

## INCORPORACIÓ DEL SISTEMA FILMARRAY® MULTIPLEX PCR PEL DIAGNÒSTIC DE MENINGOENCEFALITIS

L'àrea de Microbiologia del Laboratori de Catlab ha incorporat recentment una nova PCR múltiplex (Filmarray®) per detectar en poc temps en mostra de LCR els 14 microorganismes que causen més freqüentment meningitis, encefalitis i meningoencefalitis a la comunitat (bacteris, virus i llevats).

La meningitis afecta a més de 1,2 milions de persones i la meningitis bacteriana causa 120.000 morts al món cada any.

En el nostre medi, els etiologies més freqüents són:

- VIRUS (80% dels casos aproximadament). Principalment enterovirus, virus herpes símplex i virus varicel·la-zóster.

Grup edat (anys)	EV	HSV	HSV-1	HSV-2	VZV	HHV-6	EBV	CMV	Altres virus	Total LCR analitzats
<1	23					1			1	38
1 a 15	86	1	3		3		1	1	6	147
16 a 60	36		13		18		1		7	204
>60	1		13	1	6		1	2	3	67
Total	146	1	29	1	27	1	3	3	17	456

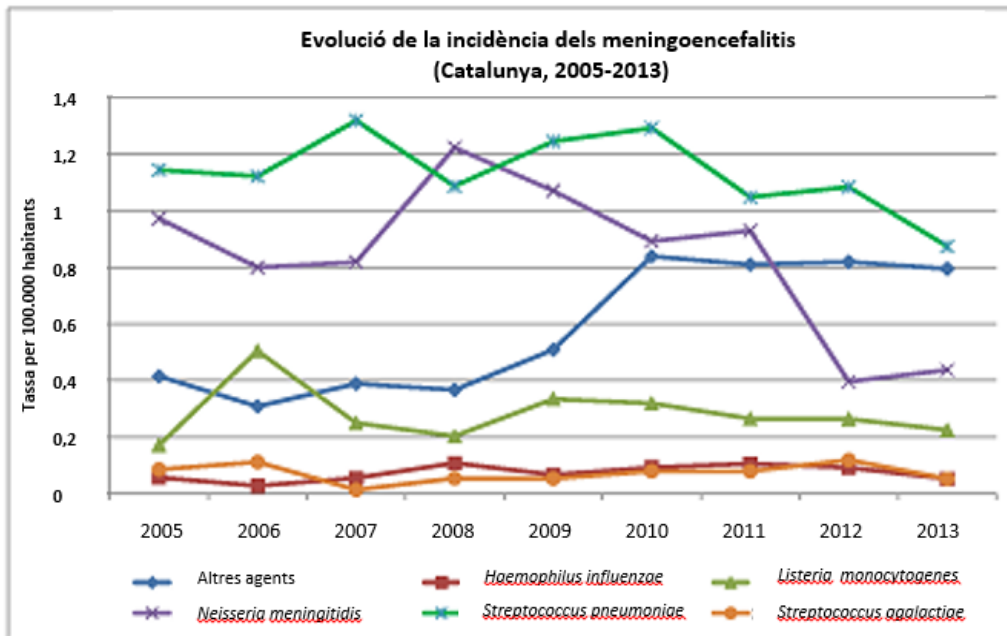
*Adaptat de deOry F et al. Viral infections of the central nervous system in Spain: a prospective study. J Med Virol. 2013 Mar;85(3):554-62.*

- BACTERIS (10% dels casos aproximadament). Els més freqüents segons el grup d'edat son:

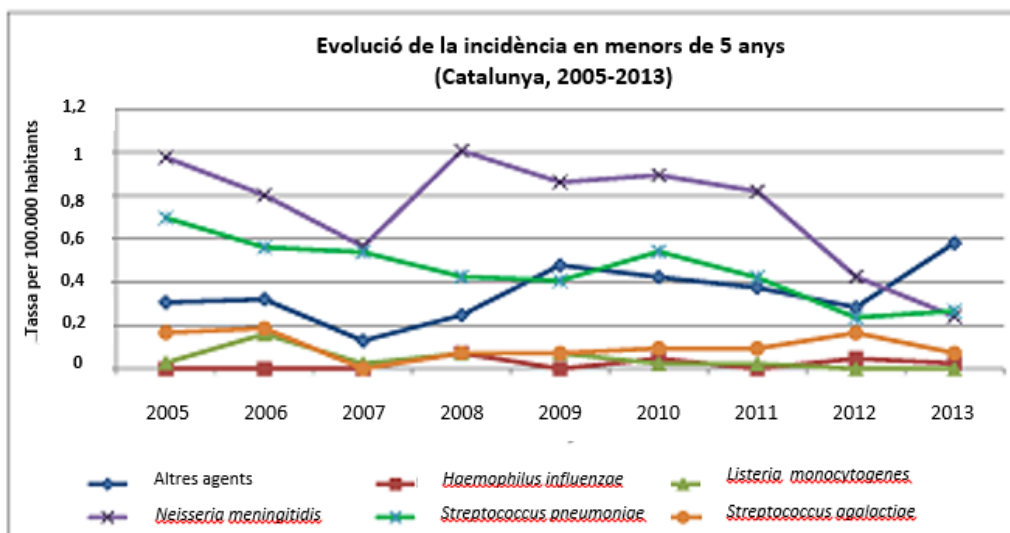
< 1 mes	1-3 meses	> 3 meses
<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>N. meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
<i>L. monocytogenes</i>	<i>N. meningitidis</i>	

