos más relevantes.

Tabla 4. Aplicación de la Procalcitonina en sangre en el diagnóstico de NAV

Referencia	Pacientes n	NAV n (%)	Punto corte (ng/ml)	Sensibilidad	Especificidad
Duffloy y cols. 2002 (117)	96	44 (45)	≥ 3,9	41%	100%
Oppert y cols. 2002 (118)	28	12 (42)	1	100%	75%
Gibot y cols. 2004 (119)	148	46 (31)	nd	nd	nd
Luyt y cols. 2008 (120)	73	32 (43)	≥ 0,5	72%	24%
Ramírez et y cols. 2008 (121)	44	9 (20)	≥ 2,99	78%	97%

1.4.3.1.2. Determinación de PCT en muestras respiratorias. LBA y CAE.

Al sintetizarse la PCT por monocitos y macrófagos durante un período corto de tiempo en el foco bacteriano en las fases iniciales de la NAV, podría ser útil su determinación en LBA, m-LBA o CAE para conseguir un diagnóstico precoz de la NAV.

Varios trabajos han medido los niveles de PCT en el líquido de LBA, obtenido tanto por métodos broncoscópicos como ciegos y empleando tanto técnicas convencionales de detección (LUMI test, Brahms) como de alta sensibilidad en el seno de la NAV y en otras

patologías, como la contusión pulmonar o el SDRA. Los trabajos realizados hasta el momento no han logrado resultados significativos sobre la utilidad de la determinación de la PCT en LBA, que no aporta valor adicional sobre otros métodos diagnósticos descritos ^{117, 121-125}.

Recientemente se ha desarrollado la técnica de recogida del CAE a volumen corriente, obtenido al congelar el aire exhalado. Se trata de una fuente prometedora de biomarcadores relacionados con la función pulmonar. El CAE se obtiene a partir del aire que se exhala en la espiración, permitiéndonos acceder al sistema respiratorio de forma incruenta. Durante la espiración, las moléculas y la evaporación del agua difunden como gases procedentes de la interfase que cubre la vía respiratoria (alvéolos, bronquios y vía aérea superior). En el caso de los pacientes sometidos a VM, estos gases pueden ser recogidos a través de la rama espiratoria del ventilador, y además se evita la “contaminación” por sustancias que pueden generarse a nivel de orofaringe y cavidad oral. Esta técnica, teóricamente tiene la ventaja de permitirnos estudiar un amplio abanico de sustancias que incluyen mediadores de la inflamación, estrés oxidativo e incluso marcadores tumorales. Los principales componentes del CAE además del vapor de agua condensado, son moléculas volátiles (como óxido nítrico, monóxido de carbono e hidrocarburos), y moléculas no volátiles (como urea, leucotrienos, prostanoïdes y citoquinas) ^{126, 127}. Esta técnica, se ha empleado en multitud de pacientes y se han encontrado diferencias en los marcadores de inflamación y estrés oxidativo en varias patologías, incluso entre sujetos fumadores y no fumadores. Otros trabajos han dado la voz de alarma sobre la gran variabilidad de resultados obtenidos tanto en sujetos sanos como en las diferentes patologías ^{126- 128}. También se ha empleado en sujetos sometidos a VM, sin embargo, ningún estudio hasta la fecha ha empleado esta técnica en el diagnóstico de NAV ni describe los niveles de PCT en este fluido ^{126, 129- 131}.

1.4.3.2. Proteína C reactiva (PCR).

La PCR ha sido el primer reactante de fase aguda descrito y se trata de un marcador muy sensible de inflamación y daño tisular. Es una proteína de la familia de las pentraxinas de síntesis casi exclusivamente hepática, por parte de los hepatocitos y las células de Kupffer aunque los monocitos y linfocitos son capaces de sintetizarla en menor medida ¹³². Se trata de un marcador inespecífico de inflamación que se sintetiza de forma rápida en respuesta al estímulo de citoquinas. Ante un proceso inflamatorio, los monocitos y macrófagos, así como otras células, producen citoquinas (con un papel destacado de la IL-6), que inducen la producción de reactantes de fase aguda en el hígado ^{111, 132- 134}. No está definido qué nivel de PCR es realmente normal o inocuo, e incluso pueden variar con la edad, raza o sexo. Sin embargo, en individuos sanos, los niveles de PCR son típicamente bajos, inferiores a 1 mg/L, considerándose valores superiores como signo de inflamación ¹¹⁰. Se pueden detectar niveles discretamente elevados ante múltiples situaciones y patologías como la obesidad, HTA, diabetes mellitus, tabaquismo, fatiga crónica, tratamiento hormonal sustitutivo y otras ^{132, 135}. El empleo de la PCR ultrasensible (PCR-us) consiste en la determinación de la PCR por métodos de alta sensibilidad, a fin de detectar niveles menores de esta proteína y por tanto niveles bajos de inflamación.

Los niveles de PCR se incrementan bruscamente ante una infección, bacteriana o no, así como tras traumatismos, cirugía, quemaduras o cáncer ^{110, 133}. Ante una agresión inflamatoria, a las 4 - 6 horas se inicia la producción de PCR, cuya concentración se dobla cada 8 horas, llegando a un pico a las 36 - 50 horas. Niveles marcadamente elevados suelen asociarse a infección, fundamentalmente bacteriana y en menor grado vírica. La concentración de PCR se mantiene mientras el estímulo inflamatorio este presente, y sus niveles dependerán de la intensidad del mismo y en la capacidad de síntesis. Con la eliminación del estímulo inflamatorio la concentración sanguínea de PCR cae rápidamente, presentando una vida media de 19 horas ^{110, 132-134}. En

humanos presenta varias funciones, aunque algunas de ellas son desconocidas, siendo su principal papel biológico su habilidad para reconocer bacterias y células humanas dañadas y mediar en su eliminación a través de la activación de la vía de complemento y la fagocitosis.

La determinación de la PCR es un método rápido, barato y poco invasivo de determinar la presencia de inflamación. Se trata de un marcador muy sensible, aunque inespecífico, que se ha mostrado útil en el diagnóstico y seguimiento de infecciones bacterianas y su utilidad en el paciente crítico es un tema de actualidad. La aplicación diagnóstica de la PCR a la infección bacteriana ha sido comparada con la PCT y parece que se prefiere a esta última ^{80, 111, 136}. En el campo específico de la NAV, existe un número limitado de estudios que han examinado la PCR en sangre o muestras respiratorias, sin lograr resultados concordantes.

1.4.3.2.1. Determinación de PCR en sangre.

La medición de la PCR en sangre, como marcador de infección bacteriana y con valor pronóstico, se ha analizado en varios estudios. Pova y cols estudiaron el valor diagnóstico de la PCR en 48 pacientes con NAV frente a 36 pacientes sin infección, y para un punto de corte de 9,6 mg/dl encontraron una sensibilidad del 87% y una especificidad del 86,1% ¹³⁷. En otro estudio, Ramírez y cols. también obtuvieron resultados positivos en el seguimiento de 44 pacientes ventilados, y con un punto de corte de 19,69 mg/dl lograron una buena especificidad del 91% pero con una sensibilidad muy baja (56%), con un elevado número de falsos positivos ¹²¹. Sin embargo, otros autores no lograron encontrar diferencias de las cifras séricas de PCR entre pacientes con o sin NAV, aunque sin dar valores de sensibilidad ni especificidad y con algunas limitaciones metodológicas ¹¹⁸. En la **tabla 5** se resumen los resultados de los trabajos más relevantes.

Tabla 5. Aplicación de la Proteína C-reactiva en sangre en el diagnóstico de NAV

Referencia	Pacientes (N)	NAV N (%)	Punto corte (mg/dl)	Sensibilidad	Especificidad
Oppert y cols. 2002 ⁽¹¹⁸⁾	28	12 (42)	nd	nd	nd
Povoa y cols. 2008 ⁽¹³⁷⁾	84	48 (57)	> 9,6	87%	86,1%
Ramírez y cols. 2008 ⁽¹²¹⁾	44	9 (20)	≥ 19,69	56%	91%

1.4.3.2.2. Determinación de PCR en muestras respiratorias. LBA y CAE.

Al igual que se planteaba en el caso de la PCT, la determinación de la PCR a nivel alveolar, tanto por medios habituales como ultrasensibles, puede ser de utilidad en el estudio de la inflamación pulmonar a nivel local. El análisis de los niveles de PCR o PCR-us a partir de muestras respiratorias de líquido de LBA o m-LBA se ha llevado a cabo en un número reducido de trabajos. Ha sido útil para valorar la inflamación de la vía aérea ante una infección o rechazo agudo en el seno del trasplante pulmonar ^{138, 139}. Su papel diagnóstico y pronóstico en la evaluación de la neumonía, tanto comunitaria como en la NAV, no ha sido evaluado ampliamente y por el momento no ha mostrado su utilidad ^{121, 123, 140}. La determinación de múltiples biomarcadores en el CAE ha sido ampliamente estudiada ^{126, 127, 141, 142}, aunque hay muy poca experiencia con la PCR, en concreto la PCR-us ha mostrado utilidad como marcador inflamatorio en el asma inestable ¹⁴³, pero sus niveles y evolución en la neumonía no se conocen.

1.4.3.3. Citoquinas.

Las citoquinas son glicoproteínas de bajo peso molecular que forman parte de la respuesta celular a la inflamación, ampliamente

segregadas a modo de cascada por múltiples células, tanto del sistema inmune (como monocitos, macrófagos, linfocitos y otras células presentadoras de antígenos), como por otras células no inmunes del tipo de los fibroblastos y células endoteliales. Estas glicoproteínas ejercen su función mediante la unión a receptores celulares específicos como “hormonas-like”, tanto a nivel local como sistémico. Permiten la comunicación entre las células inmunitarias y juegan un papel crucial en el inicio, perpetuación y regulación de la respuesta inmune. La mayor parte de estas moléculas tienen efectos pro y antiinflamatorios, dependiendo su acción de la presencia de otros moduladores, concentración de receptores y el lugar en que actúen ^{111, 144}. Estos mediadores, liberados por las diferentes células, pueden ejercer su acción a nivel local o bien pasar a la circulación y diseminarse a nivel sistémico. El pulmón es un órgano sensible a la producción local de citoquinas, con una posible diseminación de la respuesta inflamatoria y a su vez una respuesta inflamatoria a nivel sistémico puede actuar a nivel pulmonar y dar lugar a una cascada inflamatoria.

Están involucradas en la patogénesis de diversas patologías, algunas de las cuales afectan al paciente crítico, siendo las infecciones respiratorias un estímulo para el desarrollo de una respuesta inflamatoria local y sistémica ^{29, 140, 144-147}. En condiciones normales, los macrófagos alveolares son las primeras células encargadas de responder ante una agresión bacteriana que alcanza la vía respiratoria inferior. Sin embargo, si el inóculo bacteriano es muy grande o virulento, los macrófagos reclutarán polimorfomucleares a nivel alveolar, procedentes del compartimento vascular. Las citoquinas, como el TNF- α , IL-1 β , IL-6 o la IL-8, secretadas por los macrófagos son capaces de atraer polimorfomucleares que participen en la fagocitosis y destruyan a los patógenos. La producción excesiva de citoquinas puede tener efectos deletéreos si genera una respuesta inflamatoria sistémica exagerada que puede condicionar un fallo orgánico. Otras citoquinas, como la IL-10 pueden atenuar esta respuesta de los mecanismos inflamatorios. En el caso de la neumonía, parece que en humanos la respuesta inflamatoria puede estar compartimentalizada para la mayoría de citoquinas, salvo

para la IL-6 que es un marcador de inflamación y que estimula la síntesis de PCR ¹⁴⁶. Schütte y cols midieron los niveles de citoquinas en pacientes con SDRA, neumonía grave y edema pulmonar cardiogénico y encontraron niveles más altos de IL-8, IL-6 y TNF- α en el LAB y sangre de los pacientes con SDRA y neumonía respecto a los que presentaban edema ²⁹. Algunas de estas citoquinas pueden además tener valor pronóstico y relacionarse con la carga bacteriana. En este sentido, algunos trabajos realizados en pacientes con neumonía comunitaria que requieren VM, han detectado niveles superiores de TNF- α en LBA así como de TNF- α , IL-8, IL-6 e IL-10 en sangre en aquellos pacientes que tenían mayor supervivencia ¹⁴⁰ y que los niveles de IL-1 β en el LBA son superiores en pacientes con mayor carga bacteriana ¹⁴⁷. La determinación de citoquinas en muestras biológicas en el seno de la NAV se ha realizado en diversos trabajos con disparidad de resultados ^{119, 148-153}.

1.4.3.3.1. Determinación de citoquinas en sangre.

El análisis de citoquinas sistémicas en el caso de la NAV no ha aportado resultados concluyentes. En los estudios de Bauer ¹⁴⁸ y Bonten ¹⁴⁹ la determinación de las mismas (TNF- α , IL-1 β e IL-6 en el trabajo de Bauer e IL-6, IL-8 en el de Bonten) no resultó útil para diagnosticar NAV. Bonten analizó además la evolución de IL-8 e IL-6 en la sangre de los pacientes que desarrollaron NAV comparado con un grupo control, sin NAV, sin encontrar diferencias entre ambos grupos en los niveles séricos de IL-6 o IL-8. Sin embargo, en un subgrupo de 10 pacientes que desarrollaron una NAV complicada con sepsis severa o shock séptico sus valores aumentaban claramente respecto a los controles, considerándose como marcadores de gravedad y expresión sistémica. Millo y cols tampoco detectaron diferencias sanguíneas en los niveles de TNF- α , IL-1 α , IL-1 β e IL-6 en los pacientes sometidos a VM que desarrollaron NAV, mientras que si las hubo en el LBA ¹⁵⁰. En contraposición, tanto Montón y cols. ¹⁵¹ como Ramírez y cols. ¹⁵² evidenciaron que los niveles en sangre de TNF- α e IL-6 eran capaces de identificar a los pacientes con NAV. En el clásico trabajo de Montón,

que mide citoquinas en sangre y LBA de pacientes ventilados que desarrollan NAV, éstos presentan niveles en sangre más elevados de TNF- α e IL-6 que los controles y además se relacionan con las escalas de fallo de órganos ¹⁵¹. Ramírez y cols. encontraron que los niveles séricos de IL-6 en el momento del ingreso pueden predecir el desarrollo de una NAV, y que ante la sospecha clínica de la patología, aquellos pacientes con NAV confirmada presentaban cifras de IL-6 en sangre superiores ¹⁵².

1.4.3.3.2. Determinación de citoquinas en muestras respiratorias. LBA y CAE.

La determinación de citoquinas en el fluido alveolar obtenido mediante LBA muestra las mismas discordancias que en sangre. Se han detectado niveles superiores de citoquinas en LBA de pacientes con NAV respecto a controles. En un estudio de Gibot, los valores de TNF- α e IL-1 β fueron superiores en el caso de los pacientes con neumonía comunitaria o NAV que en aquellos sin neumonía, aunque con gran superposición de los valores, lo que impidió lograr un valor discriminatorio ¹¹⁹. Millo y cols. también detectaron niveles superiores de TNF- α e IL-1 β en el LBA de los pacientes que presentaron NAV y vieron que conforme se desarrollaba la misma la relación entre los niveles de estas citoquinas en LBA respecto a sangre aumentaba, sugiriendo que la producción de citoquinas está compartimentalizada en el pulmón ¹⁵⁰. En otra experiencia, Determann y cols. no encontraron un valor de TNF- α , IL-1 β o IL-6 en el LBA para el diagnóstico de NAV, con baja sensibilidad y especificidad en los puntos de corte estudiados ¹⁵³. Tampoco en los estudios de Montón ¹⁵¹ y Ramírez ¹⁵² se vieron diferencias, aunque en el primer trabajo la IL-6 alveolar mostró una tendencia a ser de mayor entidad en el grupo con NAV. En la **tabla 6** se resumen los resultados de estos trabajos.

Tabla 6. Aplicación de las citoquinas en sangre y LBA en el diagnóstico de NAV

Referencia	Citoquinas medidas	Neumonía (N)	Control (N)	Niveles mayores en Suero	Niveles mayores en LBA
Gibot y cols. 2004 ⁽¹¹⁹⁾	TNF- α , IL-1 β	84	64	-	TNF- α , IL-1 β
Bauer y cols. 1997 ⁽¹⁴⁸⁾	TNF- α , IL-1 β , IL-6	20	10	No diferencia	-
Bonten y cols. 1997 ⁽¹⁴⁹⁾	IL-6, IL-8	42	42	No diferencia	-
Millo y cols. 2004 ⁽¹⁵⁰⁾	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10	9	19	No diferencia	TNF- α , IL-1 β
Montón y cols. 1999 ⁽¹⁵¹⁾	TNF- α , IL-1 β , IL-6	20	10	TNF- α IL-6	No diferencia
Ramírez et al, 2009 ⁽¹⁵²⁾	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10	9	35	IL-6	No diferencia

Respecto a la determinación de biomarcadores en el CAE, se ha mostrado de utilidad en múltiples patologías incluyendo la EPOC, la lesión pulmonar aguda, SDRA y neumonía, así como en situaciones en las que no hay daño pulmonar en pacientes sometidos a VM por patología extrapulmonar (como el daño cerebral o cirugía cardiotorácica electiva) ¹³¹. En concreto, la determinación de citoquinas en CAE se ha realizado en pacientes en pacientes ventilados con SDRA o lesión pulmonar aguda ^{129, 154- 155}, por descompensación de una EPOC ¹⁵⁶ e incluso en pacientes sin patología pulmonar sometidos a VM por otras razones ¹⁵⁷. Sin embargo no encontramos estudios específicos en la NAV.

2. HIPÓTESIS

La neumonía asociada a la ventilación mecánica es una complicación frecuente en los pacientes sometidos a ventilación mecánica y cuyo pronóstico se ensombrece por un diagnóstico y tratamiento tardío. El desarrollo de la misma es un proceso dinámico y dado que debe existir una respuesta inflamatoria precoz ante la infección, inicialmente compartimentalizada a nivel pulmonar, nuestra hipótesis de partida consiste en que la determinación de mediadores inflamatorios liberados durante dicha reacción a nivel pulmonar debería facilitar el diagnóstico de neumonía asociada al ventilador.

La monitorización periódica de la microbiota respiratoria distal, junto con la determinación seriada de reactantes de fase aguda (PCR, PCR-us y PCT), en muestras obtenidas mediante minilavado broncoalveolar, en los pacientes sometidos a ventilación mecánica durante al menos 48 horas, puede anticipar y mejorar el diagnóstico de la neumonía asociada a ventilación mecánica. Así mismo, la monitorización de la evolución de estos mismos biomarcadores en sangre y condensado de aire exhalado junto a citoquinas (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10) en minilavado broncoalveolar, sangre y condensado de aire exhalado podría contribuir a mejorar la capacidad y precocidad diagnóstica.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRIMARIO.

Evaluar si la monitorización microbiológica del minilavado broncoalveolar, acompañada de la determinación seriada de reactantes de fase aguda (PCR, PCR-us y PCT) mejora y acorta el plazo diagnóstico de la neumonía asociada a ventilación mecánica en sus fases iniciales.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.

Valorar la evolución de los niveles de citoquinas (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10) en minilavado broncoalveolar, y de la PCR, PCR-us y PCT y citoquinas en sangre y condensado de aire exhalado en los pacientes que desarrollan neumonía asociada a ventilación mecánica.

Analizar si los niveles de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas en minilavado broncoalveolar, condensado de aire exhalado y sangre, difieren en el momento del diagnóstico en los pacientes que desarrollan neumonía asociada a ventilación mecánica, frente a aquellos pacientes que no lo hacen.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDIO Y PACIENTES INCLUIDOS.

Se trata de un estudio observacional que analiza de forma prospectiva una cohorte de 50 pacientes, incluidos de forma consecutiva tras su ingreso en la UCI del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Reclutados durante un periodo de tiempo de 24 meses a partir de Septiembre de 2007. Se incluyeron todos los pacientes sometidos a VM durante más de 48 horas tras su ingreso en la UCI. Se consideró condición indispensable la obtención de un consentimiento informado por parte del paciente o de sus familiares.

Fueron criterios de exclusión del estudio:

- Edad inferior a 18 años.
- Mujeres embarazadas.
- Infección de origen respiratorio al ingreso o durante los dos primeros días tras IOT y VM.
- Broncoaspiración al inicio de la VM.
- Infección por el virus del VIH.
- Pacientes que estuvieran incluidos en un ensayo clínico.
- Negativa a la firma del consentimiento informado de la participación en el estudio.

4.1.1. TAMAÑO MUESTRAL.

Dado que no hay datos previos o valores de referencia para las variables analizadas en el m-LBA para la patología estudiada, se analizaron los datos de todos los pacientes objeto de estudio que durante el periodo de inclusión cumplieron los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, cuyos familiares dieron su consentimiento para la incorporación de datos clínicos necesarios en el estudio, evitando la inclusión de datos personales que permitieran su identificación.

4.2. DIAGNÓSTICO DE LA NAV.

El diagnóstico de NAV se realizó en base a criterios clínicos, de acuerdo con la estrategia sugerida por las guías de práctica clínica ¹, donde la presencia de NAV se define por la existencia de nuevos infiltrados radiológicos junto a la evidencia de su origen infeccioso, en los pacientes que mostraron los siguientes criterios: 1) permanecer bajo VM al menos 48 horas; 2) desarrollar infiltrados pulmonares nuevos o progresivos, junto con un deterioro del intercambio gaseoso y 3) al menos dos de las siguientes características clínicas: incremento de las secreciones purulentas respiratorias, fiebre superior a 38°C y leucocitosis o leucopenia, sin otro foco causante de los mismos. Según los criterios propuestos por Johanson y cols. ⁶⁹ y comparados con estudios postmortem ⁷⁰.

El diagnóstico etiológico definitivo, se completó al recibir confirmación microbiológica con recuentos significativos en muestras respiratorias. La ausencia de cultivos con recuentos positivos significativos, no excluye definitivamente el diagnóstico de NAV en pacientes con alta sospecha clínica, que cumplieron todos los criterios anteriores, que se encontraban bajo tratamiento antibiótico y para los que no hay diagnóstico alternativo que justifique las alteraciones respiratorias descritas (tales como: neumonitis aspirativa, embolia e infarto pulmonar, edema pulmonar, síndrome de distrés respiratorio agudo, contusión pulmonar, etc...).

4.3. PROTOCOLO DE ESTUDIO.

Durante el periodo de reclutamiento, se incluyeron todos los pacientes de forma consecutiva. Sus datos se recogieron de forma prospectiva, siendo incluidos en una base de datos SPSS constituida a tal efecto, donde se consignaron. Los datos de los pacientes fueron codificados e incluidos en la base de datos por el doctorando que fue el único conocedor de la identidad de los casos incluidos.

En el momento de la inclusión en el estudio se recogieron las siguientes variables.

4.3.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y GENERALES EN UCI.

- Número de Identificación.
- Edad.
- Sexo.
- Fecha de ingreso en UCI.
- Fecha de inicio de la VM.
- Diagnóstico al ingreso en UCI.

4.3.2. ESCALAS.

4.3.2.1. Índice de comorbilidad de Charlson.

El índice de Charlson ^{158, 159} es un sistema de evaluación de la esperanza de vida, según las comorbilidades del paciente. Es el índice de comorbilidad estudiado más extensamente. Engloba 19 situaciones médicas ponderadas con 1, 2, 3 ó 6 puntos dependiendo del riesgo de fallecer asociado a esta condición. Después se suman los diversos valores y se obtiene una puntuación entre 0 - 37 puntos, que predice la mortalidad. Las situaciones evaluadas incluyen: infarto de miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad vascular periférica, enfermedad cerebrovascular, demencia, enfermedad pulmonar crónica, enfermedad del tejido conectivo, ulcus péptico, hepatopatía leve (sin hipertensión

portal, incluye hepatitis crónica), diabetes mellitus sin evidencia de afectación de órganos diana, hemiplejía, enfermedad renal moderada-severa, diabetes mellitus con afectación de órganos dianas, tumor sin metástasis, leucemia (aguda o crónica), linfoma, enfermedad hepática moderada o grave, tumor sólido con metástasis, SIDA (ANEXO 2).

El objetivo de los autores fue desarrollar una taxonomía para situaciones comórbidas que, de manera aislada o en combinación, podrían alterar el riesgo a corto plazo de mortalidad en pacientes participantes en estudios longitudinales. Se desarrolló empíricamente a partir de una cohorte de 604 pacientes ingresados en un servicio médico durante un mes, obteniéndose un índice del que posteriormente se comprobó su capacidad de predecir la mortalidad en una cohorte de 685 pacientes tratados de cáncer de mama. En una revisión sobre la validez de diversos índices de comorbilidad, el Índice de Charlson se correlacionaba significativamente con la mortalidad, discapacidad, reingresos y estancia media, e indicaba buena validez predictiva ¹⁶⁰. Los autores concluyeron que era un método adecuado para valorar la comorbilidad a nivel clínico. Las limitaciones básicas incluyen la preservación de datos de las 19 enfermedades valoradas, la exclusión de enfermedades hematológicas no malignas, como la anemia, y pobres valores predictivos para períodos menores a 6 meses. Por otra parte, no es útil para cuantificar el nivel funcional de los pacientes o la calidad de vida.

4.3.2.2. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II).

El APACHE en su versión II es un índice de gravedad independiente de la enfermedad, desarrollado en 1985 ¹⁶¹. Se corresponde con el acrónimo en inglés de “Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II”. Esta escala, es un sistema de clasificación de gravedad con valoración pronóstica de mortalidad. Se trata de un sistema de puntuación ampliamente aceptado y empleado en las UCIs. Es aplicado dentro de las 24 horas de admisión del paciente a una UCI. Se compone de tres apartados: i) el Acute Physiologic Score (APS) que incluye 12 variables fisiológicas, ii) edad y iii) presencia de patología crónica. Se recogen las variables clínicas y analíticas más alteradas del paciente en las primeras

24 horas de ingreso. Posee un valor entero de 0 a 71, de modo que a mayor puntuación, mayor es la gravedad y el riesgo de muerte (ANEXO 3). Con posterioridad se desarrollaron nuevas versiones (APACHE III y IV), con mejor calibración y discriminación, pero al ser productos registrados y con coste, su uso no está tan extendido.

