

DETECCIÓN DE *Pneumocystis jirovecii* ex *carinii*, POR PCR

Actualizado en Abril 2025 por BQ Carolina Miranda
Revisado y Aprobado por Dra. Patricia García

Código del Examen : 1069

Nombres del Examen : Detección de *Pneumocystis jirovecii* ex *carinii* por PCR

Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
Laboratorio CMSJ Microbiología	Lunes a Viernes	3 días hábiles

Preparación del Paciente : Según tipo de muestra e indicación médica

Muestra Requerida : Lavado bronco-alveolar como muestra ideal, sin embargo, se aceptan otras muestras menos invasivas como aspirado endotraqueal, aspirado nasofaríngeo, gárgara o expectoración inducida, en tubo o frasco limpio y estéril

Instrucciones para tomar muestra de gárgara:

Antes de realizar el procedimiento se debe:

- El paciente no debe haber ingerido alimentos hasta 1 hora previo a la toma de muestra
- Realizar enjuague bucal superficial con agua para eliminar restos de alimentos en la boca, posteriormente, eliminar esta agua
- Llenar un vaso u otro recipiente limpio con 10 ml de suero fisiológico estéril.

Procedimiento:

- Realizar enjuague bucal profundo tanto bucofaríngeo (gárgara) como mucosa yugal por un tiempo mínimo de 10 segundos.
- Vaciar líquido en el frasco de recolección de la muestra.
- Repetir el procedimiento 2 veces más (hasta completar el frasco)

Nota: Por lo general, el líquido obtenido presenta algún grado de turbiedad

Muestra opcional: otra como tejido pulmonar, consultar al laboratorio 3548576

Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (4 °C)	Congelada (-20°C)
Gárgara, LBA, esputo inducido, etc.	24 horas	5 días	1 mes
Otras	24 horas	5 días	1 mes

Condiciones de Envío al Laboratorio : Dentro de Santiago y en el día
Todas las muestras: Ambiente Sí/ Refrigerada Sí / Congelada Sí

*Desde fuera de Santiago

Todas las muestras: Ambiente Sí/ Refrigerada Sí / Congelada Sí

*Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.

Método Utilizado : PCR en tiempo real en equipo QuantStudio 3 con partidores y sondas fluorescentes dirigidas al gen multicopia mtSSU (mitochondrial Small Subunit).

- Intervalos de Referencia** ¹ : Negativo para la presencia de ADN de *Pneumocystis jirovecii*
- Valor Crítico** : No aplica.
- Parámetros de Desempeño** ¹ : Sensibilidad Analítica:
En los ensayos de validación de la técnica se definió un límite de detección de 57,5 copias/reacción del gen mtSSU, equivalentes a 1,55 genomas de *P. jirovecii* por reacción.
Punto de corte:
Corresponde a un CP de 37 ciclos por reacción, lo que significa que un resultado de 36,99 o menor corresponde a un ensayo positivo y un CP mayor o igual a 37 corresponde a un resultado negativo.
Especificidad analítica:
Se demostró ausencia de amplificación en muestras positivas para otras especies fúngicas como *Aspergillus fumigatus*, *C. albicans* y *C. kefyi*.
- Información Clínica** ^{1,2} : *Pneumocystis jirovecii* es un hongo de la familia ascomicota asociado a microbiota pulmonar humana, es uno de los patógenos oportunistas más frecuentemente asociados a neumonía en pacientes inmunodeprimidos. Se reconoce transmisión persona-persona a través del aire, existiendo colonización asintomática tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunodeprimidos (alcanzando en estos últimos entre 15-20% de portación).
Es un microorganismo que no permite su cultivo en medios artificiales, haciendo difícil su detección por métodos tradicionales. Por este motivo es que la biología molecular se ha convertido en el método de elección para diagnóstico. En esta línea, el uso de partidores dirigidos hacia genes mitocondriales multicopia ofrecen mayor sensibilidad analítica, convirtiendo a este ensayo en una herramienta indispensable en el diagnóstico temprano de la enfermedad.
- Indicaciones:
Sospecha de neumonía atípica en pacientes inmunodeprimidos.
- Resultados:
Negativo: No se detecta DNA de *Pneumocystis jirovecii*
Positivo: Se detecta DNA de *Pneumocystis jirovecii*
No concluyente: La muestra presenta inhibidores de la PCR.
Tomando en cuenta la posibilidad de portación o infección subclínica y la alta sensibilidad analítica del ensayo, **los resultados positivos deben ser evaluados en el contexto clínico del paciente.**
- Factores Interferentes:
Inhibidores de la PCR

Sensibilidad y especificidad clínicas en muestras no invasivas:

	Total		VIH		No VIH	
	S	E	S	E	S	E
Espuito inducido	99%	96%	99%	98%	96%	96%
Aspirado Nasofaríngeo	89%	98%	95%	100%	88%	98%
Gárgaras	77%	94%	74%	95%	-	-

Referencias

1. Valero C, Buitrago MJ, Gits-Muselli M, Benazra M, Sturny-Leclère A, Hamane S, Guigue N, Bretagne S, Alanio A. Copy Number Variation of Mitochondrial DNA Genes in *Pneumocystis jirovecii* According to the Fungal Load in BAL Specimens. *Front Microbiol.* 2016 Sep 12; 7:1413. doi: 10.3389/fmicb.2016.01413. PMID: 27672381; PMCID: PMC5018473
2. Senécal, J., Smyth, E., Del Corpo, O., Hsu, J. M., Amar-Zifkin, A., Bergeron, A., Lee, T. C. (2021). Non-invasive diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: A systematic review and

Sistema de Información de Exámenes, SINFEX

- meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*. doi:10.1016/j.cmi.2021.08.017
3. Roche. Inserto mezcla de reacción tipo Fast Start para uso de sondas de hibridización en equipo LightCycler
 4. Larsen HH et al. Development and evaluation of a quantitative, touch down, real time PCR assay for diagnosing *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J. Clin Microbiol* 2002; 40(2): 490-494.
 5. Rabodonirina M. et al. Rapid detection of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage specimens from human immunodeficiency virus-infected: use of a simple DNA extraction procedure and nested PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1997 Nov; (35) N° 11: 2748-2751.