# Catlab Informa

Els següents gràfiques mostren l'evolució de la meningoencefalitis bacteriana a Catalunya:



Font: Subdirecció General de Vigilància i Resposta a Emergències de Salut Pública. ASPCAT.



Font: Subdirecció General de Vigilància i Resposta a Emergències de Salut Pública. ASPCAT.

# Catlab Informa

## Tècnica:

Es realitza en una sola mostra de LCR i després d'una mínima manipulació. Permet detectar de forma ràpida (2hores aproximadament) el microorganisme causant de la meningitis, encefalitis o meningoencefalitis. Aquesta tècnica pot contribuir a reduir la mortalitat i morbiditat del pacient amb meningitis adequant la teràpia en un temps mínim.

Els patògens detectats son els següents:

<b>Bacteris</b>	<b>Virus</b>	<b>Llevats</b>
<i>Escherichia coli</i> K1	Citomegalovirus (CMV)	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	Enterovirus (EV)	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Virus herpes simple 1 (VHS-1)	
<i>Neisseria meningitidis</i> (encapsulada)	Virus herpes simple 2 (VHS-2)	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Virus herpes 6 (HHV-6)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Parvovirus humà (PeV)	
	Virus varicela-zòster (VVZ)	

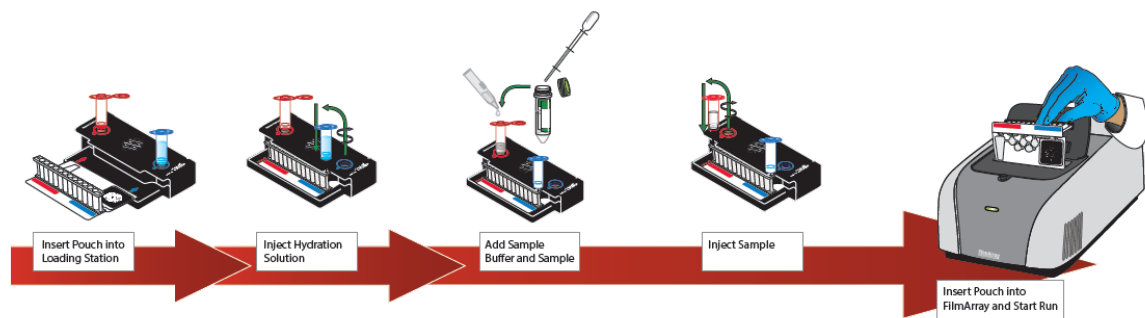
## Procés

Es tracta d'una tècnica relativament senzilla amb una manipulació mínima de la mostra.

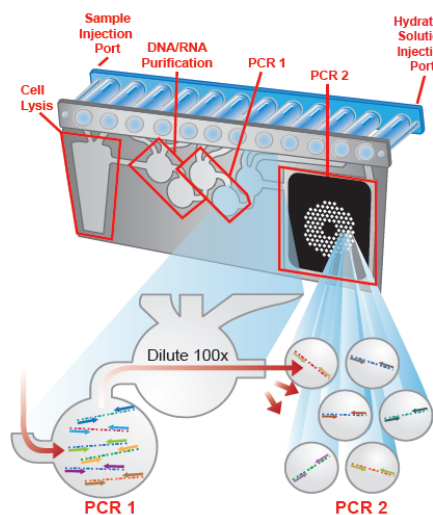
La tècnica consta d'un cartutx que s'ha de rehidratar i on s'hi posen 200µL de LCR. Aquest cartutx s'introdueix a l'equip analitzador i es realitzen automàticament els 4 passos del procés (veure figura 1):