4.3.2.3. Sequential Organ Failure Assessment (SOFA).

El sistema SOFA es un sistema de medición de fallo orgánico múltiple. Fue creado en una reunión de consenso de la European Society of Intensive Care Medicine en 1994 y revisado en 1996 ¹⁶². Se trata de uno de los sistemas más empleados para evaluar la presencia del síndrome de disfunción multiorgánica. Su objetivo es desarrollar un índice objetivo e independiente, con variables sencillas de recoger y disponibles en cualquier servicio de Medicina Intensiva. El SOFA evalúa seis sistemas orgánicos (respiratorio, cardiovascular, hematológico, renal, hepático y sistema nervioso central), recopilando los peores valores de las variables consensuadas. Cada órgano se clasifica de 0 (normal) a 4 (el más anormal) puntos, proporcionando una puntuación diaria de 0 a 24 puntos (ANEXO 4). A partir de 3 puntos, para cada órgano, se considera que existe fallo del mismo. Se trata de un “score” simple, fiable, continuo y de fácil obtención. Tiene además validez pronóstica, tanto su puntuación inicial como su monitorización temporal, ya que un aumento evolutivo de la puntuación SOFA implica mayor riesgo de mortalidad. Este índice puede verse modificado por el tratamiento administrado, por tanto, no es completamente independiente de la terapéutica (por ejemplo modificación de las puntuaciones en función del uso de drogas vasoactivas o transfusión de derivados hematológicos).

4.3.2.4. CPIS

La CPIS (de su nombre anglosajón “Clinical Pulmonary Infection Score”), elaborada por Pugin y cols ⁷¹ es una escala aditiva, que emplea seis tipos de items, de cuyo valor se desprende la probabilidad de que un cuadro clínico aparecido tras el ingreso en un hospital, se trate de una neumonía nosocomial. En esta escala se evalúan: temperatura, recuento de leucocitos, presencia de secreciones traqueales, alteraciones del intercambio gaseoso y aparición o progresión de infiltrados radiológicos. Ha sido aplicado a las posibles neumonías nosocomiales, y parece tener gran correlación con las NAV cuando su valor es superior a 6. Hay trabajos que la emplean como un instrumento para valorar la evolución y resolución de la NAV, y por tanto, como un predictor pronóstico. Por otra parte, y a pesar de que prácticamente todos sus ítems son objetivos, existen trabajos en los que se ha encontrado una elevada variabilidad inter-observador y su sensibilidad y especificidad se cifran en torno al 60%. Al hacer un seguimiento prospectivo se incluyen la evolución de los infiltrados radiológicos tal y como se describe en el CPIS modificado ⁷⁵ (ANEXO 1) y no se tuvieron en cuenta los resultados microbiológicos, ya que el resultado de los mismos se demoran al menos 48 horas.

4.3.3. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS.

4.3.3.1. Determinación Basal.

Se realiza a las 48 horas del inicio de la VM.

- Recogida de datos clínicos y analíticos acompañantes. Incluyen:
 - Datos clínicos: tensión arterial, temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria.
 - Datos analíticos: 1) Bioquímica: glucosa, urea, creatinina, transaminasas, bilirrubina, proteínas totales y albúmina; 2) Hemograma; 3) Hemostasia incluyendo fibrinógeno y dímero D; 4) Gasometría: pH, PaO₂, PaCO₂, Bicarbonato, SaO₂, PaO₂/FiO₂, ácido láctico.
 - Radiografía de tórax. Presencia de infiltrados pulmonares.

- Recogida de líquido de m-LBA para:
 - Análisis microbiológico cuantitativo de las muestras (punto de corte 10^4 ufc/ml para diagnóstico de NAV).
 - Determinación de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10).
- Recogida de CAE para la determinación de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10).
- Extracción de sangre para la determinación de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10).

4.3.3.2. Seguimiento.

Se registraron:

- Días totales de VM.
- Aparición de NAV y día de la misma.
- Días de estancia en UCI.
- *Éxitus* y fecha del mismo.

Tras la determinación basal realizada a las 48h del inicio de la VM, al 4º día de VM y posteriormente cada 72 horas se tomaron muestras seriadas de seguimiento, hasta los 30 días de evolución o la aparición de cualquiera de los siguientes eventos: desarrollo de NAV, desconexión de la VM o *éxitus* del paciente.

- Recogida de datos clínicos y analíticos acompañantes.
 - Datos clínicos: tensión arterial, temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria.
 - Datos analíticos: 1) Bioquímica: Glucosa, urea, creatinina, transaminasas, bilirrubina, proteínas totales y albúmina; 2) Hemograma; 3) Hemostasia incluyendo fibrinógeno y dímero D; 4) Gasometría: pH, PaO₂, PaCO₂, Bicarbonato, SaO₂, PaO₂/FiO₂, ácido láctico.

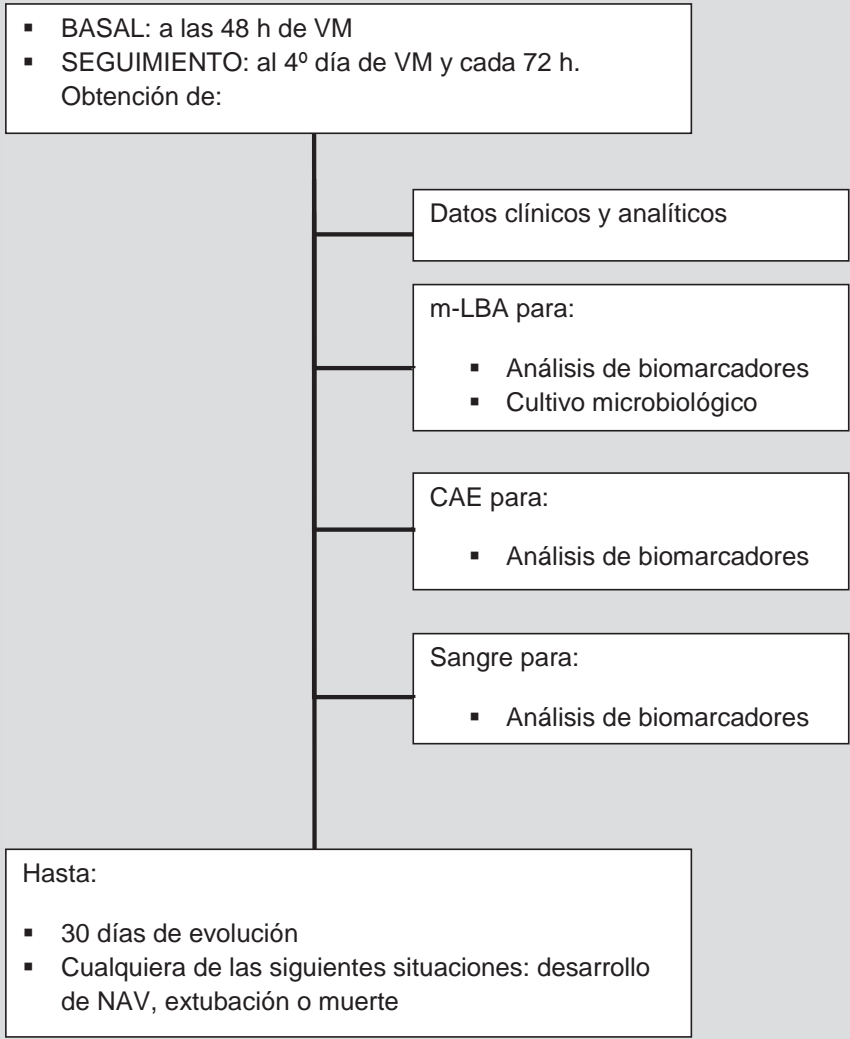
- Radiografía de Tórax. Presencia o progresión de infiltrados pulmonares.

- Recogida de líquido de m-LBA para:
 - Análisis microbiológico cuantitativo de las muestras (punto de corte 10^4 ufc/ml para diagnóstico de NAV).
 - Determinación de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10).

- Recogida de CAE para la determinación de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10).

- Extracción de sangre para la determinación de PCR, PCR-us, PCT y citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10).

Figura 2: Protocolo de recogida de datos.



CAE: Condensado de aire exhalado; m-LBA: minilavado broncoalveolar; NAV: neumonía asociada a ventilación mecánica; VM: ventilación mecánica.

4.3.4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

4.3.4.1. m-LBA

La técnica de m-LBA, también denominado lavado broncoalveolar ciego o lavado broncoalveolar no broncoscópico, se trata de una técnica no invasora. Los términos descriptivos ciego y no broncoscópico se refieren al posicionamiento del catéter, manualmente guiado a través del TET sin emplear la guía óptica que ofrece un broncoscopio. El procedimiento se puede realizar en pocos minutos, con el paciente conectado al respirador y manteniendo la VM así como la presión positiva al final de la espiración durante el procedimiento. Para su realización se emplearon catéteres telescopados protegidos Combicath™, Plastimed de 60 cm de longitud y un diámetro externo de 2,7 mm. Se trata de un doble catéter que consta de un catéter externo de polietileno, obturado por un tapón de polietilenglicol, y otro interno de teflón.

PROCEDIMIENTO. Se realiza a la cabecera del paciente monitorizado, mediante técnica estéril, previa preparación de campo quirúrgico.

- Se aumenta la FiO₂ del respirador al 100% de oxígeno.
- Se monitoriza al paciente por si se produce desaturación durante el procedimiento, a fin de concluir el mismo de inmediato si presenta SaO₂ < 90%.
- Abrir el paquete del catéter LBA con método estéril y desplegarlo sobre un campo estéril. Uso de guantes y mascarilla estériles.
- Llenar una jeringa con 20 mL de solución salina estéril.
- Se introduce el catéter a través del orificio del codo de conexión del TET a las tubuladuras del respirador.
- Se hace progresar el primer catéter estéril, obstruido distalmente por un tapón de polietilenglicol, a través del TET hasta llegar a un bronquiolo distal y notar resistencia.

- Se inyectan 10 ml de aire con una jeringa para expulsar el tapón, que se disuelve en el medio.
- A continuación, el catéter interno, de mayor longitud y menor diámetro, se introduce por el primero, de modo que el extremo distal de este sobrepasa en unos 2 cm el extremo distal del primer catéter.
- Se inyectan 20 ml de suero fisiológico estéril en el segundo catéter y se reaspira la mayor cantidad del líquido con una jeringa estéril.
- Se repite este último paso hasta instilar un total de tres alícuotas de 20 ml de suero fisiológico estéril.
- El líquido aspirado se separa en dos fracciones, una para estudio microbiológico y la otra es ultracongelada en nitrógeno líquido y almacenada a -80° para medición de biomarcadores.

4.3.4.2. CAE

El CAE se obtiene a través de un condensador termoeléctrico del vapor exhalado durante la respiración. Las partículas en suspensión presentes en el gas exhalado contienen moléculas hidrosolubles de bajo peso molecular, procedentes de la superficie bronco-alveolar del pulmón. Algunas de estas sustancias son mediadores bioquímicos susceptibles de actuar como marcadores diagnósticos de diversos procesos broncopulmonares. La condensación y colección continua de las partículas de aerosol presentes en el gas exhalado es el objeto de este dispositivo. Permite coleccionar el condensado exhalado tanto en sujetos que se hallan respirando espontáneamente, como en sujetos sometidos a VM. Se colecciona el aerosol exhalado mediante el enfriamiento de un tubo (condensador) en íntimo contacto con una pieza metálica, que actúa a la vez de sujeción del tubo de condensación y como transmisora de una bomba termoeléctrica, utilizando una fuente de energía eléctrica. Se puede intercalar el dispositivo de condensación en el tubo espiratorio de cualquier equipo de VM, permitiendo así la recogida continua de condensado en pacientes ventilados y en circuito cerrado, evitando la

posibilidad de contaminación salivar o por otro material procedente de las vías aéreas superiores.

La obtención del CAE se realizó previamente al m-LBA, a fin de que los resultados no se vean interferidos por el suero fisiológico instilado para la obtención del mismo, a la cabecera del paciente encontrándose este monitorizado y sin necesidad de modificar los parámetros ventilatorios. Se empleó un condensador Anacon, comercializado por BIOSTEC (Valencia, España), durante 30 minutos. El condensado se almacena en tubo seco y frío. La cantidad obtenida depende de los parámetros ventilatorios del paciente. Tras finalizar el procedimiento de recolección, se separaron las muestras de CAE obtenido en alícuotas de 1 mL, previa centrifugación para poder optimizar el volumen recuperado. Las alícuotas mencionadas se ultracongelaron en nitrógeno líquido y almacenaron en un congelador a -80°.

4.3.4.3. Sangre

La sangre completa de cada paciente se extrajo según práctica habitual, a través de catéter arterial o mediante venopunción, por parte del personal de enfermería en dos tubos de gelosa. Uno de los tubos se remitió al Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario de Valencia para determinación de PCR y PCT y el otro a la Unidad Central de Investigación en Medicina de la Fundación de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valencia, siendo extraído el plasma por centrifugación, transferido a criotubos y almacenado a -70° hasta su procesado para la determinación del resto de biomarcadores: PCR-us y citoquinas.

4.3.5. PROCESADO DE LAS MUESTRAS.

El estudio de patrón inflamatorio en m-LBA, CAE y sangre (PCR-us y citoquinas) se realizó merced a la colaboración con la Unidad Central de Investigación en Medicina de la Fundación de Investigación del Hospital

Clínico Universitario de Valencia. La determinación de la PCR y PCT se realizó en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario de Valencia. El análisis microbiológico en el Laboratorio de Microbiología de Hospital Clínico Universitario de Valencia.

La determinación de PCR se realizó mediante ELISA tipo sándwich colorimétrico (part number DCRP00, R&D Systems, Minneapolis USA), expresando los resultados en mg/L. En sangre, sus valores de referencia son inferiores a 5 mg/dl. No hay valores de referencia para CAE o m-LBA. La PCR-us se determina por ELISA tipo sándwich colorimétrico (USCRP00, R&D Systems, Minneapolis USA). Se determinaron TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10 mediante ELISA tipo sándwich colorimétrico (numero de catálogo PTA00D, PLB00C, D600B, D800C y DIL100C respectivamente, R&D Systems, Minneapolis USA), expresando los resultados en pg/ml. La determinación de la PCT se realizó mediante un procedimiento inmunoluminométrico LUMI-test, (Brahms Diagnostic, Alemania), expresando los resultados en ng/mL.

4.3.6. ANALISIS MICROBIOLÓGICO.

Las muestras para análisis microbiológico se remitieron al laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valencia, donde se procesaron según cultivo habitual. Se consideró un recuento significativo cuando se alcanzaron cifras $\geq 10^4$ ufc/ml en m-LBA.

4.4. ANÁLISIS DE DATOS:

Se ha realizado un análisis descriptivo de todas las variables, las cualitativas mediante frecuencias absolutas y relativas, mientras que las variables cuantitativas se han representado a través de la mediana y rango intercuartílico al no haber seguido la distribución gaussiana. Para estudiar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en variables cuantitativas se utilizó el test U de Mann-Whitney o H de Kruskal-Wallis, según haya correspondido. En variables cualitativas se utilizaron el test Chi-Cuadrado de Pearson o test exacto de Fisher para tablas (2x2) y el test razón de verosimilitud para tablas (mXn). Para la asociación de datos apareados en variables cuantitativas, se ha usado el test Wilcoxon. En variables cualitativas se utilizaron el test de Mc-Nemar para tablas (2X2) o el test de los signos para tablas (mXn). Las estimaciones se realizaron con un nivel de confianza del 95%, se utilizó el paquete estadístico SPSS V17.0.

A fin de tratar de determinar si en alguno de los biomarcadores estudiados puede establecerse un punto de corte que sirva para diagnosticar la NAV, ha sido construida la curva de ROC (Receiver Operating Characteristics) con aquellos marcadores que en el análisis bivalente han resultado significativos. Mediante la estimación del área bajo la curva se ha cuantificado el índice de precisión global de la prueba diagnóstica, cuyo valor está comprendido entre 0,5 (azar) y 1 (perfecta discriminación). Clasifica la exactitud de la prueba del siguiente modo:

- Área bajo la curva entre 0,5 y 0,7; exactitud de la prueba baja
- Área bajo la curva entre 0,7 y 0,9; exactitud de la prueba media-alta
- Área bajo la curva superior a 0,9; exactitud de la prueba alta

Adicionalmente, se han estimado los siguientes parámetros:

- Sensibilidad: probabilidad de obtener resultado positivo cuando el individuo presenta la enfermedad. Capacidad para detectar la enfermedad cuando está presente.
- Especificidad: probabilidad de obtener resultado negativo cuando el individuo no presenta la enfermedad. Capacidad para descartar la enfermedad cuando no está presente.

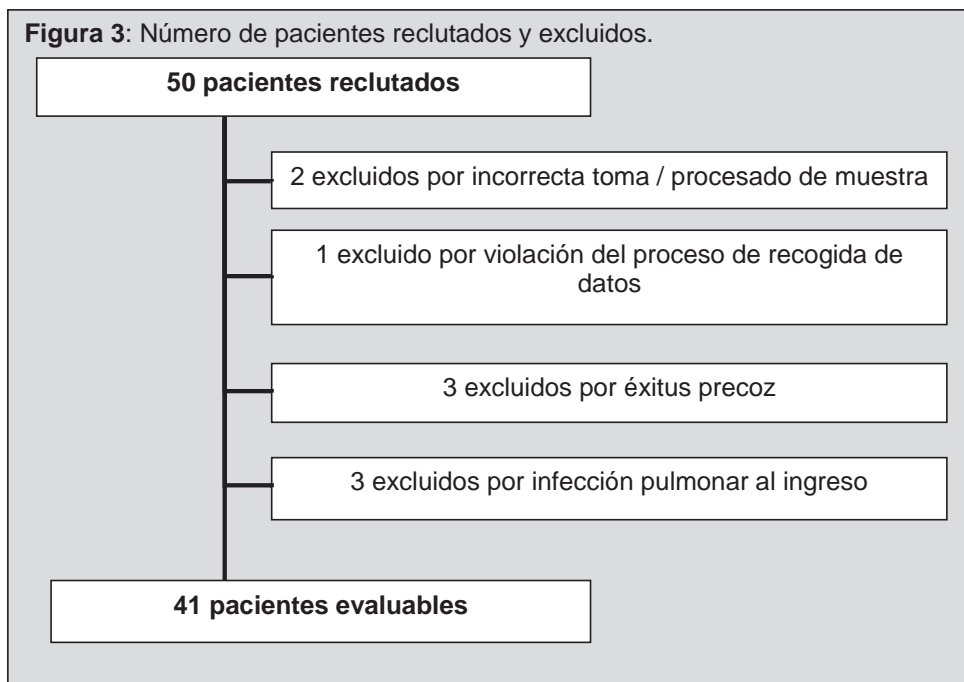
- Valor predictivo positivo (VPP): probabilidad condicional de que los sujetos con resultado positivo tenga realmente la enfermedad.
- Valor predictivo negativo (VPP): probabilidad condicional de que los sujetos con resultado negativo no tengan realmente la enfermedad.

4.5. ASPECTOS MÉDICO-LEGALES.

El estudio se realizó de acuerdo con los requerimientos expresados en la declaración de Helsinki y siguiendo las recomendaciones de buena práctica clínica de la CEE (documento 111/3976/88, Julio de 1990), diseñadas para garantizar los derechos de los participantes en investigaciones médicas. Se solicitó consentimiento informado a todos los pacientes o sus familiares antes de ser incluidos en el estudio, pudiendo retirarse del mismo en el momento en que quisieran. Los resultados obtenidos fueron codificados y se incorporaron a una base de datos personal por el investigador principal de forma consecutiva, de forma que el doctorando fue el único conocedor de la identidad de los mismos. Fueron tratados de forma confidencial conforme e a la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales 15/1999, teniendo acceso a ellos solo las personas autorizadas. Los investigadores, así como el resto del personal médico y de enfermería velaron por la seguridad del paciente durante el estudio. Los resultados obtenidos, no se emplearon específicamente para tomar decisiones clínicas o de tratamiento, que en todo momento quedaron a criterio del equipo médico responsable del paciente y no del investigador.

5. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio, fueron reclutados 50 pacientes. En el análisis final de datos se excluyeron 9 por diversos motivos. Las causas de exclusión fueron: 2 por incorrecta toma/ procesado de muestras, 1 por violación del protocolo de recogida de datos, 3 por éxitus a las pocas horas de la toma de la primera muestra, y el resto (3 pacientes) al evidenciarse la existencia de infección pulmonar en el momento de su ingreso. El análisis estadístico se llevó a cabo con los 41 pacientes evaluables, no afectados de broncoaspiración en el momento del ingreso en UCI.



A los 41 pacientes finalmente evaluados se les tomaron un total de 131 grupos de muestras, que incluyen según el protocolo de estudio: m-LBA para cultivo microbiológico así como m-LBA, CAE y sangre para análisis de los 8 biomarcadores estudiados (PCR, PCR-us, PCT y citoquinas). Esto implica el análisis de 131 cultivos de líquido de m-LBA y la determinación de 3144 biomarcadores.

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

El examen estadístico basal, se presenta tanto para la muestra total como segmentado en función al desarrollo de NAV. El 26,8% (n=11) de los pacientes estudiados desarrollaron NAV y el 73,2% (n=30) restante no.

Para el global de los pacientes se estimó una mediana [P₂₅₋₇₅] de edad de 60 años [51 - 70]. Los enfermos que no desarrollaron NAV, registraron una mediana [P₂₅₋₇₅] de edad de 59 años [49 - 67], significativamente inferior a la de los pacientes que sí presentaron la patología objeto de estudio cuya mediana [P₂₅₋₇₅] de edad fue de 70 años [58 - 78], (p< 0,05). El 48,8% (n=20) de los pacientes estudiados fueron mujeres y el 51,2% (n=21) hombres. La proporción de hombres es inferior en la sub-población de pacientes que sufrieron NAV con un 36,4% de los casos, frente al 56,7% de los que no desarrollaron la NAV, diferencia que no resultó significativa (p=0,3).

El diagnóstico más frecuente en el momento del ingreso en UCI fue la patología neurológica en 18 casos (43,9%), seguido de sepsis en 8 pacientes (19,5%), cardiopatía en 4 enfermos (9,8%), descompensación de una EPOC en 3 (7%) y en los 8 casos restantes (19,5%), otras patologías.

La mediana [P₂₅₋₇₅] del Índice de comorbilidad de Charlson de los pacientes fue de 2 puntos [0 - 4], significativamente superior en aquellos que posteriormente desarrollaron NAV con 3 puntos [1 - 5], frente a los que no lo hicieron cuya mediana [P₂₅₋₇₅] fue de 1 punto [0 - 3], (p = 0,02). Respecto a las escalas de gravedad, la mediana [P₂₅₋₇₅] del APACHE II de los pacientes fue de 23 puntos [19 - 29], no observándose diferencias significativas entre los pacientes que luego sufrieron NAV con 26 puntos [22 - 31] respecto de aquellos que no lo hicieron con 20 puntos [17 - 29] (p=0,16). La mediana [P₂₅₋₇₅] de la puntuación SOFA en el momento del ingreso en UCI fue de 9 puntos [6 - 12], con un valor de 10 puntos [9 - 14] en los pacientes que tuvieron NAV, puntuación superior a la registrada por los restantes: 7,5 puntos [6 - 12], aunque no llega a alcanzar significancia estadística (p=0,06). Tampoco se observaron diferencias en la puntuación CPIS en el momento del ingreso en UCI entre los pacientes que desarrollan NAV, mediana [P₂₅₋₇₅] de 3 puntos [2 -

4] y los que no lo hicieron cuya mediana [P₂₅₋₇₅] de puntuación de la escala CPIS fue de 4 puntos [3 - 5], (p=0,25).

En la **tabla 7**, se recogen las características basales de los pacientes y las diferencias entre aquellos que desarrollaron NAV y los que no lo hicieron.

Tabla 7: Características basales de los pacientes

	TOTAL N = 41	NAV N = 11	No NAV N = 30	p
Edad (años). Mediana [P ₂₅₋₇₅]	60 [51 - 70]	70 [58 - 78]	59 [49 - 67]	< 0,05
Sexo				
Hombres (%)	51,2%	36,4%	56,7%	0,30
Mujeres (%)	48,8%	63,6%	43,3%	
Diagnóstico al ingreso en UCI				
Patología Neurológica	43,9%	18,2%	53,3%	
Sepsis	19,5%	18,2%	20%	
Cardiopatía	9,8%	9,1%	10%	
EPOC	7,3%	27,3%	0%	
Otros	19,5%	27,3%	16,7%	
Índice CHARLSON. Mediana [P ₂₅₋₇₅]	2 [0 - 4]	3 [1 - 5]	1 [0 - 3]	< 0,05
APACHE II. Mediana [P ₂₅₋₇₅]	23 [19 - 29]	26 [22 - 31]	20 [17 - 29]	0,16
SOFA. Mediana [P ₂₅₋₇₅]	9 [6 - 12]	10 [9 - 14]	7,5 [6 - 12]	0,06
CPIS. Mediana [P ₂₅₋₇₅]	4 [2 - 5]	3 [2 - 4]	4 [3 - 5]	0,25

Respecto a los datos clínicos y analíticos, en la **tabla 8** se muestran los valores de los signos vitales y datos analíticos en el momento de inclusión en el estudio, en el total de la muestra de 41 pacientes y por subgrupos en función del desarrollo o no de NAV. Es destacable que los pacientes que con posterioridad desarrollaron NAV mostraron valores basales inferiores de tensión arterial sistólica y peor oxigenación en el momento de su inclusión que los que no presentaron NAV en su evolución, expresada como relación entre la presión parcial de oxígeno en la gasometría y la fracción inspiratoria de oxígeno administrada con la VM (relación PaO₂/ FiO₂).

Tabla 8: Signos vitales y datos analíticos basales

	TOTAL (N = 41)	NAV (N = 11)	No NAV (N = 30)	p
Temperatura (°C)	36,5 [35,5 – 37,2]	36,5 [36,2 – 36,6]	36,5 [35,5 – 7,4]	0,60
TAS (mmHg)	127 [110 – 144]	116 [104 – 130]	134 [114 – 150]	< 0,05
TAD (mmHg)	59 [55 – 65]	58 [50 – 65]	60 [55 – 68]	0,33
Frecuencia cardiaca (lpm)	80 [62 – 104]	78 [65 – 107]	80 [60 – 104]	1
Frecuencia respiratoria (rpm)	17 [16 – 22]	19 [15 – 22]	17 [16 – 23]	0,76
Hemoglobina (g/dl)	10,9 [9,5 – 12]	10,6 [9,5 – 12]	11 [9,5 – 12,3]	0,80
Leucocitos ($\times 10^9$ /L)	12 [9,2 – 16,1]	10,1 [7,5 – 12,2]	12 [10,8 – 16,6]	0,34
Plaquetas ($\times 10^9$ /L)	188 [107 – 221]	135 [57 – 223]	189 [115 – 221]	0,48
Tiempo protrombina (segundos)	13 [12 – 14]	13 [12 – 14]	13 [12 – 14]	0,80
Fibrinógeno (g/L)	4,6 [3,5 – 5,7]	4,8 [3,5 – 5,9]	4,5 [3 – 5,7]	0,78
Dímero D (mcg/ml)	531 [187 – 1206]	392 [287 – 1758]	589 [186 – 1060]	0,81
Glucosa (mg/dl)	145 [123 – 170]	148 [115 – 171]	145 [123 – 170]	0,71
Creatinina (mg/dl)	0,8 [0,6 – 2]	0,8 [0,6 – 2,1]	0,8 [0,5 – 2]	0,75
Albúmina (mg/dl)	2,9 [2,5 – 3,1]	2,8 [3,3 – 2,9]	2,9 [2,5 – 3,4]	0,31
GOT (UI/L)	29 [14 – 63]	36,5 [13 – 76]	29 [20 – 55]	0,89
GPT (UI/L)	24 [16 – 58]	20 [14 – 37]	25 [21 – 58]	0,22
PaO ₂ /FiO ₂	220 [154 – 294]	120 [85 – 190]	238 [186 – 302]	< 0,01
pH	7,39 [7,34 – 7,44]	7,38 [7,32 – 7,44]	7,39 [7,34 – 7,43]	0,94
Ácido láctico (mmol/L)	1,7 [1,4 – 2]	1,8 [1,7 – 2,5]	1,6 [1,3 – 1,9]	0,10

GOT: Aspartato aminotransferasa; GPT: Alanina Aminotransferasa; lpm: latidos por minuto; PaO₂/FiO₂: relación entre la presión en sangre arterial de oxígeno y la fracción de oxígeno en el aire inspirado; rpm: respiraciones por minuto. TAD: Tensión arterial diastólica. TAS: Tensión arterial sistólica. UI: unidades internacionales.

Todos los valores expresados como Mediana [P₂₅₋₇₅].

5.2. NIVELES BASALES DE BIOMARCADORES.

A continuación se describen los niveles de los diferentes biomarcadores analizados (PCT, PCR, PCR-us y citoquinas) en el momento basal, a las 48 horas de inicio de la VM, para las diferentes muestras de estudio: m-LBA, sangre y CAE. Los datos se presentan tanto para el grupo total de los pacientes analizados, como para los subgrupos que desarrollaron NAV frente a los que no lo hicieron.

5.2.1. NIVELES BASALES DE PCR, PCR-us Y PCT.

Respecto a los valores de los reactantes de fase aguda: PCR, PCR-us y PCT en las tres muestras analizadas (m-LBA, CAE y sangre), los niveles de PCR fueron superiores a nivel sistémico respecto de las muestras respiratorias obtenidas mediante m-LBA. Lo mismo ocurre con la PCT en sangre frente a los niveles en m-LBA y CAE. No ocurrió así en con la PCR-us, que en el momento de inclusión de los pacientes en el estudio muestra valores superiores en m-LBA, con una mediana [P₂₅₋₇₅] de 212 ng/ml [97,5 - 358] con respecto a sangre, 63 ng/ml [39 - 125]. Tanto la PCR como la PCR-us fueron indetectables en CAE. Por otra parte, en la determinación basal, no encontramos diferencias en los niveles de los reactantes de fase aguda entre los pacientes que desarrollaron con posterioridad NAV respecto a los que no lo hicieron. En la **tabla 9**, se describen los niveles basales de estos biomarcadores en las diferentes muestras, así como la diferencia entre aquellos pacientes que desarrollaran la enfermedad y los que no.

De forma gráfica, en las **figuras 4 y 5**, se representan estos valores, agrupados en la **figura 4** por cada una de las muestras estudiadas y en la **figura 5** para cada uno de los biomarcadores descritos (PCR, PCR-us y PCT).

Tabla 9: Niveles basales de PCR, PCR-us y PCT en las diferentes muestras.

		TOTAL	NAV	NO NAV	P
		N = 41	N = 11	N = 30	
m-LBA	PCR (mg/l)	0,20 [0 - 0,40]	0,35 [0,10 -2,60]	0,20 [0 - 0,30]	0,13
	PCR-us (ng/ml)	212 [97,5 -358]	214 [117 -281]	212 [87,5 - 436]	0,82
	PCT (ng/ml)	0,20 [0,19 -0,30]	0,21 [0,18 - 0,42]	0,20 [0,19 -0,28]	0,63
SANGRE	PCR (mg/l)	100 [54 - 158]	118 [8 - 289]	94 [55 - 126]	0,45
	PCR-us (ng/ml)	63 [39 - 125]	89,6 [63 -160,2]	54,1 [34 - 99]	0,08
	PCT (ng/ml)	0,52 [0,20 -1,42]	0,55 [0,20 - 7,70]	0,51 [0,19 -0,91]	0,44
CAE	PCR (mg/l)	n.d.	n.d.	n.d.	
	PCR-us (ng/ml)	n.d.	n.d.	n.d.	
	PCT (ng/ml)	0,20 [0,19 -0,23]	0,20 [0,13 - 0,24]	0,20 [0,20 -0,21]	0,59

n.d.: no detectable. Valores expresados como mediana [P₂₅₋₇₅]

Figura 4: Niveles basales de PCR, PCR-us y PCT agrupados según la muestra analizada

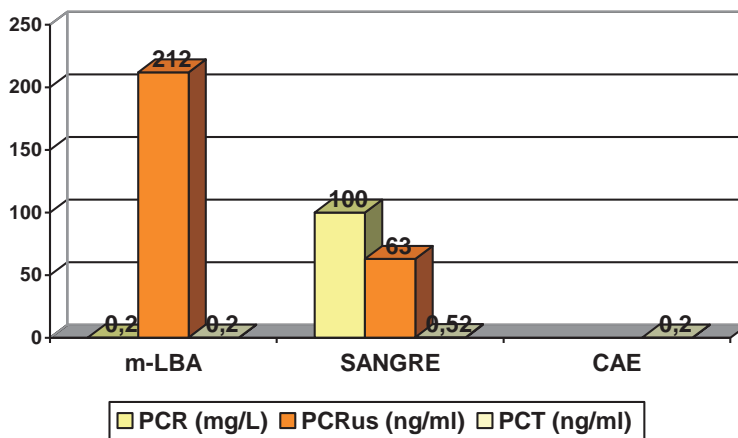
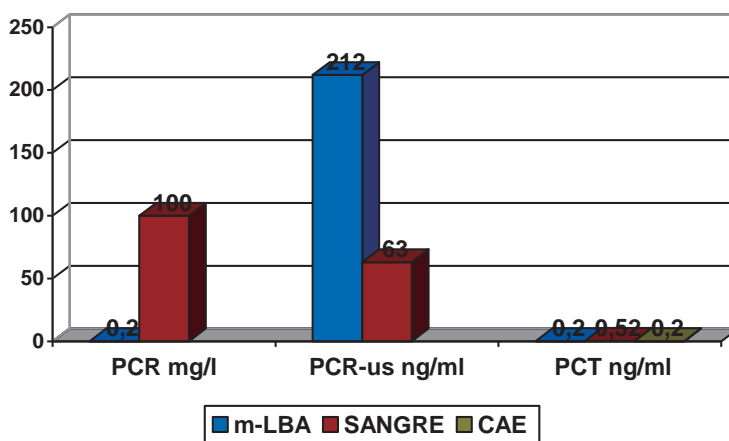


Figura 5: Niveles basales PCR, PCR-us y PCT, en cada muestra, agrupados por biomarcadores.



5.2.2. NIVELES BASALES DE CITOQUINAS.

En cuanto a los niveles basales de las citoquinas analizadas en las tres muestras objeto de estudio, cabe resaltar que los niveles de IL-1 β en suero estuvieron fuera del rango de detección, mientras que los valores de de IL-8 en el m-LBA fueron muy altos en relación a los medidos en sangre y CAE. Respecto de los pacientes que con posterioridad desarrollaron NAV, los niveles

basales de TNF- α en sangre fueron significativamente superiores respecto a los de aquellos que no sufrieron la neumonía. Sin embargo, los valores de TNF- α e IL6 en m-LBA del grupo de pacientes que desarrollo una NAV fueron menores que los que no lo hicieron, aunque sin alcanzar significación. En la **tabla 10** se muestran los niveles de las citoquinas en las distintas muestras.

Tabla 10: Niveles basales de citoquinas en las diferentes muestras.

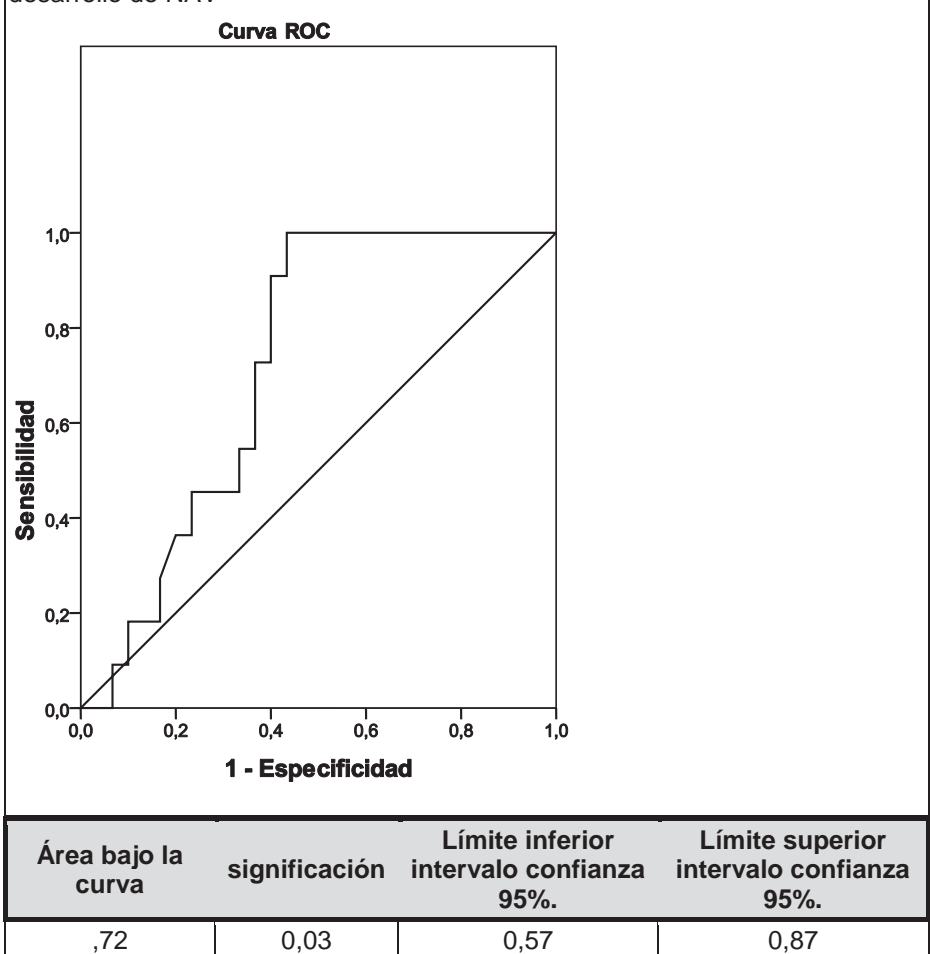
		TOTAL N = 41	NAV N = 11	NO NAV N = 30	P
m-LBA	TNF	12,6 [2,1 – 58,7]	6,4 [0,7 – 12,3]	19,6 [2,7 – 63]	0,08
	IL1 β	7,6 [1,5 – 40]	2,8 [0,7 – 38]	8,7 [2,2 – 40]	0,57
	IL6	8,2 [6,8 – 8,5]	7,9 [2,6 – 8,3]	8,3 [7,3 – 8,7]	0,06
	IL8	2636 [1403-3481]	2105 [936- 3333]	3094 [1853-3792]	0,21
	IL10	7,4 [3,3 – 12,8]	3,3 [2,1 – 12,7]	8,9 [4,6 – 13]	0,12
SANGRE	TNF	6,9 [4,9 – 10,3]	7,6 [6,9 – 11,2]	5,5 [4,4 – 8,6]	< 0,05
	IL1 β	0 [0 – 0]	0 [0 – 0]	0 [0 – 0]	1
	IL6	48 [23,9 – 126,2]	38,6[12,9 – 110]	52 [25,9 – 129]	0,30
	IL8	16,9 [8,4 – 34,7]	23,6 [16 – 36]	14,8 [8,3 – 32,5]	0,25
	IL10	49,5 [23 – 73,5]	46,2 [36,4 – 57,3]	58,3 [21,5 – 91,1]	0,67
CAE	TNF	1,2 [0,9 – 2,1]	1,4 [0,9 – 5]	1,1 [0,9 – 2,1]	0,36
	IL1 β	0,6 [0,4 – 0,7]	0,7 [0,5 – 1,1]	0,6 [0,3 – 0,6]	0,16
	IL6	2,5 [1,8 – 4,5]	3,7 [2,1 – 8,9]	2,5 [1,8 – 3,3]	0,42
	IL8	0,4 [0,3 – 0,8]	0,5 [0,4 – 1,2]	0,4 [0,3 – 0,7]	0,36
	IL10	14,4 [11,9 – 15,5]	15 [10 – 16]	13,9 [12,9 – 15,5]	0,87

Valores en pg/ml, expresados como mediana [P₂₅₋₇₅]

5.2.3. CURVAS ROC

Para tratar de determinar si puede establecerse un punto de corte que sirva para predecir el desarrollo de una NAV en esta muestra, a partir de los marcadores analíticos previamente descritos, se ha construido la curva ROC para aquellos marcadores que en el análisis bivariante han resultado significativos: únicamente el nivel de TNF- α en sangre. Si se considera como punto de corte (PC) un nivel de TNF- α en sangre de 6,6 pg/ml, se consigue una prueba con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 60%.

Figura 6: Curva ROC. Correlación de niveles basales de TNF- α en sangre y desarrollo de NAV



5.3. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS BASALES EN EL MOMENTO DE INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO.

De los 41 pacientes analizados en el momento de inclusión en el estudio, en 12 (29%) se identificó algún microorganismo con recuento significativo en el cultivo de las muestras obtenidas mediante m-LBA. Por subpoblaciones, hubo aislamientos microbiológicos basales en 3 de los 11 pacientes que desarrollaron NAV (27%) y en 9 (30%) de los que no lo hicieron. Todos los pacientes incluidos estaban recibiendo tratamiento antibiótico en ese momento, siempre a criterio de sus médicos responsables sin que los investigadores influyeran en la decisión. En el grupo de pacientes que posteriormente desarrollaron NAV, los microorganismos aislados al inicio eran resistentes al tratamiento antibiótico empírico administrado en ese momento (un caso de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, otro de *Stenotrophomonas maltophilia* y en otro paciente una *Pseudomonas aeruginosa*). En el grupo de los pacientes que no desarrollaron la NAV, los microorganismos fueron sensibles al antibiótico empírico administrado. La mediana [P₂₅₋₇₅] del valor del CPIS modificado en el momento de este aislamiento fue de 4 puntos [2,5 - 4]. En la **tabla 11** se muestran los aislamientos microbiológicos positivos obtenidos en el momento de inclusión de los pacientes en el estudio.

Tabla 11: Aislamientos microbiológicos en el momento de inclusión en el estudio.

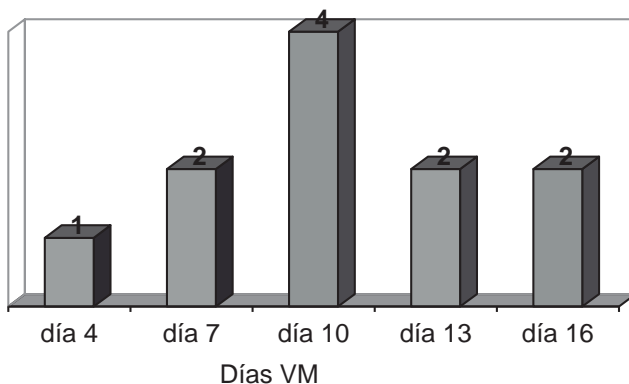
MICROORGANISMO	TOTAL		NAV		NO NAV	
	N	%	N	%	N	%
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	13,3	0	0	2	22,2
<i>Escherichia coli</i>	1	8,3	0	0	1	11,1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	8,3	0	0	1	11,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	8,3	1 ^(*)	33	0	11,1
<i>Serratia</i>	1	8,3	0	0	1	11,1
<i>Staphylococcus aureus</i> meticilin-resistente	1	8,3	1 ^(*)	33	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> meticilin-sensible	1	8,3	0	0	1	11,1
<i>Staphylococcus coagulasa</i> <i>negativa</i>	1	8,3	0	0	1	11,1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	8,3	1 ^(*)	33	0	0
Polimicrobiano	2	13,3	0	0	2	22,2
TOTAL	12		3		9	

^(*) Aislamientos resistentes al antibiótico empírico administrado.

5.4. EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES.

De los 41 pacientes estudiados, 11 (26,8%) desarrollaron NAV. La mediana [P₂₅₋₇₅] del valor del CPIS modificado en el momento del diagnóstico de NAV fue de 7 puntos [7 - 7,5]. El día de diagnóstico de la misma tras el inicio de la VM fue: 1 caso al 4º día (9,1%); 2 casos al 7º día (18,2%); 4 casos al 10º día (36,4%); 2 casos al 13º día (18,2%); 2 casos al 16º día de VM (18,2%).

Figura 7: Episodios de NAV respecto a los días de VM



La mortalidad global al finalizar el periodo de seguimiento de 30 días fue del 36,6% (n=15) de los 41 pacientes finalmente incluidos, siendo la UCI el lugar de fallecimiento en todos los casos. La mortalidad fue algo menor a la esperada de acuerdo al APACHE II de ingreso, que se correspondería con una mortalidad del 40-50%. La mortalidad observada fue superior en el grupo de pacientes que sufrieron NAV con 6 pacientes fallecidos (54,5%), con una mortalidad predicha por APACHE II del 55% respecto a los que no desarrollaron neumonía donde fallecieron 9 enfermos (30%), para una mortalidad predicha por APACHE II del 40%, (p=0,27). Tanto los días de estancia en UCI como los días en que fueron sometidos a VM fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes que desarrollaron NAV, como se muestra en la **Tabla 12**.

Tabla 12: Datos de morbi-mortalidad.

	TOTAL N = 41	NAV N = 11	No NAV N = 30	p
Mortalidad. (%)	36,6%	54,5%	30%	0,272
Días de VM. mediana [P ₂₅₋₇₅]	11 [7 – 15]	19 [15 – 24]	9 [7 – 12]	< 0,01
Días estancia UCI. mediana [P ₂₅₋₇₅]	17 [10 – 22]	24 [18 – 30]	14 [10 – 19]	< 0,01

5.5. ANÁLISIS EVOLUTIVO DE LOS BIOMARCADORES EN LOS PACIENTES QUE DESARROLLAN NAV.

En el siguiente análisis, se describen los niveles registrados de los diferentes biomarcadores en los 11 pacientes que han desarrollado NAV. Comparamos en forma de mediana [P_{25-75}] los valores presentados en el momento del diagnóstico clínico de NAV, con respecto a los niveles en las dos muestras anteriores. Tan solo analizamos estas tres muestras ya que las previas quedan muy alejadas en el tiempo (al menos 8 ó 9 días) y ya no nos resultarían valiosas para el diagnóstico precoz. La significación estadística compara los valores de las “muestras -1” (muestra previa a la obtenida cuando se diagnostica la NAV) y “muestra -2” (muestra anterior a la “muestra -1”) respecto al valor de referencia (REF) en el momento del diagnóstico de NAV.

5.5.1. EVOLUCIÓN DE LA PCR, PCR-us Y PCT EN m-LBA.

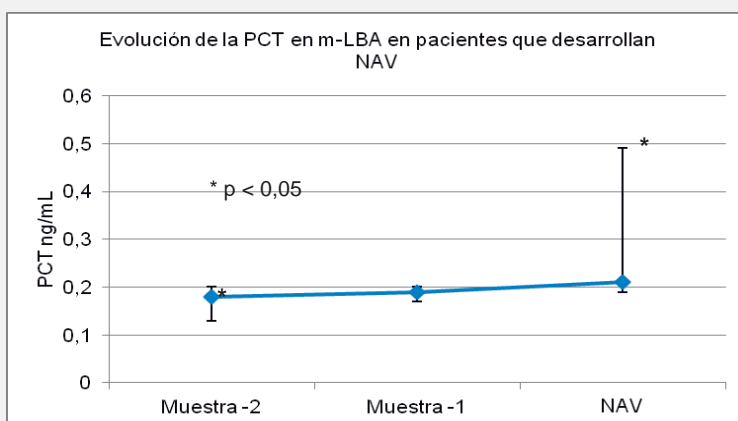
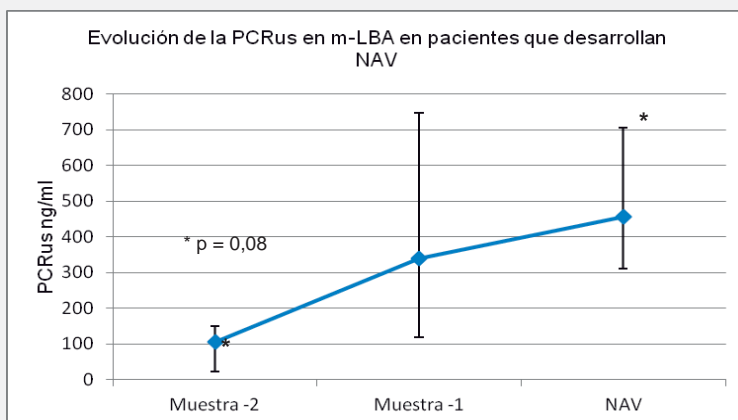
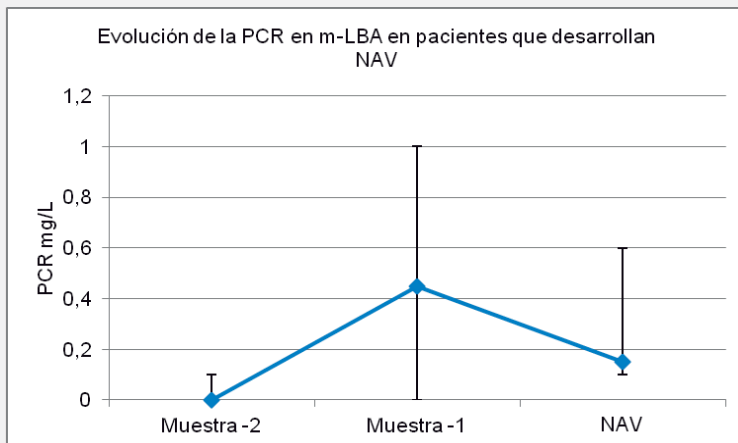
Al analizar analiza la evolución de estos marcadores en el m-LBA, llama la atención el aumento progresivo de los niveles de PCR-us. Los valores ascienden desde 106 ng/ml [22,8 - 151] de valor de mediana [P_{25-75}] en la “muestra -2” anterior al desarrollo de la NAV, a 341 ng/ml [119 - 744] en la “muestra -1” y hasta 456 ng/ml [311 - 707] ng/ml en el momento del diagnóstico de la enfermedad, acercándose la diferencia entre la “muestra -2” y el momento del diagnóstico la significación estadística ($p = 0,08$). Respecto a la PCR, los niveles detectados son bajos y no muestran variaciones significativas en su evolución. Los valores de PCT en el m-LBA, aunque con valores bajos, se elevan progresivamente conforme nos acercamos en el tiempo al diagnóstico de NAV. Así el valor de la mediana [P_{25-75}] en la “muestra -2” es de 0,18 ng/ml [0,13- 0,20], de 0,19 ng/ml [0,17- 0,20] en la muestra -1, y de 0,21 ng/ml [0,19- 0,59] en el momento de la NAV, siendo además los valores observados en la “muestra -2” significativamente diferentes respecto al valor de referencia que es el del momento de diagnóstico clínico de la NAV. En la **tabla 13** y en la **figura 8** vemos cual es la evolución de estos marcadores en el m-LBA.

.Tabla 13: Evolución de PCR, PCR-us y PCT en m-LBA de los pacientes que desarrollan NAV

	PCR (mg/l)	p	PCR-us (ng/ml)	p	PCT (ng/ml)	p
m-LBA						
Muestra -2	0 [0 - 0,10]	1	106 [22,8 - 151]	0,08	0,18 [0,13 - 0,20]	< 0,05
Muestra -1	0,45 [0 - 10]	1	341 [119 - 744]	0,7	0,19 [0,17 - 0,20]	0,15.
NAV	0,15 [0,10 -0,60]	REF	456 [311 - 707]	REF	0,21 [0,19- 0,59]	REF

NAV: momento del diagnóstico de neumonía asociada al ventilador; REF: valor de referencia cuando se diagnostica la neumonía y con el que se comparan las muestras anteriores. Valores expresados como mediana [P₂₅₋₇₅]

Figura 8: Evolución de PCR, PCR-us y PCT en m-LBA de los pacientes que desarrollan NAV.



5.5.2. EVOLUCIÓN DE LA PCR, PCR-us Y PCT EN SANGRE Y CAE.

En el CAE, tanto la PCR como la PCR-us no fueron detectadas y los niveles de PCT no se modificaron.