1. Lisi cel·lular
2. Purificació de l'ADN
3. Retrotranscripció dels virus ARN
4. PCR niada (PCR1 + PCR2)

# Catlab Informa



## The FilmArray Pouch and Analysis Report



FilmArray <sup>®</sup> Meningitis / Encephalitis (ME) Panel - IVD		BIOFIRE
<small>www.biofire.com</small>		
<b>Run Summary</b>		
Sample ID: 14067-0295	Run Date: 21 Jun 2015 1:47 PM	Controls: Passed
Detected: Human herpesvirus 6		
<small>⚠ WARNING: The FilmArray ME panel does not distinguish between latent and active CMV and HHV-6 infections. Detection of these viruses may indicate primary infection, secondary reactivation, or the presence of latent virus. Results should always be interpreted in conjunction with other clinical, laboratory and epidemiological data.</small>		
<b>Result Summary</b>		
<b>Bacteria</b>		
Not Detected	<i>Escherichia coli</i> K1	
Not Detected	<i>Haemophilus influenzae</i>	
Not Detected	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Not Detected	<i>Neisseria meningitidis</i>	
Not Detected	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
Not Detected	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<b>Viruses</b>		
Not Detected	Cytomegalovirus	
Not Detected	Enterovirus	
Not Detected	Herpes simplex virus 1	
Not Detected	Herpes simplex virus 2	
Not Detected	Human herpesvirus 6	
Not Detected	Human parechovirus	
✓ Detected	Variola zoster virus	
<b>Yeast</b>		
Not Detected	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	
<b>Run Details</b>		
Pouch: ME Panel v1.4	Protocol: CSF v2.0	
Run Status: Completed	Operator: Ashley Hunter (ah)	
Serial No.: 01422147	Instrument: ITI FA-FA2430	
Lot No.: 140411A		

Figura 1. Esquema del flux de treball per Filmarray<sup>®</sup>

La PCR1 permet una amplificació molt general, no espècie-específica.

La PCR2 es realitza en un lloc del cartutx que té molts pouets. A cadascun d'aquests pouets es realitza una reacció de PCR específica per un únic microorganisme i, si es produeix l'amplificació, el producte de PCR hibrida amb una sonda fluorescent. L'equip detecta la posició del pouet que emet fluorescència i per tant el microorganisme present a la mostra.

Tot el procés té una duració aproximada d'1 hora.

## Aplicació

La introducció d'aquesta tècnica permet informar de forma ràpida i fiable de la presència al LCR de material genètic dels microorganismes que més freqüentment causen meningitis, encefalitis i meningoencefalitis. Per tant, permet reduir els tractaments inadequats, els sobretractaments i millorar el maneig del pacient.

# Catlab Informa

Aquesta tècnica no substitueix la tinció de Gram ni el cultiu convencional, necessari per la determinació de la sensibilitat antibiòtica. La interpretació dels resultats s'ha de valorar conjuntament amb les dades clíniques i de laboratori que complementaran al diagnòstic.

## Limitacions

Com totes les tècniques moleculars, Filmarray® té algunes limitacions.

Les limitacions més importants són:

- No es recomana fer aquesta prova en LCR hemàtics. La detecció d'un microorganisme en aquest cas pot ser degut a la seva presència en la sang perifèrica però no necessàriament al LCR.
- La detecció d'un microorganisme no implica la seva viabilitat.
- No es recomana realitzar aquesta prova en mostres de LCR obtingudes a través de dispositius mèdics permanents.

## Actualment

La secció de Microbiologia de Catlab va introduir aquesta tècnica al juliol. Es beneficien d'aquesta prova els pacients de l'Hospital de Terrassa, Hospital Sant Joan de Déu de Martorell i Hospital Universitari de Mútua de Terrassa amb sospita de meningoencefalitis que compleixen qualsevol dels següents requisits:

- 1- Menor de 3 mesos d'edat
- 2- >10 leucòcits al LCR

Tradicionalment el diagnòstic microbiològic de la meningoencefalitis s'ha fet mitjançant el cultiu convencional; en els últims anys s'han incorporat a Catlab tècniques de detecció molecular que complementaven aquest cultiu. Amb aquestes tècniques s'ampliava la detecció de 9 patògens més amb un temps de resposta de 3 dies. Però, amb la introducció del Filmarray® ha permès que aquest temps de resposta disminueixi fins a 2 hores des de l'arribada de la mostra al laboratori d'urgències.

**Ana Blanco**  
**Microbiologia**  
**CATLAB**

**Tel. 620.372.209 / 93.748.56.00 - ext. 35002**

[ablanco@catlab.cat](mailto:ablanco@catlab.cat)

[www.catlab.cat](http://www.catlab.cat)

# Catlab Informa

**Emma Padilla**

**Microbiologia**

**CATLAB**

**Tel. 93.731.00.07 - ext. 2171 / 616.08.29.77**

[epadilla@catlab.cat](mailto:epadilla@catlab.cat)

[www.catlab.cat](http://www.catlab.cat)

---