En sangre, como era esperable, la PCR-us, también se eleva progresivamente de forma llamativa, aunque sin alcanzar significación estadística, siendo sus valores inferiores a los encontrados en muestras respiratorias del líquido del m-LBA. El valor de la mediana [P₂₅₋₇₅] de PCR-us en sangre en la “muestra -2” fue de 49,7 ng/ml [38,6 - 113], incrementándose a 95,8 ng/mL [37 - 115] en la “muestra -1” y hasta 110 ng/ml [37 - 201] en el momento del diagnóstico de NAV. En el caso de la PCR a nivel sanguíneo, a diferencia de la evolución observada en m-LBA, sí que se produce un aumento significativo de la misma, con un valor de mediana [P₂₅₋₇₅] de 41 mg/L [8 - 101] en “muestra -2”; 89 mg/L [72 - 230] en la muestra previa a la NAV y 148 mg/L [82 - 230] cuando se diagnostica la neumonía. Por su parte, la PCT en sangre, como era de esperar, también incrementa los niveles sanguíneos de forma significativa en el momento del diagnóstico de la NAV respecto a los valores medidos en la “muestra -2”, con un valor de mediana [P₂₅₋₇₅] de PCT en sangre al diagnóstico de 0,69 ng/ml [0,27 - 2,70] frente a 0,30 ng/ml [0,13 - 1,13] ng/ml en la “muestra -2” ($p < 0,05$) y aún más altos de forma precoz en la muestra extraída previamente a la NAV (“muestra -1”) con una mediana de 0,91 ng/ml [0,51 - 1,85].

En la **tabla 14** y en las **figuras 9 y 10** se muestran los niveles de la PCR, PCRus y PCT tanto en CAE como en sangre.

Tabla 14: Evolución de PCR, PCR-us y PCT en sangre y CAE de los pacientes que desarrollan NAV.

	PCR (mg/l)	p	PCRus (ng/ml)	p	PCT (ng/ml)	p
SANGRE						
Muestra -2	41 [8 - 101]	< 0,05	49,7 [38,6 - 113]	0,2	0,30 [0,13 -1,13]	< 0,05
Muestra -1	89 [72 - 230]	0,2	95,8 [37 - 115]	0,6	0,91 [0,51 -1,85]	0,3
NAV	148 [82 - 230]	REF	110,2 [37 - 201]	REF	0,69 [0,27 -2,70]	REF
CAE						
Muestra -2	n.d.		n.d.		0,20 (0,20 -0,20)	0,6
Muestra -1	n.d.		n.d.		0,20 (0,14 -0,30)	0,7
NAV	n.d.		n.d.		0,20 (0,17 -0,21)	REF

NAV: momento del diagnóstico de neumonía asociada al ventilador; n.d.: no detectable; REF: valor de referencia cuando se diagnostica la neumonía y con el que se comparan las muestras anteriores. Valores expresados como mediana [P₂₅₋₇₅]

Figura 9: Evolución en sangre de la PCR, PCR-us y PCT de los pacientes que desarrollan NAV.

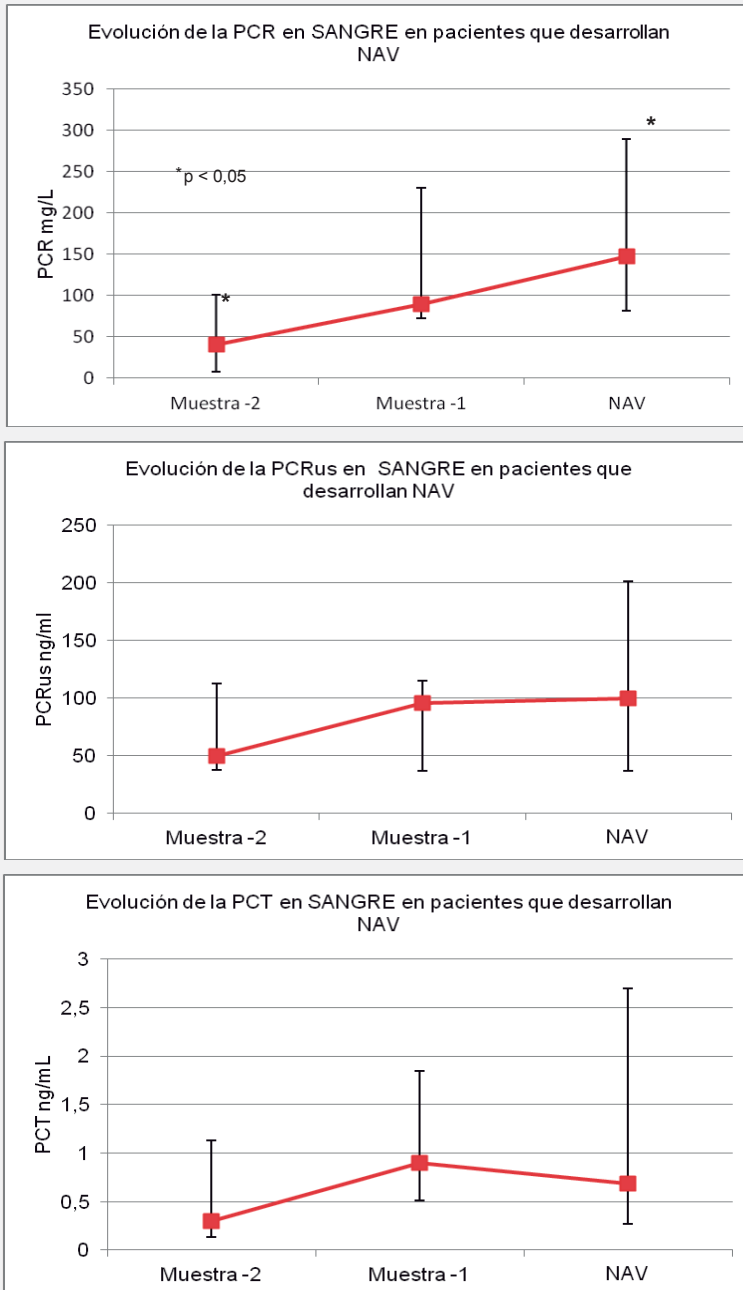
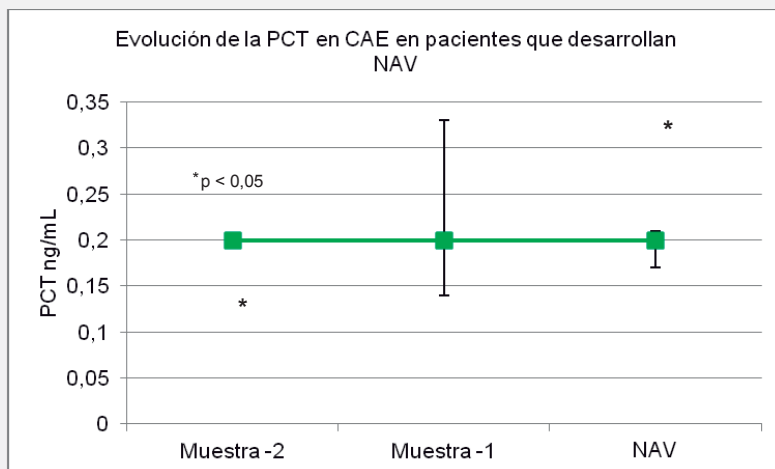


Figura 10: Evolución en CAE de la PCT de los pacientes que desarrollan NAV.



5.5.3. EVOLUCIÓN DE LAS CITOQUINAS (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10) EN m-LBA, SANGRE Y CAE.

Al igual que con los anteriores biomarcadores, también se evaluó la evolución de las citoquinas en las diferentes muestras de estudio. Respecto de los resultados en m-LBA, los niveles de citoquinas analizadas, salvo en el caso del TNF- α , parecen reducirse en la muestra previa al diagnóstico de NAV, siendo este descenso solo significativo en el caso de la IL-8 que presenta una mediana [P₂₅₋₇₅] en m-LBA en la “muestra -2” de 2665 pg/ml [779 - 3327], para descender a 446 pg/ml [52 - 1029] en la “muestra -1” y elevarse de nuevo a 2460 pg/ml [1189 - 3357] en el momento del diagnóstico clínico. Es destacable que sus niveles son extraordinariamente superiores a los registrados a nivel sistémico, o en el CAE (donde son hasta 1000 veces inferiores) y mucho mayores que los del resto de biomarcadores analizados. En cuanto al resto de citoquinas en las demás muestras no encontramos variaciones significativas ni una cinética clara. Tan solo destacar que los niveles sanguíneos de IL-6 e IL-8 tienden a elevarse progresivamente aunque no lo hacen de manera significativa y que los valores séricos de TNF- α en la “muestra -2” son significativamente inferiores que en el momento del a NAV.

En la **tabla 15** y en las **figuras 11 y 12** se puede apreciar la evolución de los niveles de las citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10) en las tres muestras de estudio. En la **figura 11** las citoquinas se agrupan en función de la muestra analizada. Dado los altos valores de IL8 en m-LBA en comparación al resto de citoquinas se muestran en ng/ml en lugar de pg/ml como para las demás. En la **figura 12** vemos los resultados agrupados para cada una de las citoquinas en las distintas muestras de estudio y al igual que en el caso anterior, también los valores de IL-8 en el m-LBA se expresan en ng/ml.

Tabla 15. Evolución de citoquinas previa al diagnóstico de NAV

	TNF- α (pg/ml)	p	IL-1 β (pg/ml)	p	IL-6 (pg/ml)	p	IL-8 (pg/ml)	p	IL-10 (pg/ml)	p
m-LBA										
Muestra -2	8,1 [0,9- 29]	0,8	11,1 [3,5- 32]	0,5	8,3 [4,2- 8,8]	0,9	2665 [779- 3372]	0,7	6,1 [3,3- 16,5]	0,3
Muestra -1	7,7 [1,6- 11,4]	0,3	3,5 [1,6- 6]	0,4	6,7 [3,4- 8,5]	0,4	446 [52- 1029]	< 0,05	4,3 [1,9- 10,2]	0,9
NAV	6,8 [2,3- 58,9]	REF	6 [0,9-24]	REF	7,7 [2,9- 11,7]	REF	2460 [1189-3357]	REF	5,7 [2,4- 8,2]	REF
SANGRE										
Muestra -2	6,6 [5,4- 11]	< 0,05	0	n.a.	21,2 [11,9-60,5]	0,4	15,2 [11,7- 33]	0,09	86 [33- 122]	0,8
Muestra -1	8,1 [7,2- 12,7]	0,2	0	n.a.	24 [13,4- 350]	0,9	20 [11,8- 39,6]	0,07	65 [40- 145]	0,8
NAV	7,7 [6,6- 13]	REF	0	REF	36,8 [22-125]	REF	25,9 [16,9- 107,1]	REF	92 [32- 163]	REF
CAE										
Muestra -2	0,9 [0,8- 1,3]	0,7	0,6 [0,5-0,7]	0,2	3,9 [3,1- 5,2]	0,6	0,4 [0,3- 0,5]	0,3	1,3 [10,5-16]	1
Muestra -1	1,5 [1,4- 1,5]	0,7	0,6 [0,4-0,7]	0,3	3,4 [2,9- 4,5]	0,6	0,4 [0,3- 0,5]	0,4	12,2 [5,9-13,9]	0,1
NAV	1,3 [0,9- 1,7]	REF	0,5 [0,5-0,6]	REF	3,6 [3,2- 4,5]	REF	0,4 [0,3- 0,5]	REF	12,9 [10,7-16]	REF

NAV: : momento del diagnóstico de neumonía asociada al ventilador; n.a.: no aplicable; REF: valor de referencia cuando se diagnostica la neumonía y con el que se comparan las muestras anteriores. Valores expresados como mediana [P₂₅₋₇₅].

Figura 11: Evolución en m-LBA, sangre y CAE de todas las citoquinas de los pacientes que desarrollan NAV.

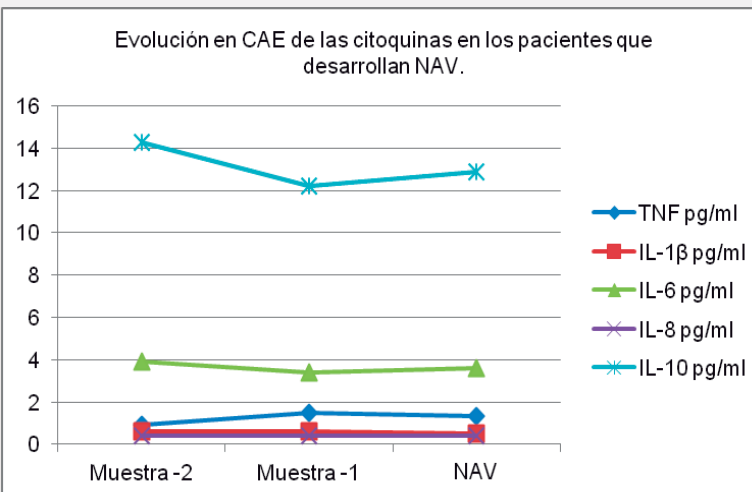
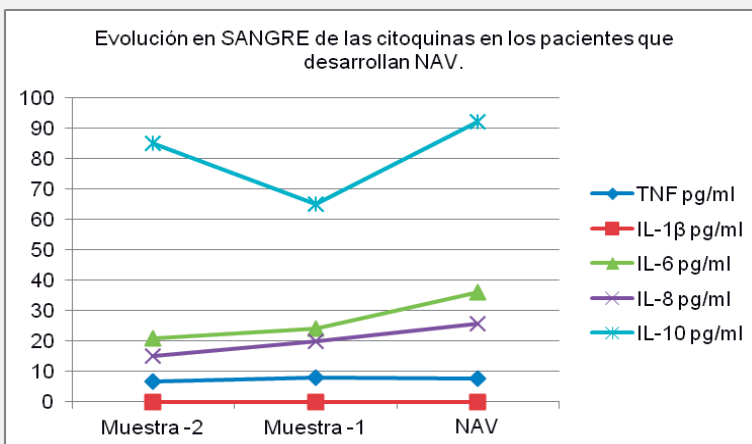
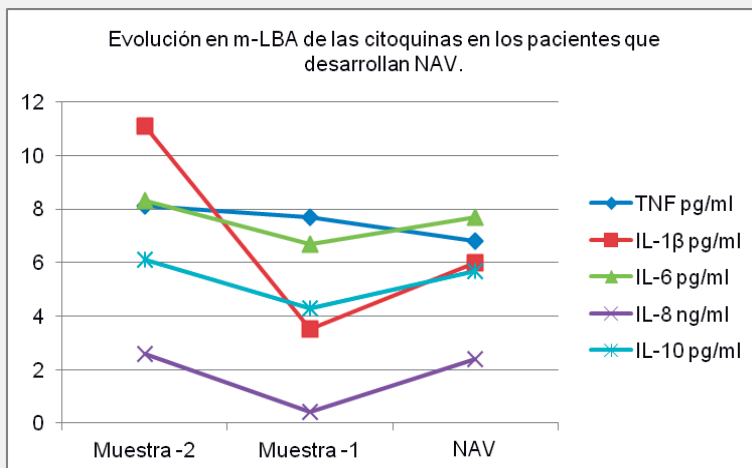
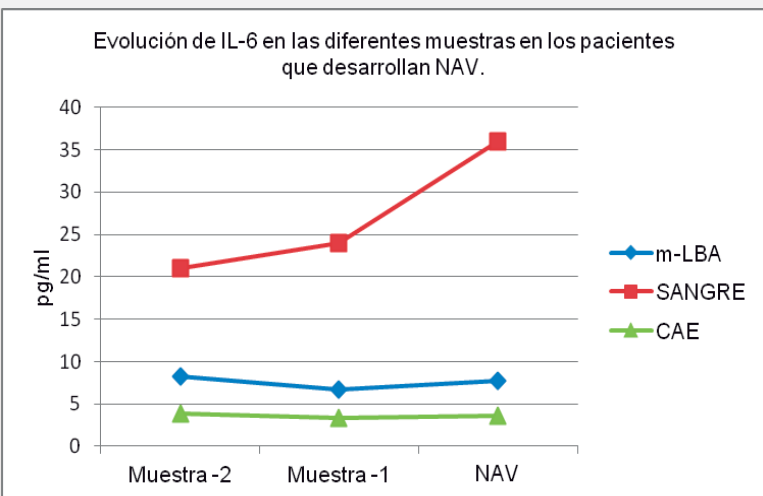
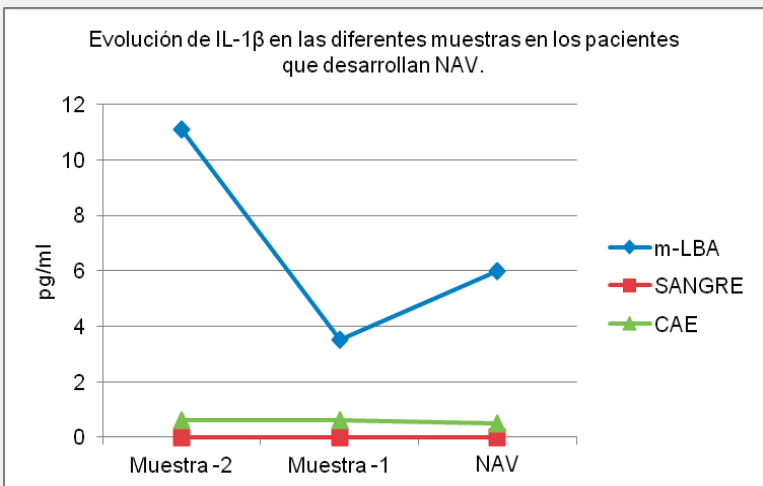
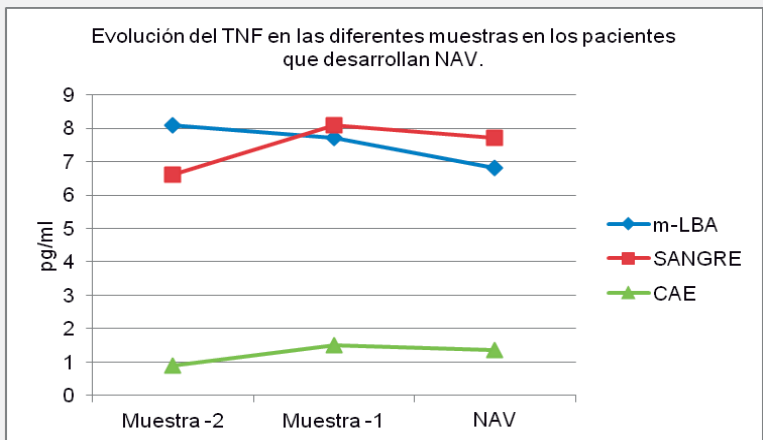
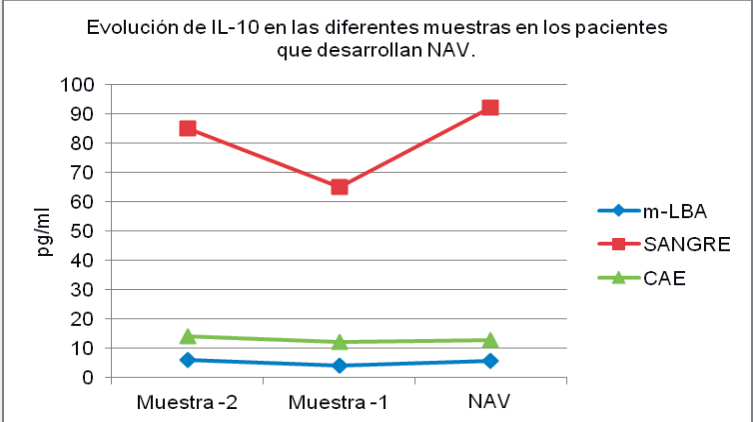
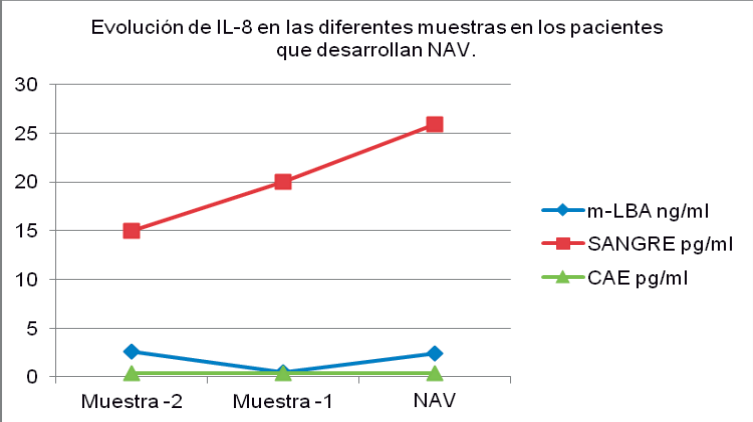


Figura 12: Evolución de cada citoquina en todas las muestras de los pacientes que desarrollan NAV





5.6. EVOLUCIÓN MICROBIOLÓGICA EN LOS PACIENTES QUE DESARROLLAN NAV.

Se logró el diagnóstico etiológico de NAV mediante confirmación microbiológica con recuento significativo en el cultivo de m-LBA, en 8 (72%) de los 11 pacientes diagnosticados de la enfermedad. En tres pacientes en los que se diagnosticó NAV no hubo confirmación microbiológica, realizándose el diagnóstico en base a criterios clínicos, cuando tras haber permanecido bajo VM al menos 48 horas desarrollaron infiltrados pulmonares nuevos o progresivos, junto con un deterioro del intercambio gaseoso y un incremento de las secreciones purulentas respiratorias, además de signos sistémicos de infección (fiebre y leucocitosis), sin otro diagnóstico alternativo que justificara esta clínica y que estuvieran bajo tratamiento antibiótico en el momento de la toma de las muestras.

En el momento de diagnóstico de NAV, en 7 de los 8 pacientes con confirmación microbiológica se aisló un único microorganismo y en el otro paciente se trató de un cultivo polimicrobiano. *Pseudomonas aeruginosa*, en 4 casos (50% de los aislamientos), fue el patógeno más frecuente, seguido de *Stenotrophomonas maltophilia* en 3 casos. El resto de microorganismos aislados fueron: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Escherichia coli*. En el paciente con cultivo polimicrobiano se aislaron *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia*.

En las siguientes tablas se muestran los cultivos significativos obtenidos. En primer lugar, en la **tabla 16**, se pueden apreciar los diferentes aislamientos microbiológicos en el m-LBA, con recuentos significativos ($\geq 10^4$ ufc/ml) que se produjeron en el momento del diagnóstico de NAV y según los días de VM en que se realizó dicho diagnóstico. Al 4º día de VM se produjo un episodio de NAV, causada por *Pseudomonas aeruginosa*. Al séptimo día se produjeron dos episodios de NAV, una causada por *Escherichia Coli* y en el otro caso no se logró confirmación microbiológica, habiendo sufrido el paciente una modificación en la pauta antibiótica en las 48 horas previas a la toma de muestra. Al décimo día de VM se diagnosticaron 4 casos de NAV, una por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, otra por *Pseudomonas*

aeruginosa, otra por *Stenotrophomonas maltophilia* y un cuarto episodio en que como en el caso anteriormente descrito no hubo tampoco confirmación microbiológica en las mismas circunstancias de cambio antibiótico en las 48 horas previas. Al decimotercer día, hubo también un nuevo caso de NAV causado por *Pseudomonas aeruginosa*. En los dos episodios restantes, que acontecieron al decimosexto día de VM, en uno de los casos la infección fue polimicrobiana y en el otro causada por *Stenotrophomonas maltophilia*.

Respecto a los cultivos de vigilancia realizados, en la **tabla 17**, se puede apreciar, además de los resultados positivos en el momento del diagnóstico de la NAV, la evolución microbiológica previa de los pacientes que la desarrollaron. De los 8 pacientes en los que se logró el diagnóstico etiológico de la NAV, tan sólo en 4 (50%) se pudo aislar de forma anticipada en los cultivos de vigilancia el microorganismo considerado causante de la NAV. En ninguno de los otros tres pacientes diagnosticados de NAV sin confirmación microbiológica hubo resultados anticipados positivos. Así pues, considerando el global de los 11 pacientes diagnosticados de NAV, tan solo en 4 casos (36%) se aisló anticipadamente el microorganismo causal. En 3 de los cuatro pacientes en que se obtuvieron cultivos de vigilancia positivos los patógenos fueron multiresistentes, siendo estos: 1 caso *Pseudomonas aeruginosa*, 1 de *Stenotrophomonas maltophilia* y 1 de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina. El otro patógeno anticipado fue en otro paciente un *Escherichia coli*. En el caso en que hubo un aislamiento polimicrobiano, y en el que se aislaron dos patógenos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia*), la *Stenotrophomonas maltophilia* se había aislado en cultivos previos y en el momento del diagnóstico se aisló además *Pseudomonas aeruginosa* que no aparecía previamente. En los pacientes que sufrieron la NAV se tomaron un total de 46 muestras, de las que en 27 los cultivos fueron negativos.

En los 30 pacientes que no se produjo la NAV también hubo cultivos con recuentos significativos en 16 muestras de 12 pacientes, pero en ausencia de criterios clínicos compatibles con un valor de mediana [P₂₅₋₇₅] del CPIS modificado de 4 puntos [2,75 - 4]. Todos los aislamientos se produjeron en los primeros 5 días de VM y ninguno de los microorganismos presentó resistencia al antibiótico. Los aislamientos fueron polimicrobianos en 4 casos,

correspondieron a *Escherichia Coli* en tres ocasiones, *Enterobacter cloacae* en otras tres muestras, *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina y *Staphylococcus* coagulasa-negativos en dos pacientes y *Serratia marcescens* y *Proteus mirabilis* en sendos casos. Se tomaron 60 muestras de vigilancia en las que no hubo aislamientos significativos. En la **tabla 18** se muestran los cultivos de vigilancia de los pacientes que no desarrollan NAV

Tabla 16: Resultados microbiológicos en m-LBA en el momento del diagnóstico de NAV

		AISLAMIENTOS MICROBIOLÓGICOS POSTIVOS Y DÍA DE VM EN QUE SE PRODUCE EL DIAGNÓSTICO DE NAV					
		Basal	Día 4	Día 7	Día 10	Día 13	Día 16
PACIENTES		<i>P. aeruginosa</i>					
			<i>Escherichia Coli</i>				
			NEGATIVO				
				SAMR			
				<i>P. aeruginosa</i>			
				NEGATIVO			
				<i>S. maltophilia</i>			
					NEGATIVO		
					<i>P. aeruginosa</i>		
						<i>S. maltophilia</i> + <i>P. aeruginosa</i>	
					<i>S. maltophilia</i>		

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*; SAMR: *Staphylococcus aureus*

meticilina resistente; *S. maltophilia*: *Stenotrophomonas maltophilia*

Recuentos significativos con ($\geq 10^4$ ufc/ml)

Tabla 17: Evolución microbiológica en cultivos de vigilancia de los pacientes que desarrollan NAV

AISLAMIENTOS MICROBIOLÓGICOS POSITIVOS EN CULTIVOS DE VIGILANCIA Y DÍA DE VM EN QUE SE PRODUCE ESTOS ASÍ COMO EL DIAGNÓSTICO DE NAV						
	Basal	Día 4	Día 7	Día 10	Día 13	Día 16
PACIENTES	-	<i>P. aeruginosa</i>				
	-	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Escherichia Coli</i>			
	-	-	NEGATIVO			
	SAMR	-	SAMR	SAMR		
	-	-	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>		
	-	-	-	NEGATIVO		
	-	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>		
	-	-	-	-	NEGATIVO	
	-	-	-	-	<i>P. aeruginosa</i>	
	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i> + <i>P. aeruginosa</i>
	-	-	-	-	-	<i>S. maltophilia</i>

(-): Cultivo de vigilancia negativo. *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; *S. maltophilia*: *Stenotrophomonas maltophilia*. El cuadro sombreado corresponde al diagnóstico de NAV. Recuentos significativos con ($\geq 10^4$ ufc/ml).

Tabla 18: Cultivos de vigilancia de los pacientes que no desarrollan NAV

	Basal	Día 4	Día 7	Día 10	Día 13	Día 16	Día 30
PACIENTES	-	SCN	-	-	-	-	
	-	<i>E. Coli</i>					
	<i>Serratia</i>	-					
	-	-	-	-			
	-	-	-				
	<i>E cloacae</i>	<i>E cloacae</i>	-	-			
	-	-					
	-	-					
	Polimicrobiano						
	-	-	-				
	<i>E. Coli</i>	<i>E. Coli</i>	-				
	-	-	-				
	-						
	-	-					
	-	Polimicrobiano					
	Polimicrobiano	Polimicrobiano	-	-			
	-	-	-				
	-						
	<i>Proteus</i>						
	SAMS	-	-				
	<i>E cloacae</i>	SAMS	-				
	-	-	-				
	-	-					
	-						
	SCN	-					
	-	-					
	-	-	-				
	-	-	-				
-	-	-					
-	-						

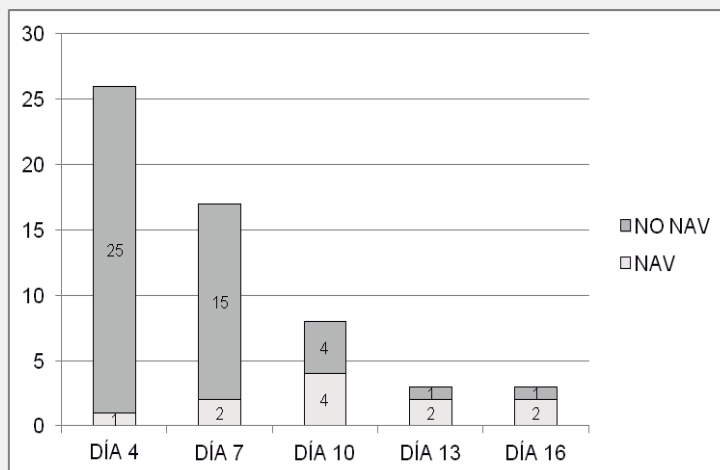
(-): Cultivo de vigilancia negativo; *E. cloacae*; *Enterobacter cloacae*; *E.coli*: *Escherichia coli*; *P.aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; SAMS: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina; SCN: *Staphylococcus coagulasa* negativo. Recuentos significativos con ($\geq 10^4$ ufc/ml)

5.7.COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES EN LAS SUBPOBLACIONES DE PACIENTES QUE DESARROLLAN NAV FRENTE A LOS QUE NO LA PRESENTAN.

A continuación se comparan los niveles de los biomarcadores en las diferentes muestras en el momento del diagnóstico de la NAV respecto a los pacientes que no la desarrollaron, para el mismo día de evolución y por tanto de VM. Inicialmente PCR, PCR-us y PCT en m-LBA y posteriormente en resto de muestras y de igual forma para las citoquinas.

Es importante destacar que el número de pacientes en cada grupo para un determinado número de días bajo VM es escaso y heterogéneo. De esta forma, al 4º día de VM tan solo hay un paciente que haya desarrollado NAV, frente a 25 pacientes en el grupo control sometidos a VM que no lo han hecho. Al 7º día de VM hay 2 pacientes que presentan NAV frente a 15 que no lo hacen. Al 10º día de VM los grupos se equiparan y encontramos 4 pacientes en cada grupo (con y sin NAV). A partir de aquí los grupos son todavía menores, de forma que los días 13º y 16º de evolución tan sólo encontramos 1 paciente en el grupo que sigue bajo VM y no desarrolla NAV y 2 que si presentan neumonía. En la **figura 13** se puede apreciar el número de pacientes en cada subpoblación para los diferentes días de VM. Por ello, únicamente se presentan los cálculos referentes al 10º día de VM, en el que ambas subpoblaciones (pacientes con NAV frente a aquellos sin ella) cuentan con un tamaño que aunque es reducido es semejante.

Figura 13: Número de pacientes que desarrollaron o no NAV en los diferentes días de VM



5.7.1. COMPARACIÓN DE PCR, PCR-us Y PCT EN m-LBA.

En general, los valores de PCT, PCR y PCR-us en m-LBA fueron superiores en los pacientes que desarrollaron NAV frente a los que no lo hicieron para los mismos días de VM.

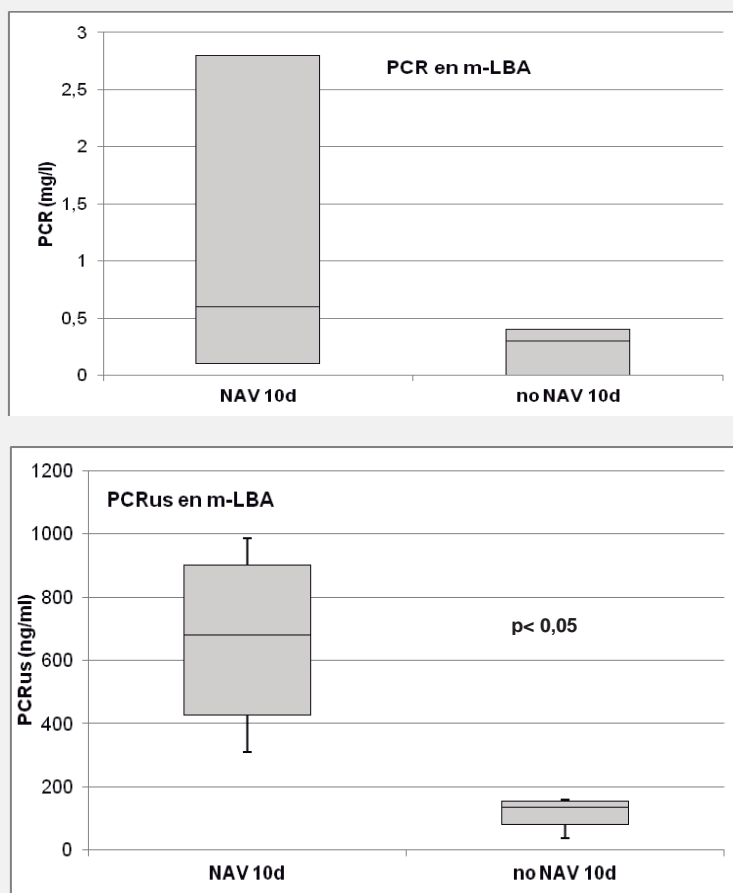
En el m-LBA, de todos estos marcadores analizados, es destacable que tan solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de PCR-us, superiores en los pacientes que desarrollaron NAV al 10º día de VM frente a quienes no lo hicieron, pese al modesto número de casos (4 en cada grupo) para ese día de evolución. Así, la mediana, $[P_{25-75}]$ del valor de la PCR-us en m-LBA en los pacientes diagnosticados de NAV fue de 680 ng/ml [426 - 902], frente a los que no lo hicieron que tenían un nivel de PCR-us de 137 ng/ml [81 - 155], siendo esta diferencia significativa ($p < 0,05$). En la **tabla 19** y en la **figura 14** se muestran los valores de estos tres marcadores en las diferentes muestras a los 10 días de VM en los pacientes que presentaban NAV frente a aquellos que no la padecieron.

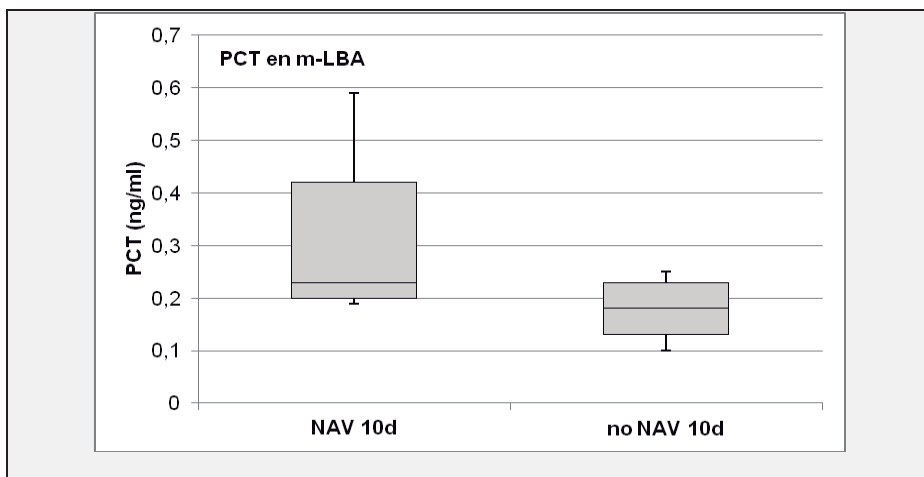
Tabla 19: Valores de PCR, PCR-us y PCT en el m-LBA de los pacientes que desarrollaron NAV frente a los que no lo hicieron a los 10 días de VM.

	NAV N = 4	No NAV N = 4	p
PCR (mg/l)	0,6 [0,1- 2,8]	0,3 [0- 0,4]	0,27
PCR-us (ng/ml)	680 [426- 902]	137 [81- 155]	< 0,05
PCT (ng/ml)	0,23 [0,20- 0,42]	0,18 [0,13-0,23]	0,3

Valores expresados como Mediana [P₂₅₋₇₅]

Figura 14: Niveles de PCR, PCR-us y PCT en m-LBA de los pacientes que presentan NAV al 10º día de VM frente a los pacientes que no lo hicieron.





5.7.2. COMPARACIÓN DE PCR, PCR-us Y PCT EN SANGRE Y CAE.

En relación a los resultados de la PCR, PCR-us y PCT en las demás muestras de estudio (sangre y CAE), los pacientes que desarrollaron NAV al décimo día de VM presentan niveles superiores en sangre de PCR: 257 mg/l [167 - 357] de valor de mediana [P₂₅₋₇₅] frente a 102 mg/l [58 - 137] de los pacientes sin NAV al 10º día de VM ($p < 0,05$). La PCR-us en sangre también fue superior, siendo de 155 ng/ml [8 - 216] en los pacientes con NAV frente a 36,5 ng/ml [34 - 43,2] en los que no la desarrollan, aunque sin significación estadística ($p = 0,08$). En la **tabla 20** y en las **figuras 15 y 16** se muestran los niveles de los reactantes de fase aguda de los pacientes que desarrollaron NAV al 10º día de evolución frente a quienes no lo hicieron. No se reflejan los resultados en los demás días de evolución, dado su reducido tamaño muestral y la ausencia de resultados significativos. También es destacable que cuando se comparan a los niveles detectados en m-LBA, pese a tratarse de muestras diferentes, los niveles de PCR-us en m-LBA son francamente superiores a los detectados en sangre, no siendo así en el caso de la PCR y PCT.

Tabla 20: Niveles de PCR, PCR-us y PCT en sangre y CAE de los pacientes que desarrollan NAV frente a los que no lo hacen a los 10 días de VM.

	NAV	No NAV	p
	N = 4	N = 4	
SANGRE			
PCR (mg/l).	257 [167- 357]	102 [58- 137]	< 0,05
PCRus (ng/ml).	155 [68- 216]	36,5 [34- 43,2]	0,08
PCT (ng/ml).	1,9 [1,21- 4]	0,46 [0,29- 6]	0,30
CAE			
PCR (mg/l).	n.d.		
PCRus (ng/ml).	n.d.		
PCT (ng/ml).	0,27 [0,18- 0,35]	0,30 [0,20- 0,48]	0,46

n.d.: no detectable. Valores expresados como mediana [P₂₅₋₇₅].

Figura 15: Niveles de PCR, PCR-us y PCT en sangre de los pacientes que desarrollaron NAV al 10º día de VM frente a los pacientes que no la sufrieron.

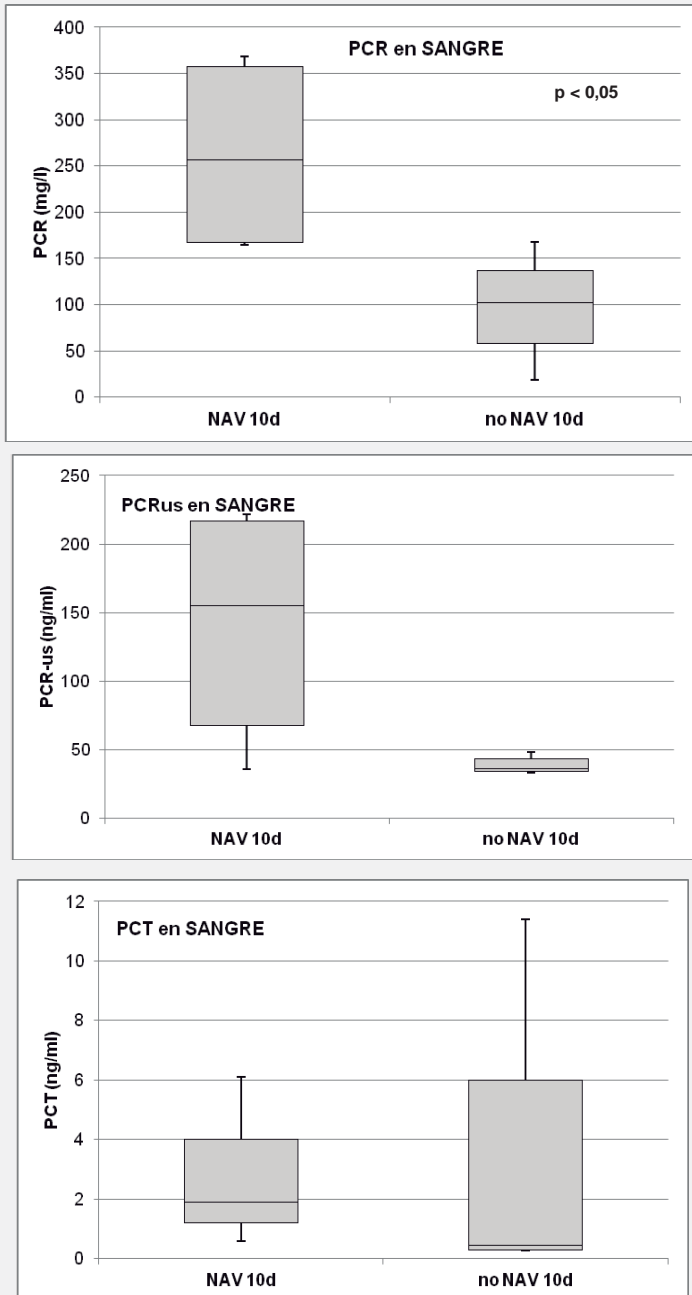
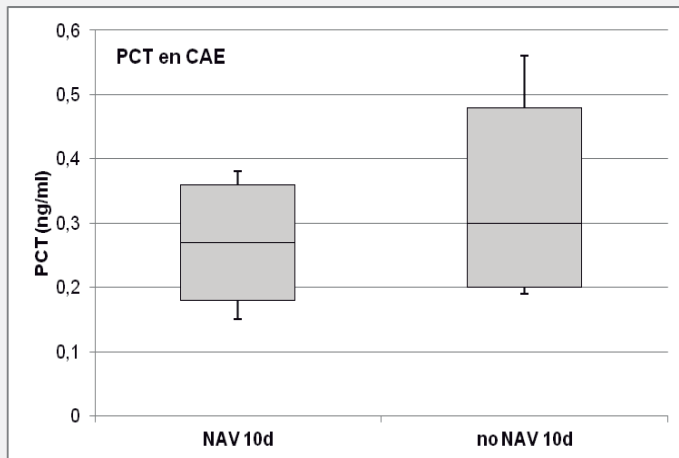


Figura 16: Niveles de PCT en CAE de los pacientes que desarrollaron NAV al 10º día de VM frente a los pacientes que no lo hicieron.



5.7.3. COMPARACIÓN DE CITOQUINAS (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 E IL-10) EN m-LBA, SUERO Y CAE.

A continuación se describen las diferencias en los niveles de citoquinas en cada una de las muestras de estudio (m-LBA, sangre y CAE) en los pacientes que desarrollaron NAV y los que no la padecieron. Al igual que en los biomarcadores anteriores, tan solo se reflejan los resultados obtenidos al 10º día de VM donde las dos poblaciones tienen, aunque pequeño, el mismo tamaño muestral. No se incluyen el resto de días de evolución ante lo reducido y dispar del número de pacientes y la ausencia de diferencias significativas. Como se aprecia en la **tabla 21**, salvo en el caso de la IL-8 en sangre donde si se encuentran diferencias significativas, siendo superiores sus niveles en los pacientes que sufren la enfermedad. Para el resto de citoquinas y en las diferentes muestras analizadas no se encontraron diferencias.

Tabla 21: Niveles de citoquinas de los pacientes de los pacientes que desarrollan NAV frente a los que no la padecen a los 10 días de VM.

	NAV N = 4	No NAV N = 4	p
TNF (pg/ml)			
SANGRE	10,7 [7,2 - 14]	7,2 [7 - 10]	0,38
m-LBA	33,4 [4 - 70]	9,3 [2,3 - 23,5]	0,46
CAE	1,3 [0,4 - 65]	1,12 [1,1 - 1,3]	0,65
IL-1beta (pg/ml)			
SANGRE	0	0,7 [0,7 - 0,7]	0,31
m-LBA	5,6 [2,9 - 21]	5,4 [1,7 - 42]	0,72
CAE	0,6 [0,5 - 0,6]	0,6 [0,3 - 0,6]	0,79
IL-6 (pg/ml)			
SANGRE	127 [33,4 - 363]	30,4 [16,7 - 56]	0,14
m-LBA	8,73 [4,6 - 11,6]	3,9 [1,9 - 7]	0,24
CAE	4 [3,2 - 24]	4,3 [3,2 - 4,7]	0,85
IL-8 (pg/ml)			
SANGRE	73,5 [21,9 - 123]	14,2 [10,7 - 19]	< 0,05
m-LBA	4720 [2184 - 8998]	1564 [669 - 2444]	0,14
CAE	0,4 [0,3 - 0,9]	0,45 [0,26 - 1,5]	0,8
IL-10 (pg/ml)			
SANGRE	93 [80 - 110]	49,9 [22,7 - 82]	0,14
m-LBA	5,5 [1,95 - 11,6]	3,2 [2,2 - 9,8]	1
CAE	14,4 [12,9 - 16]	12,3 [9,6 - 12,9]	0,13

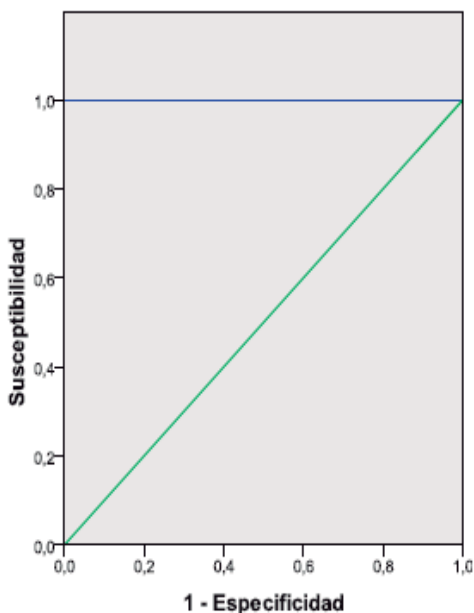
Valores expresados como mediana [P₂₅₋₇₅].

5.7.4. CURVAS ROC.

Las curvas ROC para los marcadores solo han sido calculadas para la PCR en sangre y PCR-us en m-LBA al 10º día de VM, ya que son las muestras en las cuales se establecen diferencias estadísticamente significativas en el análisis comparativo de los biomarcadores en función al día del diagnóstico de NAV, y en las que ambas subpoblaciones (NAV y no NAV) cuentan con un tamaño semejante. Al valorar los resultados obtenidos en las curvas ROC se observa que tienen un alto poder discriminante, aunque debe tenerse en

cuenta que el tamaño de la muestra es muy pequeño y por tanto es arriesgado considerar los PC obtenidos como altamente fiables a la hora de diagnosticar la patología en estudio, ya que al disponer de información de tan pocos sujetos es difícil precisar que los niveles registrados por estos sean representativos de la población global. Sin embargo, dichos puntos de corte sí podrían utilizarse como un indicativo de valores predictivos de la enfermedad. Si se considera como PC, al 10º día de VM, un nivel de PCR-us en m-LBA de 235,5 ng/ml, dispondremos de una prueba con una sensibilidad y especificidad del 100,0%.

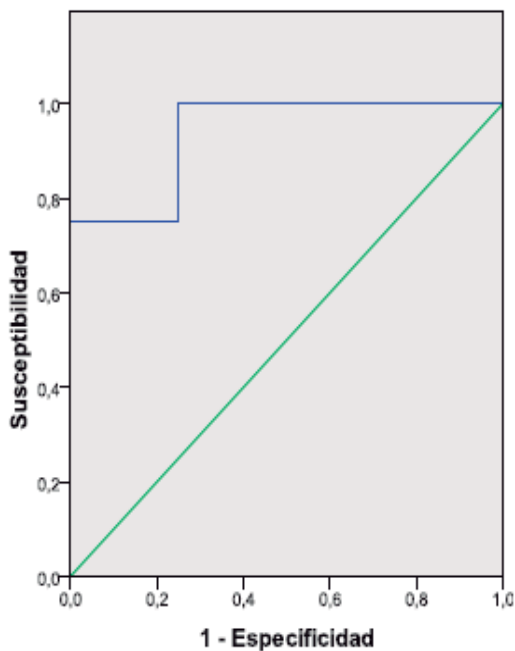
Figura 17. Curva ROC. Correlación de los niveles de PCR-us en m-LBA en los pacientes que desarrollan NAV al 10 día de VM.



Área bajo la curva	Significación	Límite inferior intervalo confianza 95%.	Límite superior intervalo confianza 95%.
1,000	0,021	1,000	1,000

En cuanto a las PCR en sangre al 10^o día de VM, si consideramos un PC de 136 mg/l, tendremos una prueba con una sensibilidad del 100,0% y una especificidad del 75,0%, mientras que para un PC de 168,5 mg/l, tendremos una sensibilidad del 75,0% y una especificidad del 100,0%.

Figura 18. Curva ROC. Correlación de los niveles de PCR en sangre en los pacientes que desarrollan NAV al 10 día de VM.



Área bajo la curva	Significación	Límite inferior intervalo confianza 95%.	Límite superior intervalo confianza 95%.
0,938	0,043	1,000	1,000

6. DISCUSIÓN

El diagnóstico de NAV es un tema controvertido debido a la ausencia de un patrón de referencia. Es importante lograr un diagnóstico etiológico precoz a fin de mejorar el tratamiento y pronóstico de estos pacientes. Por ello, con el objetivo de intentar anticipar y mejorar el diagnóstico de esta patología basándose, en el presente trabajo, se investiga si el empleo de cultivos cuantitativos de vigilancia obtenidos mediante m-LBA junto con la determinación de marcadores inflamatorios en esta misma muestra, tomada a nivel pulmonar, donde se inicia la respuesta inflamatoria a la NAV puede ser de utilidad. Además, se intenta evaluar la evolución de estos biomarcadores en sangre y CAE a fin de ver si existe algún patrón que nos permita predecir y anticipar el desarrollo de esta patología.

La NAV, definida como una infección del parénquima pulmonar acontecida al menos tras 48 horas de IT y VM ^{1,2}, representa la complicación infecciosa más frecuente en los servicios de Medicina Intensiva donde puede afectar hasta un 50% de los pacientes sometidos a VM, con una incidencia de 10 - 20 episodios por cada mil días de VM ⁶. En Europa, esta infección ocurre al menos en el 7% de los pacientes que permanecen más de dos días ingresados en la UCI ⁸. La NAV se asocia con una importante morbilidad y mortalidad, pudiendo alcanzar una tasa cruda de mortalidad entre 30 y 70% y una mortalidad atribuible de hasta el 50%, sobre todo si se administra un tratamiento tardío e inadecuado, siendo por tanto crucial un diagnóstico y manejo tanto precoces como efectivos ^{1, 10-13}. En nuestra serie, en los 41 pacientes que finalmente completaron el análisis, el 26,8% (11 casos) desarrollaron NAV, con una mediana [P₂₅- P₇₅] del valor de CPIS modificado de 7 puntos [7 - 7,5]. Tan solo una de ellas fue una NAV precoz (aquella que se desarrolla antes del quinto día de VM) y el resto tardías. El grupo de pacientes que tuvieron NAV presentaron mayor mortalidad (54,5% frente al 36,6%), estuvieron más tiempo sometidos a VM (mediana de 19 días frente a 11 en los pacientes que no sufrieron NAV) y tuvieron una estancia significativamente más larga en la UCI (24 frente a 17 días). La mortalidad del 54,5% observada en el grupo de pacientes que se complicaron con la aparición de neumonía fue la que cabría esperar en función de la puntuación APACHE II a su ingreso, que fue de 26 puntos de mediana con una mortalidad predicha del 55%.

Se puede establecer el diagnóstico de NAV en base a criterios clínicos y microbiológicos ^{1,2}. El diagnóstico clínico se define por la presencia de un infiltrado radiológico nuevo o progresivo junto con dos de las siguientes características clínicas: fiebre superior a 38°C, leucocitosis o leucopenia y secreciones traqueales purulentas, según los criterios clásicos propuestos por Johanson y cols. ⁶⁹, comparados con estudios histológicos post-mortem de biopsias pulmonares por Fábregas y cols. ⁷⁰. Esta combinación de criterios, adoptados y recomendados en las guías de práctica clínica, tiene una sensibilidad de 69% y una especificidad de 75 % ¹. Un aumento o descenso en el número de criterios clínicos necesarios podría modificar la sensibilidad, pero a costa de la especificidad. Sin embargo, estos signos y síntomas no son patognomónicos de NAV, ya que hay entidades que cursan con infiltrados pulmonares, en pacientes que puedan presentar fiebre y/o leucocitosis por otras razones, o bien pueden encontrarse algunos de los signos y síntomas descritos sin que se desarrollen nuevos infiltrados radiológicos. El diagnóstico diferencial de la NAV debe incluir otras patologías como: neumonitis aspirativa, atelectasias, embolismo e infarto pulmonar, SDRA, hemorragia pulmonar, contusión pulmonar, traqueobronquitis, o incluso el edema agudo de pulmón ^{1, 9, 58, 59}. El empleo de un diagnóstico clínico pretende administrar un tratamiento empírico precoz a fin de evitar el aumento en la morbi-mortalidad que implica su demora ^{1, 10-13, 61, 64}.

La posible falta de especificidad de una estrategia clínica puede conducir a sobreestimar la presencia de NAV y a un exceso en el empleo de antibióticos. Muchos autores abogan por el empleo de una estrategia microbiológica y la necesidad de cultivos cuantitativos del tracto respiratorio inferior (obtenidos mediante AT, LBA o CBP) para definir la existencia de NAV ^{1, 65, 99}. El cultivo negativo debe hacernos cuestionar el diagnóstico de NAV, aunque también pueden producirse falsos positivos como resultado de colonización de la vía aérea por VM prolongada o falsos negativos en pacientes bajo cobertura antibiótica al menos 24 horas o en los que esta se haya modificado en los días previos, que podrían demorar el tratamiento correcto ^{1, 61, 65, 82}.

Ante el mejor pronóstico de la NAV si se trata precozmente y el peligro del uso inapropiado de antibióticos de amplio espectro, puede ser de utilidad la

obtención de muestras respiratorias de vigilancia, que permitan monitorizar la microbiota de los pacientes sometidos a VM y efectuar un tratamiento precoz dirigido. Sin embargo, todavía no existe consenso sobre la frecuencia de toma de muestras y el mejor método de obtención de las mismas ¹⁰²⁻¹⁰⁹.

En el presente trabajo, se han empleado criterios clínicos y microbiológicos. Se diagnosticaron de NAV los pacientes que tras permanecer bajo VM al menos 48 horas, desarrollaron infiltrados pulmonares nuevos o progresivos, junto con un deterioro del intercambio gaseoso y al menos dos de las siguientes características clínicas: incremento de las secreciones purulentas respiratorias, fiebre superior a 38°C y leucocitosis o leucopenia, sin otro foco causante de los mismos. Para el diagnóstico etiológico definitivo, se requirió la confirmación microbiológica con recuentos significativos en cultivos de muestras respiratorias obtenidas mediante m-LBA, aunque su ausencia no excluyó definitivamente la presencia de NAV en pacientes que cumpliendo los criterios previos, hubieran sufrido modificaciones en la pauta antibiótica en las 72 horas previas. De los 11 pacientes que sufrieron una NAV se obtuvo confirmación microbiológica en 8 de ellos. En los tres casos restantes no hubo cultivos cuantitativos significativos en m-LBA, sin embargo, todos ellos se encontraban bajo cobertura antibiótica que además había sido modificada en los días anteriores. Estas modificaciones antibióticas fueron realizadas por los médicos encargados de tratar a los pacientes con independencia del protocolo de estudio y sin que los investigadores influyeran en las decisiones médicas. Aparte de los cultivos extraídos cumpliendo el protocolo de estudio, los médicos responsables de los enfermos podían tomar las muestras y decisiones clínicas que consideraran necesarias.

La utilidad de los cultivos de vigilancia, no está totalmente definida en los pacientes sin sospecha clínica de NAV en base a la evidencia actual ^{59, 67, 101}. Puede mejorar el tratamiento antibiótico empírico sobre todo en caso de patógenos multirresistentes, pero como contrapartida, supone incrementar las cargas de trabajo de enfermería y microbiología y puede inducir a errores clínicos de interpretación ¹⁰¹. En nuestros pacientes se logró identificar el patógeno causal en cultivos previos en 4 de los 8 pacientes en los que se alcanzó la confirmación microbiológica de la neumonía y en ninguno de los 3

casos sin diagnóstico etiológico. Esto supone que hubo resultados microbiológicos anticipados positivos en el 36% de los pacientes afectados de NAV. Sin embargo, hay que destacar que en 3 de estos 4 aislamientos positivos en los cultivos de vigilancia los patógenos fueron multiresistentes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina) siendo un caso de neumonía precoz y dos tardía. En el único caso de aislamiento polimicrobiano en el momento de la NAV se encontraron dos patógenos, *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia*; esta última se encontraba presente en recuentos significativos en los cultivos de vigilancia, sin embargo, en esos momentos no había evidencia clínica de NAV y cuando esta se diagnosticó se aisló además *Pseudomonas aeruginosa* que no aparecía previamente, considerándose como el patógeno causal de la misma. Si comparamos los cultivos (tanto positivos, como negativos) en el momento del diagnóstico con los resultados obtenidos en la muestra previa, son concordantes en 8 casos (72%). Hemos de tener en cuenta que la mayoría de trabajos sobre la realización de cultivos de vigilancia emplean muestras obtenidas mediante AT. Michael y cols. tomando cultivos de vigilancia mediante AT dos veces a la semana, consiguieron anticipar el diagnóstico de NAV hasta en un 83% de casos y un 95% de tratamientos adecuados ¹⁰³. Depuydt y cols. anticiparon la presencia de patógenos resistentes en el 69% de los casos ¹⁰⁸. Luna y cols. predijeron el microorganismo causal en el 46% de pacientes cuando el AT se tomaba entre 3 y 7 días antes que la técnica broncoscópica empleada en el diagnóstico de la NAV y en el 74% de las ocasiones si las muestras se realizaban en las 48 horas previas ¹⁰⁵. Los trabajos que emplean el m-LBA para la obtención de cultivos de vigilancia son escasos, en el estudio de Boots y cols. recuentos bacterianos significativos en m-LBA ($\geq 10^4$ ufc/ml) dos días previos al diagnóstico de una NAV mostraron una sensibilidad del 84%, pero con una especificidad de tan solo el 50% en el diagnóstico de NAV, teniendo en cuenta que este se basó además tan solo en criterios clínicos (CPIS) ¹⁰⁶. Comparado con el AT, mediante el m-LBA se obtienen muestras más distales, lo cual es aparentemente una ventaja, pero al tratarse de una técnica ciega es posible el infradiagnóstico de algunas neumonías (unilaterales izquierdas o lóbulos superiores) al no poder seleccionar el lugar para la toma de muestras, y por ello ser menos rentable que el AT.

Aunque a priori el número de aislamientos previos logrados puede parecer bajo, es destacable que mayoritariamente se trata de patógenos multirresistentes que se asocian a peor pronóstico, por lo que es importante su diagnóstico precoz. El uso de cultivos de vigilancia para identificar gérmenes resistentes puede ser especialmente importante en el caso de neumonías tardías, que tienen mayor riesgo de estar causadas por este tipo de patógenos, como también se concluye en el metaanálisis de Brusselaers ¹⁰⁹. Dado que se trata de una técnica con escasas complicaciones, es posible sea más útil incrementar la frecuencia de toma de muestras para mejorar su rentabilidad, aunque implica una sobrecarga de trabajo no despreciable, fundamentalmente para los servicios de microbiología, teniendo en cuenta que en la serie hubo 30 pacientes en los que no se desarrolló NAV y en los que también se tomaron muestras. En total se remitieron 131 muestras de m-LBA para cultivo al servicio de microbiología y tan solo en 4 casos tuvieron utilidad para anticipar el diagnóstico etiológico. En los 30 pacientes que no desarrollaron NAV se tomaron un total de 76 muestras de m-LBA de las que hubo 16 recuentos significativos, en 12 pacientes, pero sin cumplir criterios clínicos de neumonía lo que puede ser un factor de confusión. Ninguno de estos 16 aislamientos significativos correspondió a gérmenes multirresistentes, tratándose en 4 casos de aislamiento polimicrobiano, 3 casos de *Escherichia Coli* y *Enterobacter cloacae* en otras 3 ocasiones, *Staphylococcus aureus* sensible a metilicina en 2 casos, al igual que de *Staphylococcus coagulasa-negativo* (patógeno con dudoso papel como causante de NAV), y sendos aislamientos de *Proteus mirabilis* y *Serratia marcescens*. Si en lugar de emplear cultivos cuantitativos en las muestras de vigilancia se usan cultivos cualitativos, se corre aún más el riesgo de introducir posibles fallos de interpretación e inducir a un exceso de tratamiento.

Ante las dificultades para anticipar y confirmar la presencia de una NAV, se ha intentado mejorar la capacidad diagnóstica mediante la determinación de biomarcadores en diferentes fluidos. La agresión generada por la llegada de los patógenos a la vía aérea inferior y al espacio alveolar produce una respuesta inflamatoria con la intervención de reactantes de fase aguda y mediadores inflamatorios, cuyo objetivo es controlar la progresión de la infección y destruir

a los patógenos ²⁶. En esta reacción están implicadas citoquinas inflamatorias como el TNF- α , IL-1 β , IL-6 o IL-8 y antiinflamatorias como la IL-10. Estos mediadores promueven la migración celular de neutrófilos, linfocitos o plaquetas, con el objetivo de limitar la infección local y mantener compartimentalizada a nivel pulmonar dicha reacción inflamatoria, aunque también puede producirse una respuesta exagerada con consecuencias sistémicas ²⁷⁻²⁸. Se han detectado niveles altos de estas citoquinas en tejido pulmonar y sangre de pacientes con neumonía grave y se ha descrito que una respuesta inflamatoria desproporcionadamente incrementada predice la ausencia de respuesta al tratamiento y un mayor riesgo de muerte ^{29, 30}. En estudios experimentales de NAV inducida en animales se objetivó un incremento de las citoquinas inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) en el LBA y suero tras la inducción de una neumonía bacteriana, siendo mayor la respuesta inflamatoria a nivel pulmonar que sistémica, sugiriendo que la producción de citoquinas está compartimentalizada inicialmente ³¹. La PCR y la PCT son biomarcadores de inflamación e infección respectivamente, con valor diagnóstico y pronóstico. Se trata de estructuras peptídicas, sintetizadas a nivel parenquimatoso pero también por células del sistema inmune como monocitos o linfocitos, en respuesta a infecciones bacterianas así como a mediadores pro-inflamatorios como las citoquinas. Han sido ampliamente estudiados en una variedad de patologías y en diferentes muestras, fundamentalmente a nivel sistémico pero también localmente en pulmón ^{110, 111, 113, 123, 132, 137}.

Al tratarse de un proceso dinámico, sería esperable que los marcadores aumentaran a nivel pulmonar, incluso antes de que la infección estuviera clínicamente establecida, ayudándonos a anticipar el diagnóstico. Por ello el principal objetivo del proyecto, fue encontrar algún biomarcador medible en muestras respiratorias cuando el proceso infeccioso e inflamatorio está localizado a nivel pulmonar. A tal efecto se buscaron marcadores sencillos de determinar en muestras respiratorias obtenidas de forma segura a pie de cama del paciente. Se intentó determinar la evolución de PCT, PCR y PCR-us en el m-LBA de los pacientes ventilados y determinar su capacidad para anticipar el diagnóstico de la NAV.

Basalmente, los niveles de PCR-us fueron superiores en muestras pulmonares que sistémicas, con un valor de la mediana [P₂₅-P₇₅] en m-LBA de 212 ng/ml [97,5 - 358] respecto a sangre, donde fue de 63 mg/dl [39 - 125]. La PCR-us detecta niveles bajos de inflamación que pueden estar dándose a nivel local por la propia agresión de la VM, siendo sus valores pulmonares superiores a los sistémicos, aunque al tratarse de muestras diferentes los valores no tiene porque ser comparables. El nivel de PCR en sangre fue superior al detectado en m-LBA, sin embargo, como se comenta para el caso de la PCR-us no son muestras comparables. En nuestro caso, tanto la PCR como la PCR-us fueron indetectables en CAE. Está descrita la presencia de PCR-us en CAE en el seno de otras patologías, fundamentalmente en el asma ^{143, 163}, pero no así la PCR ¹⁶⁴. Los niveles de PCT fueron bajos en todas la muestras, tanto respiratorias (m-LBA y CAE) como a nivel sistémico en sangre. Como cabría esperar, los niveles basales de ninguno de estos marcadores (PCT, PCR ni PCR-us) en m-LBA, CAE o sangre predice el desarrollo de NAV, siendo sus niveles similares en los dos subgrupos de pacientes, como ya se ha visto con anterioridad ¹²¹. Respecto a las citoquinas, se ha descrito que los niveles de IL-6 en sangre, y no así la IL-1 β , IL-8, IL-10 o TNF- α , son más altos en un grupo de 9 pacientes que posteriormente desarrollaron una NAV frente a 35 que no lo hicieron ¹⁵². En el caso de la neumonía comunitaria, Yende y cols. detectaron que niveles elevados de TNF, IL-6 en sangre podían predecir el desarrollo futuro de una neumonía comunitaria en una cohorte de 3075 pacientes ancianos ¹⁶⁶. En nuestra serie, de todas las citoquinas analizadas a nivel basal, fue el TNF- α en sangre la única con capacidad para predecir la aparición de una NAV y no así el resto. A diferencia del trabajo que detecta la IL-6 sérica como predictiva del desarrollo de una NAV, en nuestro caso no excluimos pacientes con infección extrapulmonar en el momento de la inclusión, lo que puede modificar el patrón de respuesta inflamatoria sistémica en nuestros pacientes.

Respecto a la evolución de los biomarcadores, en el presente trabajo, se analiza la evolución de los 11 pacientes en que se diagnosticaron sendos episodios de NAV. En estos 11 casos, entre los biomarcadores estudiados en el m-LBA y pese al escaso tamaño de la muestra, destaca la evolución de la PCR-us y la PCT.

La PCR-us se incrementa de forma llamativa conforme nos aproximamos al diagnóstico de NAV, así se pasa de una mediana [P₂₅₋₇₅] de 106 ng/ml [22,8 - 151] en la “muestra -2”, a 341 ng/ml [119 - 744] en la muestra previa a la NAV (muestra -1) y hasta 456 ng/ml [311 - 707] en el momento del diagnóstico de la enfermedad, acercándose la diferencia entre la “muestra -2” y el momento del diagnóstico a la significación estadística ($p = 0,08$). En este sentido, para anticipar el diagnóstico de NAV, puede resultar de especial interés detectar de forma precoz niveles bajos de inflamación a nivel pulmonar mediante una técnica de alta sensibilidad para medir los niveles de PCR en m-LBA. Pocos trabajos han evaluado su valor en m-LBA en el seno de la NAV y su progresión en el tiempo antes de la presentación de la misma, lo que puede conferirle especial relevancia. En el estudio de Lissen y cols. se mide la PCR-us en el LBA de pacientes con sospecha de NAV pero sin confirmación microbiológica, frente a pacientes con NAV confirmada microbiológicamente no encontrando diferencias entre ambos grupos ¹²³. En el presente estudio, sin embargo, cuando se miden los niveles de PCR-us en el líquido de m-LBA en 4 pacientes que desarrollan NAV al 10º día de VM, respecto a aquellos que no la padecen para los mismos días de evolución, su valor es significativamente superior en el grupo de NAV pese al reducido tamaño muestral, con una mediana [P₂₅₋₇₅] de 680 ng/ml [426 - 902], frente a 137 ng/ml [81 - 155] en el grupo sin NAV ($p < 0,05$). No encontramos diferencias para este marcador en el resto de días de evolución, probablemente por el heterogéneo número de pacientes en cada grupo. Pese al riesgo de determinar PCs con tan escaso volumen de pacientes, en vista de los resultados obtenidos en las curvas ROC se puede detectar un PC predictivo de enfermedad de la PCR-us en m-LBA de 235,5 ng/ml con una sensibilidad y especificidad del 100%. Sin embargo, ante el pequeño tamaño de la muestra, sería arriesgado considerar este PC altamente fiable a la hora de diagnosticar la NAV, ya que al disponer de información de tan pocos sujetos es difícil precisar que los niveles registrados sean representativos de la población global, aunque sí podrían utilizarse como un indicativo de valores predictivos de la enfermedad. A nivel sistémico, al contrario que en el m-LBA, la PCR-us no muestra elevación progresiva y los niveles en los pacientes que desarrollan NAV al 10º día de VM tienden a ser superiores respecto a los que no, con una mediana [P₂₅₋₇₅] de 155 ng/ml [68 -

216] en los pacientes con NAV frente a 36,5 ng/ml [34 - 43,2] en los casos sin la patología (p 0,08). Es además destacable que los niveles en m-LBA son superiores a los sistémicos lo que podría apoyar la compartimentalización inicial de este proceso a nivel pulmonar. Sin embargo ya hemos comentado que las muestras no son comparables. Podría ser de utilidad como hace Milo y cols., en su caso de las citoquinas, establecer una ratio entre los valores sistémicos y en LBA y comparar entonces su evolución ¹⁵⁰.

En m-LBA la determinación de PCR por métodos convencionales no mostro suficiente sensibilidad. En cambio la determinación mediante métodos ultrasensibles sí que demostró su validez mostrando un aumento llamativo en los pacientes diagnosticados de NAV. Así como se detectan niveles bajos de inflamación por medio de la PCR-us en el m-LBA, no ocurre lo mismo con los valores de la PCR, cuyos niveles fueron bajos y no mostraron variaciones significativas en su evolución. Hay que recordar que la PCR es fundamentalmente de producción hepática y no pulmonar, por lo que, quizás se puedan detectar niveles de inflamación bajos mediante la PCR-us pero no con la PCR. Los niveles de PCR detectados en m-LBA varían desde una mediana [P₂₅₋₇₅] de 0 mg/l [0 - 0,1] en la “muestra -2” a 0,45 mg/l [0 - 1] en la “muestra -1” y a 0,15 mg/l [0,10 - 0,60] en el momento del diagnóstico. A nivel sistémico, como cabría esperar de acuerdo a la evidencia previa sí se produjo una progresión significativa de los mismos. En sangre va incrementándose desde una mediana [P₂₅₋₇₅] de 41 mg/l [8 - 101] en la “muestra -2” a 89 mg/l [72 - 230] en la “muestra -1” hasta 148 mg/l [82 - 230] en el momento de la NAV (p < 0,05). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas a nivel local, en m-LBA, entre los pacientes que desarrollan NAV o no, que sí se aprecian a nivel sistémico, de forma que los niveles en sangre en los pacientes con NAV al 10º día de VM son superiores a los de los pacientes sin NAV de forma significativa con una mediana [P₂₅₋₇₅] de PCR en sangre de 257 mg/l [167 - 357] frente a 102 mg/l [58 - 137]. Como vimos en el caso de la PCR-us en m-LBA, y teniendo en cuenta el reducido tamaño muestral, en vista de los resultados obtenidos en las curvas ROC podemos detectar un PC_c de PCR en sangre de 136 mg/l, indicativo de valores predictivos de enfermedad, con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 75%, mientras que si tomamos como PC 168,5 mg/l, tendremos una prueba con una sensibilidad del 75,0% y una

especificidad del 100%. Aunque no existe una concordancia definida en los resultados de los diferentes estudios ^{118, 121, 137}, los valores obtenidos en sangre en el presente trabajo van en la línea de otros. Povoia y cols. estudiaron el valor diagnóstico de la PCR en sangre en pacientes con NAV y para un PC de 9,6 mg/dl encontraron una sensibilidad del 87% y una especificidad del 86,1% ¹³⁷. Por su parte, Ramírez y cols. también obtuvieron resultados positivos en el seguimiento de pacientes ventilados, así, con un valor de 196,9 mg/l lograron una buena especificidad del 91% pero con una sensibilidad muy baja (56%) con un elevado número de falsos positivos en el diagnóstico de NAV ¹²¹. Respecto a los niveles de PCR en el m-LBA, que hasta el momento no han mostrado utilidad diagnóstica y pronóstica en la evaluación de la neumonía, tanto comunitaria como en la NAV ^{121, 123, 140}, en el presente estudio tampoco han tenido resultados significativos.

En relación a la PCT en el m-LBA, se objetivó un incremento de sus niveles conforme son más próximos en el tiempo al diagnóstico de NAV. Es adecuado recordar que la PCT se segrega fundamentalmente en respuesta a infecciones bacterianas y ante mediadores pro-inflamatorios del huésped producidos en estas infecciones (IL-1 β , TNF- α e IL-6) por múltiples células y tejidos, principalmente del sistema neuroendocrino a nivel pulmonar (K-cells), intestinal o células tiroideas y también por varias células parenquimatosas (incluyendo el hígado y el riñón), así como monocitos ¹¹⁰⁻¹¹². También se produce, en el foco bacteriano en las fases iniciales de la NAV, por parte de monocitos y macrófagos durante un período corto de tiempo, por lo que su determinación en m-LBA puede contribuir a su diagnóstico precoz. En los pacientes que desarrollaron la patología, al igual que vemos en el caso de la PCR-us en el m-LBA, y aunque los niveles son bajos, observamos un aumento progresivo de los valores conforme nos acercamos en el tiempo al momento del diagnóstico de la NAV. Así el valor de la mediana [P₂₅₋₇₅] en la “muestra -2” es de 0,18 ng/ml [0,13-0,20], de 0,19 ng/ml [0,17- 0,20] en la “muestra -1” y de 0,21 ng/ml [0,19- 0,59] en el momento de la NAV, siendo además las diferencias significativas entre la “muestra -2” respecto al valor de referencia, que es el del momento de diagnóstico clínico de la NAV. Por tanto el incremento progresivo a nivel local, pulmonar, de la PCT puede contribuir en el diagnóstico de la NAV. Cuando se analizan los niveles de PCT en m-LBA entre

aquellos pacientes que desarrollaron o no la NAV, no se encontraron diferencias significativas, con un valor de mediana [P₂₅₋₇₅] de 0,23 ng/ml [0,2 - 0,42], frente a 0,18 [0,13 - 0,23] (p = 0,3). Aunque puede ser difícil detectar diferencias con tan pocos casos, pese a que si se encontraron para la PCR-us con el mismo número de pacientes, tampoco se ha demostrado su relación en trabajos previos. No hay demasiados estudios que analicen de forma prospectiva la evolución de la PCT en el m-LBA para anticipar el diagnóstico de NA, aunque sí los hay que relacionan sus niveles para discriminar la presencia de la misma sin llegar a resultados definitivos. El trabajo de Dufflo y cols. mide los niveles de PCT en sangre y líquido de m-LBA en pacientes que desarrollan NAV frente a pacientes con sospecha clínica pero no confirmada y un grupo control ¹¹⁷. Aunque encuentra valor diagnóstico en los niveles de PCT en sangre no ocurre lo mismo con los niveles en m-LBA, pese a que en los dos primeros grupos los niveles sí son significativamente superiores respecto a los controles. Otros autores emplean la PCT ultrasensible para determinar este marcador en LBA, dado que su concentración puede estar por debajo del límite de detección con el LUMI Test y no se ha validado definitivamente su empleo en estas muestras ¹²³. Tampoco Ramírez y cols. objetivaron diferencias entre los niveles de PCT en m-LBA en un grupo de 11 pacientes con sospecha clínica de NAV frente a 9 casos con NAV confirmada microbiológicamente empleando el analizador Kryptor (Brahms Diagnóstica Berlín) para la determinación más sensible de PCT ¹²¹. En el presente trabajo, como en el de Dufflo, al hacer la determinación en líquido de m-LBA que emplea volúmenes de dilución muy inferiores al LBA, sí encontramos cantidades que aunque bajas son detectables mediante LUMI Test. Se aprecia, un tímido, aunque significativo incremento de los niveles conforme se desarrolla la NAV, pero no se detectan diferencias entre los pacientes con o sin dicha patología, lo que podría deberse a los pocos casos estudiados.

La medición de la PCT en sangre como marcador de infección bacteriana ha sido ampliamente estudiada y se ha propuesto para guiar el tratamiento antibiótico en diferentes grupos de pacientes, e incluso para limitar el empleo y duración del tratamiento antibiótico sin afectar el pronóstico del proceso ¹¹⁴⁻¹¹⁶. En el escenario concreto de la NAV, su determinación en sangre para el reconocimiento y diagnóstico de la misma ha sido evaluada en

varios trabajos con series limitadas de pacientes, con resultados heterogéneos y sin conseguir definir un valor de PCT ¹¹⁷⁻¹²¹. En nuestro grupo de pacientes, el valor de la PCT en sangre, como cabía esperar también se incrementa significativamente en el momento del diagnóstico de la NAV respecto a los valores medidos seis días antes, con un valor de mediana [P₂₅₋₇₅] al diagnóstico de 0,69 ng/ml [0,27 - 2,70] frente a 0,30 ng/ml [0,13 - 1,13] ng/ml en la “muestra -2” (p < 0,05) y aún más altos de forma precoz en la muestra extraída previamente a la NAV (“muestra -1”) con un nivel de 0,91 ng/ml [0,51 - 1,85]. Sin embargo, al comparar los 4 pacientes que desarrollan NAV frente a quienes no lo hacen al 10º día de VM, no se aprecian diferencias, lo que podría explicarse, una vez más, por el tamaño reducido de la serie.

Al analizar la PCR-us, PCR y PCT en CAE no se logró información útil en el diagnóstico precoz de la NAV. No se detectaron niveles de PCR en CAE, ni siquiera mediante la técnica de detección ultrasensible por ELISA de alta sensibilidad. Esto pudo deberse al relativamente elevado tamaño de esta proteína que alcanza los 224 residuos y posee un peso molecular de más de 100000 daltons. Aunque escasos, hay trabajos donde se determina este biomarcador en el CAE, principalmente en el terreno del asma, detectando niveles elevados de PCR mediante técnica de ultrasensible ¹⁶¹ pero no mediante técnica habitual ¹⁶². El papel de la PCR en CAE en el seno de la neumonía no se ha explorado previamente y su uso no está avalado, en el presente trabajo, tampoco se pudo demostrar su utilidad al no haber sido sus niveles detectables. Sí se pudo medir la PCT en el CAE, pero los niveles fueron bajos, en torno a 0,2 ng/ml y se mantuvieron estables en la evolución de los pacientes que tuvieron una NAV. No se objetivaron diferencias en los valores de PCT en el CAE entre los pacientes que desarrollaron o no NAV y en la literatura tampoco se encuentra definido un valor de este marcador de infección para este tipo de muestra.

Cuando se analiza la evolución de las citoquinas tanto en el m-LBA como en el resto de muestras no se encuentra un patrón evolutivo definido. Las citoquinas son moléculas de bajo peso molecular, normalmente entre 15-30 KDa, constituidas por 120-180 aminoácidos. Aunque en general están producidas por leucocitos, algunas pueden también ser secretadas por otros

muchos tipos celulares. Son moléculas que poseen una vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones, del orden de picogramos, mediante la unión a receptores de alta afinidad. Las citoquinas ejercen un efecto autocrino cuando se unen a receptores presentes en la propia célula productora. También pueden tener un efecto paracrino, actuando sobre tipos celulares en su vecindad. En algunos casos pueden liberarse a la circulación sanguínea o linfática, ejerciendo su efecto a distancia, actuando como las hormonas, de forma endocrina. Los efectos biológicos de las citoquinas pueden ser muy variados, intervienen en la embriogénesis, en procesos neuroinmunes, muchas son importantes reguladores, tanto positivos como negativos, de acontecimientos celulares como la mitosis, la diferenciación, la migración, la supervivencia o la muerte celular. Pero en nuestro caso son de especial interés al desempeñar un papel esencial en las respuestas inmunes. Algunas de ellas como el TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 o IL-10 se producen de forma inmediata tras el contacto de las células implicadas en las respuestas inmunes innatas con un agente extraño. Los monocitos y macrófagos activados son la principal fuente de estas moléculas, aunque también pueden ser producidas por linfocitos activados y otras células no pertenecientes al sistema inmune, como células endoteliales y fibroblastos.

Los niveles de citoquinas en LBA han sido analizados en diferentes patologías. En el estudio de Schütte y cols. publicado en 1996, con 74 pacientes bajo VM, los niveles de IL-6 e IL-8 en líquido de LBA en pacientes con SDRA y/o neumonía grave fueron significativamente superiores respecto a los que sufrían edema pulmonar cardiogénico, no ocurriendo lo mismo en el caso del TNF- α ²⁹. En el seno de la neumonía comunitaria que requiere VM, algunas citoquinas pueden tener valor pronóstico y relacionarse con la carga bacteriana. Lee y cols. detectaron niveles superiores de TNF- α en LBA en aquellos pacientes que tenían mayor supervivencia ¹⁴⁰. Wu y cols. encontraron una correlación entre niveles más altos de IL-1 β en el LBA de los pacientes con mayor carga bacteriana ¹⁴⁷. En el caso de la NAV, la determinación de citoquinas en diferentes muestras biológicas, entre ellas líquido de LBA, se ha llevado a cabo en diversos trabajos con resultados dispares y con niveles diferentes según los estudios. Gibot y cols. encontraron niveles significativamente superiores en el LBA de pacientes con NAV de IL-1 β (95,1 \pm

29,4 pg/ml) y TNF- α (290,5 \pm 39,7 pg/ml) respecto a casos sin neumonía (41,5 \pm 12,5 pg/ml y 147,2 \pm 25,1 pg/ml respectivamente) ¹¹⁹. Milo y cols. examinaron los niveles de citoquinas en 9 pacientes con NAV frente a 19 controles y también encontraron niveles superiores de IL-1 β y TNF- α en aquellos con la patología y además la relación entre los niveles en LBA / suero de TNF- α e IL-6 era mayor conforme se desarrollaba la infección lo que sugiere que la producción de las mismas está inicialmente compartimentalizada a nivel pulmonar ¹⁵⁰. Sin embargo, los estudios de Montón ¹⁵¹ y Ramírez ¹⁵² no objetivaron diferencias, aunque en el primer caso la IL-6 alveolar mostró una tendencia a ser de mayor entidad en el grupo con NAV. En otra experiencia, Determann y cols, no lograron encontrar un valor de TNF- α , IL-1 β o IL-6 en el LBA para el diagnóstico de NAV, al apreciar baja sensibilidad y especificidad en los puntos de corte estudiados ¹⁵³.

En la presente serie, excepto en algún caso aislado, no se encontraron variaciones significativas en los niveles de las citoquinas analizadas en m-LBA, ni una cinética clara, ni diferencias entre los pacientes que desarrollan NAV y los que no. Por tanto, no resultaron de utilidad en la predicción y diagnóstico de la enfermedad. Llama la atención, salvo en el caso del TNF- α , que los niveles de las citoquinas estudiadas tienden a disminuir en la muestra previa al diagnóstico de NAV, siendo este descenso solo significativo en el caso de la IL-8. Esta presenta una mediana (P₂₅₋₇₅) en m-LBA en la “muestra -2” de 2665 (779 - 3327) pg/ml, para descender a 446 (52 - 1029) pg/ml en la “muestra -1” y elevarse de nuevo a 2460 (1189 - 3357) pg/ml en el momento del diagnóstico de NAV. Es destacable lo elevado de sus niveles, superiores a los registrados a nivel sistémico, o en el CAE (donde son hasta 1000 veces inferiores) y mucho mayores que los de las demás citoquinas, sin que podemos encontrar una explicación clara ni hayamos visto reproducidos resultados similares en trabajos previos.

Respecto a los niveles en suero, tampoco se encuentra un patrón evidente. Tan solo destaca que los niveles sanguíneos de IL-6 e IL-8 tienden a elevarse progresivamente, aunque no lo hacen de manera significativa. Revisando resultados previos en relación al análisis de citoquinas sistémicas en el caso de la NAV no se encuentran, tampoco, resultados concluyentes. En

los estudios de Bauer ¹⁴⁸ y Bonten ¹⁴⁹ la determinación de citoquinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6) no resultó útil para diagnosticar NAV. Bonten analizó además la evolución de IL-8 e IL-6 en la sangre de los pacientes que desarrollaron NAV comparado con un grupo control sin que el diagnóstico de NAV se asociara a un incremento de los niveles de dichos marcadores, salvo en un subgrupo de 10 pacientes que desarrollaron una NAV complicada con sepsis severa o shock séptico donde observó un claro incremento, considerando a los mismos como marcadores de gravedad y expresión sistémica. Millo y cols. a diferencia de lo que objetivaron a nivel de LBA tampoco vieron diferencias en los niveles séricos de diversas citoquinas (TNF- α , IL-1 α , IL-1 β e IL-6) en los pacientes sometidos a VM que desarrollaron NAV ¹⁵⁰. En contraposición, tanto Montón y cols. ¹⁵¹ como Ramírez y cols. ¹⁵² si evidenciaron que la determinación en suero de TNF- α , IL-6 eran capaces de identificar a los pacientes con NAV. En el caso de Montón, que mide citoquinas en sangre y LBA de pacientes ventilados que desarrollan NAV, estos presentan niveles más altos en sangre de TNF- α e IL-6 que los controles y además los niveles de estas citoquinas se relacionan con las escalas de fallo de órganos. Ramírez por su parte, encontró cifras de IL-6 en sangre superiores en pacientes en los que se confirmó la NAV respecto de aquellos en los que no, no siendo así en el caso de la IL-8.

La determinación de citoquinas en el CAE ha sido de utilidad en múltiples patologías incluyendo pacientes sometidos a VM con SDRA o lesión pulmonar aguda ^{129, 154, 155}, por EPOC ¹⁵⁶ e incluso en pacientes sin patología pulmonar sometidos a VM por otras razones ¹⁵⁷. Sin embargo no encontramos estudios específicos referentes a la neumonía nosocomial. En nuestros pacientes las citoquinas analizadas muestran niveles bajos y su evolución no sigue ningún patrón que nos ayude a predecir la aparición de una NAV ni presenta niveles diferentes en el momento del diagnóstico respecto de aquellos pacientes que no la desarrollan.

7. CONCLUSIONES

1. La PCT y la PCR-us se elevan progresivamente en el líquido obtenido mediante minilavado broncoalveolar en los pacientes que desarrollan neumonía asociada a ventilación mecánica, siendo este incremento significativo en el caso de la PCT, lo que podría convertirlos en biomarcadores útiles para el diagnóstico precoz de esta enfermedad.

Los resultados de los cultivos de vigilancia en minilavado broncoalveolar, fueron útiles para anticipar el microorganismo causante de la neumonía asociada al ventilador en el 36% de los casos, siendo la mayoría gérmenes multiresistentes, lo que resulta de especial relevancia al estar estos asociados a mayor morbimortalidad y ser de vital importancia administrar un tratamiento antibiótico dirigido.

2. Como era previsible, y de acuerdo con la evidencia existente, los niveles en sangre de PCR y PCT también se incrementaron de forma progresiva y significativa al producirse la neumonía asociada a ventilación mecánica.

El análisis de muestras pulmonares obtenidas mediante condensado de aire exhalado no detectó niveles de PCR (medida tanto por método convencional como de alta sensibilidad) y los valores de la PCT fueron bajos, no presentando variaciones en relación con la aparición de la neumonía asociada al ventilador.

No se encontró ningún patrón definido en la evolución de las citoquinas analizadas (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 o IL-10) en ninguna de las tres muestras de estudio (minilavado broncoalveolar, sangre o condensado de aire exhalado).

3. Los niveles detectados PCR-us en minilavado broncoalveolar y de PCR en sangre de los 4 pacientes que desarrollaron neumonía al 10^o día de ventilación mecánica fueron superiores respecto de los que no la sufrieron. Pese al riesgo de dar un punto de corte con tan escaso volumen de pacientes, se podría considerar un valor de la PCR-us en minilavado broncoalveolar de 235,5 ng/ml como predictivo de neumonía asociada a

ventilación mecánica, con buena sensibilidad y especificidad, aunque dado el reducido número de pacientes es difícil precisar que los niveles registrados sean representativos de la población global. También la PCR en sangre, con las mismas precauciones comentadas, fue superior en los pacientes con neumonía asociada a ventilación mecánica al 10º día de ventilación. Niveles entre 136 mg/l (sensibilidad del 100,0% y una especificidad del 75,0) y 168,5 mg/l, (sensibilidad del 75,0%, especificidad del 100%) podrían ser predictivos de la enfermedad.

Aunque se trata de una serie reducida de pacientes, se ha encontrado un incremento progresivo de los valores de PCT y PCR-us en el minilavado broncoalveolar en aquellos que desarrollan una neumonía asociada al ventilador; además de valores significativamente más altos de PCR-us en los pacientes con neumonía respecto a quienes no la sufren. No se puede descartar que la ausencia de cambios significativos del resto de marcadores así como en las demás muestras se deba al tamaño reducido de la muestra.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(4): 388-416.
2. Niederman MS. Hospital-acquired pneumonia, ventilator-associated pneumonia, and ventilator-associated tracheobronchitis: definitions and challenges in trial design. *Clin Infect Dis.* 2010; 51(Suppl 1): S12-7.
3. Haley RW, Hooton TM, Culver DH, Stanley RC, Emori TG, Hardison CD, et al. Nosocomial infections in US hospitals, 1975–76: Estimated frequency by selected characteristics of patients. *Am J Med.*1981; 70(4): 947-59.
4. Rello J, Diaz E, Rodríguez A. Advances in the management of pneumonia in the intensive care unit: review of current thinking. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11 Supl 5: S30-8.
5. Tablan OC, Anderson LJ, Besser R, Bridges C, Hajjeh R. Guidelines for preventing health-care–associated pneumonia, 2003: recommendations of the CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep* 2004; 53(RR03): 1-36.
6. Olaechea PM, Ulibarrena MA, Alvarez-Lerma F, Insausti J, Palomar M, De la Cal MA. ENVIN-UCI Study Group. Factors related to hospital stay among patients with nosocomial infection acquired in the intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.*2003; 24(3): 207-13.
7. Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, Griffith LE, Guyatt GH, Leasa D, et al. Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med.*1998; 129(6): 433-40.
8. Lambert ML, Palomar M, Agodi A, Hiesmayr M, Lepape A, Ingenbleek A, et al. Prevention of ventilator-associated pneumonia in intensive care units: an international online survey. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2013; 2(1): 9.
9. Kollef MH. What Is Ventilator-Associated Pneumonia and Why Is It Important? *Respir Care.* 2005; 50(6): 714-21
10. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, Vera-Llonch M, Bellm L, Redman R, et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest* 2002(6); 122: 2115-21.
11. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT, et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-

- analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(8): 665-71.
12. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 165(7): 867-903.
 13. Olaechea PM. Infecciones bacterianas en el paciente crítico: revisión de los estudios publicados entre 2006 y 2008. *Med Intensiva*. 2009; 33(4): 196-206.
 14. Zhang P, Summer WR, Bagby GJ, Nelson S. Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol Rev* 2000; 173: 39-51
 15. Safdar N, Crnich CJ, Maki DG. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: its relevance to developing effective strategies for prevention. *Respir Care* 2005; 50(6): 725-41.
 16. Kollef MH. Prevention of hospital-associated pneumonia and ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2004; 32(6): 1396-405.
 17. Craven DE, Steger KA. Nosocomial pneumonia in mechanically ventilated adult patients: epidemiology and prevention in 1996. *Semin Respir Infect* 1996; 11(1): 32-53
 18. Cook D, De Jonghe B, Brochard L, Brun-Buisson C. Influence of airway management on ventilator-associated pneumonia: evidence from randomized trials. *JAMA* 1998; 279(10): 781-7.
 19. Cardeñosa Cendrero JA, Sole-Violan J, Bordes Benítez A, Noguera Catalán J, Arroyo Fernández J, Saavedra Santana P, et al. Role of different routes of tracheal colonization in the development of pneumonia in patients receiving mechanical ventilation. *Chest* 1999; 116(2): 462-70.
 20. Torres A, el-Ebiary M, Gonzalez J, Ferrer M, Puig de la Bellacasa J, Gené A, et al. Gastric and pharyngeal flora in nosocomial pneumonia acquired during mechanical ventilation. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148(2): 352-7.
 21. Garrouste-Orgeas M, Chevret S, Arlet G, Marie O, Rouveau M, Popoff N, et al. Oropharyngeal or gastric colonization and nosocomial pneumonia in adult intensive care unit patients. A prospective study based on genomic DNA analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156(5): 1647-55.
 22. Nseir S, Di Pompeo C, Pronnier P, Beague S, Onimus T, Saulnier F, et al. Nosocomial tracheobronchitis in mechanically ventilated patients: incidence, aetiology and outcome. *Eur Respir J* 2002; 20(6): 1483-9.

23. Rello J, Quintana E, Ausina V, Castella J, Luquin M, Net A, et al. Incidence, etiology, and outcome of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Chest* 1991; 100(2): 439-44.
24. Diaz E, Rodriguez AH, Rello J. Ventilator-Associated Pneumonia: Issues Related to the Artificial Airway. *Respir Care*. 2005; 50(7): 900-6.
25. Trouillet JL, Chastre J, Vuagnat A, Joly-Guillou ML, Combaut D, Dombret MC, et al. Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drug-resistant bacteria. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157(2): 531-9.
26. Luna CM, García Morato J. Modelos animales de neumonía asociada a ventilación mecánica. En: Garnacho-Montero J, coordinador. *Neumonía Asociada a Ventilación Mecánica*. Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de SEMICYUC. Madrid: Entheos; 2009. p 21-33.
27. Sibille Y, Reynolds HY. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141(2): 471-501.
28. Nelson S, Bagby GJ, Bainton BG, Wilson LA, Thompson JJ, Summer WR. Compartmentalization of intraalveolar and systemic lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and the pulmonary inflammatory response. *J Infect Dis* 1989; 159(2): 189-94.
29. Schutte H, Lohmeyer J, Rosseau S, Ziegler S, Siebert C, Kielisch H, et al. Bronchoalveolar and systemic cytokine profiles in patients with ARDS, severe pneumonia and cardiogenic pulmonary oedema. *Eur Respir J* 1996; 9(9): 1858-67.
30. Ioanas M, Ferrer M, Cavalcanti M, Ferrer R, Ewig S, Filella X, et al. Causes and predictors of non-response to treatment of ICU-acquired pneumonia. *Crit Care Med* 2004; 32(4): 938-45.
31. Sibila O, Agustí C, Torres A, Baquero S, Gando S, Patrón JR, et al. Experimental *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia: evaluation of the associated inflammatory response. *Eur Respir J* 2007; 30(6): 1167-72.
32. Jones RN. Microbial etiologies of hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated bacterial pneumonia. *Clin Infect Dis* 2010; 51 Supl 1: S81-7.
33. Park DR. The microbiology of Ventilator-associated pneumonia. *Respir Care* 2005; 50(6): 742-63.
34. Martin-Loeches I, Deja M, Koulenti D, Dimopoulos G, Marsh B, Torres A, et al. EU-VAP Study Investigators. Potentially resistant microorganisms in

- intubated patients with hospital-acquired pneumonia: the interaction of ecology, shock and risk factors. *Intensive Care Med* 2013; 39(4): 672-81.
35. Coffin SE, Klompas M, Classen D, Arias KM, Podgorny K, Anderson DJ, et al. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia in acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29 Supl 1: S31-40.
 36. Hortal J, Giannella M, Pérez MJ, Barrio JM, Desco M, Bouza E, et al. Incidence and risk factors for ventilator-associated pneumonia after major heart surgery. *Intensive Care Med* 2009; 35(9): 1518-25.
 37. Lorente L, Blot S, Rello J. Evidence on measures for prevention in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2007; 30(6): 1193-207.
 38. Rello J, Lode H, Cornaglia G, Masterton R; VAP Care Bundle Contributors. A European care bundle for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2010; 36(5): 773-80.
 39. Bouadma L, Deslandes E, Lolom I, Le Corre B, Mourvillier B, Regnier B, et al. Long-term impact of a multifaceted prevention program on ventilator-associated pneumonia in a medical intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2010; 51(10): 1115-22.
 40. Díaz L, Llauradó M, Rello J, Restrepo MI. Prevención no farmacológica de la neumonía asociada a ventilación mecánica. *Arch Bronconeumol* 2010; 46(4): 188-95.
 41. Calvo M, Delpiano L, Chacón E, Jemenao I, Peña A, Zambrano A. Actualización. Consenso Neumonía asociada a ventilación mecánica. Segunda parte. Prevención. *Rev Chilena Infectol.* 2011; 28(4): 316-32.
 42. Bercault N, Wolf M, Runge I, Fleury JC, Boulain T. Intrahospital transport of critically ill ventilated patients: a risk factor for ventilator-associated pneumonia - a matched cohort study. *Crit Care Med* 2005; 33(11): 2471-8.
 43. Burns KE, Adhikari NK, Meade M. A meta-analysis of noninvasive weaning to facilitate liberation from mechanical ventilation. *Can J Anaesth* 2006; 53(3): 305-15.
 44. Burns KE, Adhikari NK, Keenan SP, Meade M. Use of non-invasive ventilation to wean critically ill adults off invasive ventilation: meta-analysis and systematic review. *BMJ* 2009; 338: b1574.
 45. Muscedere J, Rewa O, McKechnie K, Jiang X, Laporta D, Heyland DK. Subglottic secretion drainage for the prevention of ventilator-associated

- pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2011; 39(8): 1985-91.
46. Kollef MH, Afessa B, Anzueto A, Veremakis C, Kerr KM, Margolis BD, et al. NASCENT Investigation Group. Silver-coated endotracheal tubes and incidence of ventilator-associated pneumonia: the NASCENT randomized trial. *JAMA* 2008; 300(7): 805-13.
 47. Quenot JP, Thiery H, Barbar S. When should stress ulcer prophylaxis be used in ICU?. *Curr Opin Crit Care* 2009; 15(2): 139-43.
 48. Prod'hom G, Leuenberger P, Koerfer J, Blum A, Chiolerio R, Schaller MD, et al. Nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients receiving antacid, ranitidine, or sucralfate as prophylaxis for stress ulcer. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 1994; 120(8): 653-62.
 49. Herzig SJ, Howell MD, Ngo LH, Marcantonio ER. Acid-suppressive medication use and the risk for hospital-acquired pneumonia. *JAMA* 2009; 301(20): 2120-8.
 50. Eom CS, Jeon CY, Lim JW, Cho EG, Park SM, Lee KS. Use of acid-suppressive drugs and risk of pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ* 2011; 183(3): 310-9.
 51. Chan EY, Ruest A, Meade MO, Cook DJ. Oral decontamination for prevention of pneumonia in mechanically ventilated adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2007; 334: 889.
 52. D'Amico R, Pifferi S, Leonetti C, Torri V, Tinazzi A, Liberati A. Effectiveness of antibiotic prophylaxis in critically ill adult patients: systematic review of randomised controlled trials. *BMJ* 1998; 316(7140): 1275-85.
 53. Silvestri L, van Saene HK, Casarin A, Berlot G, Gullo A. Impact of selective decontamination of the digestive tract on carriage and infection due to Gram-negative and Gram-positive bacteria: a systematic review of randomised controlled trials. *Anaesth Intensive Care* 2008; 36(3): 324-38.
 54. de Smet AM, Kluytmans JA, Cooper BS, Mascini EM, Benus RF, van der Werf TS, et al. Decontamination of the digestive tract and oropharynx in ICU patients. *N Engl J Med* 2009; 360(1): 20-31.
 55. de Smet AM, Kluytmans JA, Blok HE, Mascini EM, Benus RF, Bernards AT, et al. Selective digestive tract decontamination and selective oropharyngeal decontamination and antibiotic resistance in patients in intensive-care units:

- an open-label, clustered group-randomised, crossover study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(5): 372-80.
56. Sánchez García M. Empleo de la descontaminación digestiva selectiva. La eterna controversia. En: Garnacho-Montero J, coordinador. *Neumonía Asociada a Ventilación Mecánica*. Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de SEMICYUC. Madrid: Entheos; 2009. p 47-55.
 57. Han J, Liu Y. Effect of ventilator circuit changes on ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Respir Care* 2010; 55(4): 467-74.
 58. Meduri GU. Diagnosis and differential diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Clin Chest Med* 1995; 16(1): 61-93.
 59. Craven DE, Hjalmarson KI. Ventilator-associated tracheobronchitis and pneumonia: thinking outside the box. *Clin Infect Dis* 2010; 51 Supl1: S59-66.
 60. Dallas J, Kollef M. VAT vs VAP: are we heading toward clarity or confusion. *Chest* 2009; 135(2): 252-5.
 61. Rea-Neto A, Youssef NC, Tuche F, Brunkhorst F, Ranieri VM, Reinhart K, et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a systematic review of literature. *Crit Care* 2008; 12(2): R56.
 62. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Domart Y, Trouillet JL, Gibert C. Evaluation of clinical judgement in the identification and treatment of nosocomial pneumonia in ventilated patients. *Chest* 1993; 103(2): 547-53.
 63. Torres A, Carlet J. Ventilator-associated pneumonia. European Task Force on ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2001; 17(5): 1034-45.
 64. Niederman MS. The clinical diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Respir Care* 2005; 50(6): 778-96.
 65. Chastre J, Combes A, Luyt CE. The invasive (quantitative) diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Respir Care* 2005; 50(6): 797-807.
 66. Kollef MH. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med* 2006; 355(25): 2961-3.
 67. Torres A, Ewig S, Lode H, Carlet J. European HAP working group. Defining, treating and preventing hospital acquired pneumonia: European perspective. *Intensive Care Med* 2009; 35(1): 9-29.
 68. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, Day CM, Ciemins J, Lacher DA. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992; 101(2): 458-63.

69. Johanson WG, Pierce AK, Sanford JP, Thomas GD. Nosocomial respiratory infections with gram-negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. *Ann Intern Med* 1972; 77(5): 701-6.
70. Fàbregas N, Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Ramirez J, de La Bellacasa JP, et al. Clinical diagnosis of ventilator-associated pneumonia revisited: comparative validation using immediate post-mortem lung biopsies. *Thorax* 1999; 54(10): 867-73.
71. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143(5): 1121-29.
72. Fartoukh M, Maitre B, Honoré S, Cerf C, Zahar JR, Brun-Buisson C. Diagnosing pneumonia during mechanical ventilation: the clinical pulmonary infection score revisited. *Am J Respir Crit Care* 2003; 168(2):173-79.
73. Lauzier F, Ruest A, Cook D, Dodek P, Albert M, Shorr AF, et al. Canadian Critical Care Trials Group. The value of pretest probability and modified clinical pulmonary infection score to diagnose ventilator-associated pneumonia. *J Crit Care* 2008; 23(1): 50-7.
74. Zilberberg MD, Shorr AF. Ventilator-associated pneumonia: the Clinical Pulmonary Infection Score as a surrogate for diagnostics and outcome. *Clin Infect Dis* 2010; 51 Supl 1: S131-5.
75. Singh N, Rogers P, Atwood CW, Wagener MM, Yu VL. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit: a proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(2): 505-11
76. Luna CM, Blanzaco D, Niederman MS, Matarucco W, Baredes NC, Desmery P, et al. Resolution of ventilator-associated pneumonia: Prospective evaluation of the clinical pulmonary infection score as an early clinical predictor of outcome. *Crit Care Med* 2003; 31(3): 676-82
77. Flanagan PG, Findlay GP, Magee JT, Ionescu A, Barnes RA, Smithies M. The diagnosis of ventilator-associated pneumonia using non-bronchoscopic, non-directed lung lavages. *Intensive Care Med* 2000; 26(1): 20-30.
78. Papazian L, Thomas P, Garbe L, Guignon I, Thirion X, Charrel J, et al. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(6): 1982-91.

79. Estella García A. Métodos diagnósticos de la neumonía asociada a ventilación mecánica: ¿aspirado traqueal o técnicas invasivas?. En: Garnacho-Montero J, coordinador. Neumonía Asociada a Ventilación Mecánica. Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de SEMICYUC. Madrid: Entheos; 2009. p 93-105.
80. Fica A, Cifuentes M, Herve B. Actualización del Consenso. Neumonía asociada a ventilación mecánica. Primera parte, Aspectos diagnósticos. Rev Chil Infect 2011; 28(2):130-51.
81. Marquette CH, Copin MC, Wallet F, Neviere R, Saulnier F, Mathieu D, et al. Diagnostic test for pneumonia in ventilated patients: prospective evaluation of diagnostic accuracy using histology as a diagnostic gold standard. Am J Respir Crit Care Med 1995; 151(6):1878-88.
82. Timsit JF. Bronchoalveolar lavage for VAP diagnosis: patients must be sampled before any change of antimicrobial therapy. Intensive Care Med. 2007; 33(10): 1690-3.
83. Álvarez F, Torres A, Rodríguez de Castro F. Comisión de expertos de SEMICYUC-SEPAR-SEIMC. Recomendaciones para el diagnóstico de la neumonía asociada a ventilación mecánica. Arch Bronconeumol 2001; 37(8): 325-34.
84. Rouby JJ, Rossignon MD, Nicolas MH, Martin de Lassale E, Cristin S, Grosset J, et al. A prospective study of protected bronchoalveolar lavage in the diagnosis of nosocomial pneumonia. Anesthesiology. 1989; 71(5): 679-85.
85. Kollef MH, Bock KR, Richards RD, Hearn ML. The safety and diagnostic accuracy of minibronchoalveolar lavage in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. Ann Intern Med 1995; 122(10): 743-8.
86. Bregeon F, Papazian L, Thomas P, Carret V, Garbe L, Saux P, et al. Diagnostic accuracy of protected catheter sampling in ventilator-associated bacterial pneumonia. Eur Respir J. 2000; 16(5): 969-75.
87. Baughman RP. Nonbronchoscopic evaluation of ventilator-associated pneumonia. Semin Respir Infect. 2003; 18(2): 95-102.
88. Koenig SM, Truitt JD. Ventilator-associated pneumonia: diagnosis, treatment and prevention. Clin Microbiol Rev 2006; 19(4): 637-57
89. Khilnani GC, Arafath TK, Hadda V, Kapil A, Sood S, Sharma SK. Comparison of bronchoscopic and non-bronchoscopic techniques for

- diagnosis of ventilator associated pneumonia. *Indian J Crit Care Med.* 2011; 15(1): 16-23.
90. Pham LH, Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, Verra F, Brochard L, et al. Diagnosis of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. Comparison of a plugged telescoping catheter with the protected specimen brush. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 143(5): 1055-61.
 91. Turner JS, Wilcox PA, Hayhurst MD, Potgieter PD. Fiberoptic bronchoscopy in the intensive care unit. A prospective study of 147 procedures in 107 patients. *Crit Care Med* 1994; 22(2): 259-64.
 92. Torres A, El-Ebiary M. Bronchoscopic BAL in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000; 117 (4 Supl 2): S198-202.
 93. Klompas M. Does this patient have ventilator-associated pneumonia? *JAMA* 2007; 297(14): 1583-93.
 94. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(7): 867-903.
 95. Torres A, El-Ebiary M. Invasive diagnostic techniques for pneumonia: protected specimen brush, bronchoalveolar lavage, and lung biopsy methods. *Infect Dis Clin North Am.* 1998; 12(3): 701-22.
 96. Corley DE, Kirtland SH, Winterbauer RH, Hammar SP, Dail DH, Bauermeister DE, et al. Reproducibility of the histologic diagnosis of pneumonia among a panel of four pathologists. *Chest* 1997; 112(2): 458-65.
 97. The Canadian Critical Care Trial Group. A randomized trial of diagnostic techniques for ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med* 2006; 355(22): 2619-30.
 98. Berton DC, Kalil AC, Teixeira PJ. Quantitative versus qualitative cultures of respiratory secretions for clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia. *Cochrane database Syst Rec* 2012; 1: CD006482.
 99. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, Gervais C, Parer-Aubas S, Stéphan F, et al. Invasive and non invasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2000; 132(8): 621-30.
 100. Díaz E, Lorente L, Valles J, Rello J. Neumonía asociada a la ventilación mecánica. *Med Intensiva* 2011; 34(5): 318-24.
 101. Bouza Santiago E, Burillo Albuiza A. Métodos rápidos de diagnóstico microbiológico de la NAVM. En: Garnacho-Montero J, coordinador.

- Neumonía Asociada a Ventilación Mecánica. Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de SEMICYUC. Madrid: Entheos; 2009. p 77-91.
102. Hayon J, Figliolini C, Combes A, Trouillet JL, Kassis N, Dombret MC, et al. Role of serial routine microbiologic culture results in the initial management of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165(1): 44-6.
 103. Michel F, Franceschini B, Berger P, Arnal JM, Gainnier M, Sainty JM, et al. Early antibiotic treatment for BAL-confirmed ventilator-associated pneumonia: a role for routine endotracheal aspirate cultures. *Chest* 2005; 127(2): 589-97.
 104. Jung B, Sebbane M, Chanques G, Courouble P, Verzilli D, Perrigault PF, et al. Previous endotracheal aspirate allows guiding the initial treatment of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2009; 35(1): 101-7.
 105. Luna CM, Sarquis S, Niederman MS, Sosa FA, Otaola M, Bailleau N, et al. Is a strategy based on routine endotracheal cultures the best way to prescribe antibiotics in ventilator-associated pneumonia?. *Chest* 2013; 144(1): 63-71.
 106. Boots RJ, Phillips GE, George N, Faoagali JL. Surveillance culture utility and safety using low-volume blind bronchoalveolar lavage in the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Respirology* 2008; 13(1): 87-96.
 107. Sanders KM, Adhikari NK, Friedrich JO, Day A, Jiang X, Heyland D; Canadian Critical Care Trials Group. Previous cultures are not clinically useful for guiding empiric antibiotics in suspected ventilator-associated pneumonia: secondary analysis from a randomized trial. *J Crit Care* 2008; 23(1): 58-63.
 108. Depuydt P, Benoit D, Vogelaers D, Decruyenaere J, Vandijck D, Claeys G, et al. Systematic surveillance cultures as a tool to predict involvement of multidrug antibiotic resistant bacteria in ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2008; 34(4): 675-82.
 109. Brusselaers N, Labeau S, Vogelaers D, Blot S. Value of respiratory tract surveillance cultures to predict pathogens in ventilator-associated pneumonia: systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *Intensive Care Med* 2013; 39(3): 365-75.
 110. Palazzo SJ, Simpson T, Schnapp L. Biomarkers for ventilator-associated pneumonia: Review of the literature. *Heart Lung* 2011; 40(4): 293-8.

111. Ramírez Galleymore P, Palomo Navarro M. Utilidad de los biomarcadores para el diagnóstico de neumonía asociada a ventilación mecánica. En: Garnacho-Montero J, coordinador. Neumonía Asociada a Ventilación Mecánica. Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de SEMICYUC. Madrid: Entheos; 2009. p 69-76.
112. Niederman MS. Biological markers to determine eligibility in trials for community-acquired pneumonia: a focus on procalcitonin. *Clin Infect Dis* 2008; 47 Supl 3: S127-32.
113. Gilbert DN. Procalcitonin as a biomarker in respiratory tract infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52 Supl 4: S346-50.
114. Schuetz P, Christ-Crain M, Thomann R, Falconnier C, Wolbers M, Widmer I, et al. ProHOSP Study Group. Effect of procalcitonin-based guidelines vs standard guidelines on antibiotic use in lower respiratory tract infections: the ProHOSP randomized controlled trial. *JAMA*. 2009; 302(10): 1059-66.
115. Schuetz P, Briel M, Christ-Crain M, Stolz D, Bouadma L, Wolff M, et al. Procalcitonin to Guide Initiation and Duration of Antibiotic Treatment in Acute Respiratory Infections: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *Clin Infect Dis*. 2012; 55(5): 651-62.
116. Kopterides P, Siempos II, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care Med*. 2010; 38(11): 2229-41.
117. Dufflo F, Debon R, Monneret G, Bienvenu J, Chassard D, Allaouchiche B. Alveolar and serum procalcitonin: diagnostic and prognostic value in ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology* 2002; 96(1): 74-9.
118. Opper M, Reinicke A, Muller C, Barckow D, Frei U, Eckardt KU. Elevations in procalcitonin but not C-reactive protein are associated with pneumonia after cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation* 2002; 53(2): 160-70.
119. Gibot, S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004; 350(5): 451-8.

120. Luyt CE, Combes A, Reynaud C, Hekimian G, Nieszkowska A, Tonnellier M, et al. Usefulness of procalcitonin for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2008; 34(8): 1434-40.
121. Ramírez P, García MA, Ferrer M, Aznar J, Valencia M, Sahuquillo JM, et al. Sequential measurements of procalcitonin levels in diagnosing ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2008; 31(2): 356-62.
122. Stiletto RJ, Baacke M, Gotzen L, Lefering R, Renz H. Procalcitonin versus interleukin-6 levels in bronchoalveolar lavage fluids of trauma victims with severe lung contusion. *Crit Care Med*. 2001; 29(9): 1690-3.
123. Linszen CF, Bekers O, Drent M, Jacobs JA. C-reactive protein and procalcitonin concentrations in bronchoalveolar lavage fluid as a predictor of ventilator-associated pneumonia. *Ann Clin Biochem*. 2008; 45(3): 293-8.
124. Jung B, Embriaco N, Roux F, Forel JM, Demory D, Allardet-Servent J, et al. Microbiological data, but not procalcitonin improve the accuracy of the clinical pulmonary infection score. *Intensive Care Med*. 2010; 36(5): 790-8.
125. Tsantes A, Tsangaris I, Kopterides P, Kapsimali V, Antonakos G, Zerva A, et al. The role of procalcitonin and IL-6 in discriminating between septic and non-septic causes of ALI/ARDS: a prospective observational study. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51(7): 1535-42.
126. Davis MD, Montpetit A, Hunt J. Exhaled breath condensate: an overview. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2012; 32(3): 363-75.
127. Liang Y, Yeligar SM, Brown LA. Exhaled breath condensate: a promising source for biomarkers of lung disease. *Scientific World Journal*. 2012; ID217518.
128. González-Mangado N. Análisis del condensado exhalado: ¿una técnica con futuro? *Arch Bronconeumol*. 2005; 41(10): 540-1.
129. Gessner C, Hammerschmidt S, Kuhn H, Lange T, Engelmann L, Schauer J, et al. Exhaled breath condensate nitrite and its relation to tidal volume in acute lung injury. *Chest*. 2003; 124(3): 1046-52.
130. Nannini, LJ, Quintana R, Bagilet DH, Druetta M, Ramírez M, Nieto R, et al. pH del condensado de aire exhalado en pacientes sometidos a ventilación mecánica. *Med Intensiva*. 2013; 37(9): 593-9.
131. Carter SR, Davis CS, Kovacs EJ. Exhaled breath condensate collection in the mechanically ventilated patient. *Respir Med*. 2012; 106(5): 601-13.

132. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003; 111(12): 1805-12.
133. Póvoa P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis. *Intensive Care Med.* 2002; 28(3): 235-43
134. Póvoa P, Salluh JI. Biomarker-guided antibiotic therapy in adult critically ill patients: a critical review. *Ann Intensive Care.* 2012; 2(1): 32.
135. Kushner I, Rzewnicki D, Samols D. What does minor elevation of C-reactive protein signify? *Am J Med.* 2006; 119 (2): 166. e17-28.
136. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2004; 39(2): 206-17.
137. Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, et al. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11(2): 101-8.
138. Vos R, Vanaudenaerde BM, De Vleeschauwer SI, Willems-Widyastuti A, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, et al. C-reactive protein in bronchoalveolar lavage fluid is associated with markers of airway inflammation after lung transplantation. *Transplant Proc.* 2009; 41(8): 3409-13.
139. Vos R, Vanaudenaerde BM, De Vleeschauwer SI, Willems-Widyastuti A, Scheers H, Van Raemdonck DE, et al. Circulating and intrapulmonary C-reactive protein: a predictor of bronchiolitis obliterans syndrome and pulmonary allograft outcome. *J Heart Lung Transplant.* 2009; 28(8): 799-807.
140. Lee YL, Chen W, Chen LY, Chen CH, Lin YC, Liang SJ, et al. Systemic and bronchoalveolar cytokines as predictors of in-hospital mortality in severe community-acquired pneumonia. *J Crit Care.* 2010; 25(1): 176. e7-13.
141. Rosias PP, Robroeks CM, Kester A, den Hartog GJ, Wodzig WK, Rijkers GT, et al. Biomarker reproducibility in exhaled breath condensate collected with different condensers. *Eur Respir J.* 2008; 31(5): 934-42
142. Bayley DL, Abusriwil H, Ahmad A, Stockley RA. Validation of assays for inflammatory mediators in exhaled breath condensate. *Eur Respir J.* 2008; 31(5): 943-8.
143. Zietkowski Z, Tomasiak-Lozowska MM, Skiepmo R, Mroczko B, Szmitkowski M, Bodzenta-Lukaszyc A. High-sensitivity C-reactive protein in

- the exhaled breath condensate and serum in stable and unstable asthma. *Respiratory Medicine* 2009; 103(3): 379-85.
144. Thijs LG, Hack CE. Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med.* 1995; 21 Supl 2: S258-63.
 145. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med.* 2006; 354(6): 610-21.
 146. Montón C, Torres A. Lung inflammatory response in pneumonia. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1998; 53(1): 56-63.
 147. Wu CL, Lee YL, Chang KM, Chang GC, King SL, Chiang CD, et al. Bronchoalveolar interleukin-1 beta: a marker of bacterial burden in mechanically ventilated patients with community-acquired pneumonia. *Crit Care Med.* 2003; 31(3): 812-17.
 148. Bauer TT, Montón C, Torres A, Cabello H, Fillela X, Maldonado A, et al. Comparison of systemic cytokine levels in patients with acute respiratory distress syndrome, severe pneumonia, and controls. *Thorax.* 2000; 55(1): 46-52.
 149. Bonten MJ, Froom AH, Gaillard CA, Greve JW, de Leeuw PW, Drent M, et al. The systemic inflammatory response in the development of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156(4): 1105-13.
 150. Millo JL, Schultz MJ, Williams C, Weverling GJ, Ringrose T, Mackinlay CI, et al. Compartmentalisation of cytokines and cytokine inhibitors in ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2004; 30(1): 68-74.
 151. Montón C, Torres A, El-Ebiary M, Filella X, Xaubet A, de la Bellacasa JP. Cytokine expression in severe pneumonia: a bronchoalveolar lavage study. *Crit Care Med.* 1999; 27(9): 1745-53.
 152. Ramírez P, Ferrer M, Gimeno R, Tormo S, Valencia M, Piñer R, et al. Systemic inflammatory response and increased risk for ventilator-associated pneumonia: a preliminary study. *Crit Care Med.* 2009; 37(5): 1691-5.
 153. Determann RM, Millo JL, Gibot S, Korevaar JC, Vroom MB, van der Poll T, et al. Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2005; 31(11):1495-500.
 154. Horonenko G, Hoyt JC, Robbins RA, Singarajah CU, Umar A, Pattengill J, et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 is increased

- in patients with ventilator-associated pneumonia: a preliminary report. *Chest* 2007; 132(1): 58-63.
155. Sack U, Scheibe R, Wötzel M, Hammerschmidt S, Kuhn H, Emmrich F, et al. Multiplex analysis of cytokines in exhaled breath condensate. *Cytometry A*. 2006; 69(3):169-72.
156. Gessner C, Scheibe R, Wötzel M, Hammerschmidt S, Kuhn H, Engelmann L, et al. Exhaled breath condensate cytokine patterns in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2005; 99(10):1229-40.
157. Korovesi I, Papadomichelakis E, Orfanos SE, Giamarellos-Bourboulis EJ, Livaditi O, Pelekanou A, et al. Exhaled breath condensate in mechanically ventilated brain-injured patients with no lung injury or sepsis. *Anesthesiology*. 2011; 114(5): 1118-29.
158. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987; 40(5): 373-83.
159. Charlson ME, Charlson RE, Paterson JC, Marinopoulos SS, Briggs WM, Hollenberg JP, et al. The Charlson comorbidity index is adapted to predict costs of chronic disease in primary care patients. *J Clin Epidemiol* 2008; 61(12): 1234-40.
160. De Groot V, Beckerman H, Lankhorst GJ, Bouter LM. How to measure comorbidity: A critical review of available methods. *J Clin Epidemiol*. 2003; 56(3): 221-9.
161. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985; 13(10): 818-29.
162. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 1996; 22(7): 707-10.
163. Zietkowski Z, Skiepkó R, Tomasiak-Lozowska MM, Mroczko B, Szmítkowski M, Bodzenta-Lukaszyk A. Changes in high-sensitivity C-reactive protein in serum and exhaled breath condensate after intensive exercise in patients with allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 153(1): 75-85.

164. Rosias PP, Dompeling E, Dentener MA, Pennings HJ, Hendriks HJ, Van Iersel MP, et al. Childhood asthma: exhaled markers of airway inflammation, asthma control score, and lung function tests. *Pediatr Pulmonol.* 2004; 38(2):107-14.
165. Yende S, Tuomanen EI, Wunderink R, Kanaya A, Newman AB, Harris T, et al. Preinfection systemic inflammatory markers and risk of hospitalization due to pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(11):1440-6.

9. ANEXOS

ANEXO 1.

Clinical Pulmonary Infection Score modificado.

Adaptado de Singh N y cols. ⁷⁵

VARIABLE	VALOR	PUNTUACIÓN
Temperatura	36,5 - 38,4 °C	0
	38,5 - 38,9 °C	1
	< 36 ó > 39 °C	2
Leucocitos en sangre (por mm ³)	4000 - 11000	0
	< 4000 ó > 11000	1
Secreciones traqueales	Ausencia	0
	No purulentas	1
	Purulentas	2
pO ₂ / FiO ₂ (mmHg)	> 240 o SDRA	0
	≤ 240 y no SDRA	1
Radiografía de Tórax	No infiltrado	0
	Infiltrado difuso	1
	Infiltrado localizado	2
Evolución de infiltrados	No progresión	0
	Progresión	1
Microbiología (Gram y/o cultivos semicuantitativos)	Negativa	0
	Positiva	2

SDRA: Síndrome de dificultad respiratoria aguda.

ANEXO 2.

Índice de comorbilidad de Charlson ⁽¹⁵⁸⁾.

Infarto de miocardio: el paciente fue hospitalizado por ello, o hay evidencias de que existieron cambios en enzimas y/o en ECG	1
Insuficiencia cardíaca: debe existir disnea de esfuerzos y/o signos de insuficiencia cardíaca en la exploración física que respondieron favorablemente al tratamiento	1
Enfermedad arterial periférica: claudicación intermitente, intervenidos de <i>by-pass</i> arterial periférico, isquemia arterial aguda y aneurisma de la aorta (torácica o abdominal) de > 6 cm	1
Enfermedad cerebrovascular: pacientes con AVC con mínimas secuelas o AVC transitorio	1
Demencia: pacientes con evidencia en la historia clínica de deterioro cognitivo crónico	1
Enfermedad respiratoria crónica: debe existir evidencia en la historia clínica, en la exploración física y en exploración complementaria de cualquier enfermedad respiratoria crónica, incluyendo EPOC y asma.	1
Enfermedad del tejido conectivo: lupus, polimiositis, enf. mixta, polimialgia reumática, arteritis cel. gigantes y artritis reumatoide	1
Úlcera gastroduodenal: incluye a aquellos que han recibido tratamiento por un úlcus y aquellos que tuvieron sangrado por úlceras	1
Hepatopatía crónica leve: sin hipertensión portal, incluye hepatitis crónica	1
Diabetes: los tratados con insulina o hipoglicemiantes, pero sin complicaciones tardías	1
Hemiplejia: hemiplejia o paraplejia como consecuencia de un AVC u otra condición	2
Diabetes con lesión en órganos diana (retinopatía, neuropatía o nefropatía) o antecedentes de cetoacidosis o descompensación hiperosmolar	2
Insuficiencia renal crónica moderada/severa: incluye pacientes en diálisis, o bien con creatininas > 3 mg/dl de forma repetida y mantenida	2
Tumor o neoplasia sólida: incluye pacientes con cáncer, pero sin metástasis documentadas	2

Leucemia: incluye leucemia mieloide crónica, linfática crónica, policitemia vera, otras leucemias crónicas y todas las leucemias agudas.	2
Linfoma: incluye todos los linfomas, Waldestrom y mieloma	2
Hepatopatía crónica moderada/severa: con evidencia de hipertensión portal (ascitis, varices esofágicas o encefalopatía)	3
Tumor o neoplasia sólida con metástasis	6
Sida definido: no incluye portadores asintomáticos	6
Índice de comorbilidad (suma puntuación total) =	

Se considera ausencia de comorbilidad: 0-1 puntos, comorbilidad baja: 2 puntos y alta > 3 puntos. Predicción de mortalidad en seguimientos cortos (< 3 años); índice de 0: (12% mortalidad/año); índice 1-2: (26%); índice 3-4: (52%); índice > 5: (85%). En seguimientos prolongados (> 5 años), la predicción de mortalidad deberá corregirse con el factor edad, añadiendo un punto por cada década existente a partir de los 50 años (p. ej., 50 años = 1 punto, 60 años = 2, 70 años = 3, 80 años = 4, 90 años = 5, etc.). Tiene la limitación de que la mortalidad del sida en la actualidad no es la misma que cuando se publicó el índice.

ANEXO 3. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II).

Variables fisiológicas	Rango elevado Rango Bajo								
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura rectal (Axila +0.5°C)	≥ 41	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	< 29,9
Presión arterial media (mmHg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		< 49
Frecuencia cardíaca	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	< 39
Frecuencia respiratoria	≥ 50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		< 5
Oxigenación : Elegir a o b a. Si FiO2 ≥ 0,5 anotar P A-aO2 b. Si FiO2 < 0,5 anotar PaO2	≥ 500	350-499	200-349		< 200 > 70	61-70		55-60	< 55
pH arterial (Preferido) HCO3 sérico (venoso mEq/l)	≥7,7 ≥ 52	7,6-7,59 41-51,9		7,5-7,59 32-40,9	7,33-7,49 22-31,9		7,25- 7,32 18-21,9	7,15- 7,24 15-17,9	< 7,15 < 15
Sodio Sérico (mEq/l)	≥ 180	160-179	155-159	150-154	130-149		120- 129	111- 119	< 110
Potasio Sérico (mEq/l)	≥ 7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		< 2,5
Creatinina sérica (mg/dl) Doble puntuación si fallo renal agudo	≥3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
Hematocrito (%)	≥ 60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		< 20
Leucocitos (Total/mm3 en miles)	≥ 40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		< 1
Escala de Glasgow Puntuación = 15-Glasgow actual									
A. APS (Acute Physiology Score) Total: Suma de las 12 variables individuales									
B. Puntuación por edad (< 44 = 0 punto; 45-54 = 2 puntos; 55-64 = 3 puntos; 65-74 = 5 puntos; >75 = 6 puntos)									
C. Puntuación por enfermedad crónica (ver más abajo)									

Puntuación APACHE II (Suma de A+B+C)

Puntuación por enfermedad crónica: Si el paciente tiene historia de insuficiencia orgánica sistémica o está inmunocomprometido, corresponde 5 puntos en caso de postquirúrgicos urgentes o no quirúrgicos, y 2 puntos en caso de postquirúrgicos de cirugía electiva.

Definiciones: Debe existir evidencia de insuficiencia orgánica o inmunocompromiso, previa al ingreso hospitalario y conforme a los siguientes criterios:

- Hígado: Cirrosis (con biopsia), hipertensión portal comprobada, antecedentes de hemorragia gastrointestinal alta debida a HTA portal o episodios previos de fallo hepático, encefalohepatopatía, o coma.
- Cardiovascular: Clase IV según la New York Heart Association
- Respiratorio: Enfermedad restrictiva, obstructiva o vascular que obligue a restringir el ejercicio, como por ej. incapacidad para subir escaleras o realizar tareas domésticas; o hipoxia crónica probada, hipercapnia, policitemia secundaria, hipertensión pulmonar severa (>40 mmHg), o dependencia respiratoria.
- Renal: Hemodializados.
- Inmunocomprometidos: que el paciente haya recibido terapia que suprima la resistencia a la infección (por ejemplo inmunosupresión, quimioterapia, radiación, tratamiento crónico o altas dosis recientes de esteroides, o que padezca una enfermedad suficientemente avanzada para inmunodeprimir como por ej. leucemia, linfoma, SIDA)

Interpretación del Score

Puntuación	Mortalidad (%)
0-4	4
5-9	8
10-14	15
15-19	25
20-24	40
25-29	55
30-34	75
>34	85

ANEXO 4. Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)

ÓRGANO	0	1	2	3	4
Respiratorio (pO ₂ / FiO ₂)	> 400	≤ 400	≤ 300	≤ 200	≤ 100
Renal Creatinina (mg/dl) o diuresis (ml/día)	< 1,2	1,2 – 1,9	2 – 3,4	3,5 – 4,9 < 500	> 5 < 200
Hemodinámica TAm (mmHg) o DVAs (µgr/kg/h)	No hipotensión	< 70	Dopamina <5 o Dobutamina	Dopamina >5 o Noradrenalina / Adrenalina ≤ 0,1	Dopamina >15 o Noradrenalina / Adrenalina > 0,1
Hepático Bilirrubina (mg/dl)	< 1,2	1,2 – 1,9	2 – 5,9	6 – 11,9	> 12
Neurológico Escala Glasgow	15	13 -14	10 - 12	6 - 9	< 6
Coagulación Plaquetas (10 ³ /mm ³)	> 150	≤ 150	≤ 100	≤ 50	≤ 20

DVAs: Drogas Vasoactivas; TAm: Tensión Arterial media;