

Resultados de la implementación de técnicas de biología molecular en el estudio del líquido cefalorraquídeo de niños, niñas y adolescentes asistidos en un hospital de referencia

Results of the implementation of molecular biology techniques in the study of cerebrospinal fluid of children and adolescents assisted at a reference children's hospital

Resultados da aplicação de técnicas de biologia molecular no estudo do líquido cefalorraquidiano em crianças e adolescentes assistidos em um hospital pediátrico de referencia

Ana Cabrera¹, Claudia Gutiérrez², Cecilia Cornejo², María Desiderio¹, Gabriela Algorta¹, Adriana Varela³, Ma. Inés Mota⁴

Resumen

Introducción: la meningoencefalitis (ME) es una enfermedad grave que puede comprometer la vida, así como generar secuelas a largo plazo. Clásicamente el diagnóstico etiológico de la ME se basa en el examen directo, cultivo y más recientemente en la detección de antígenos solubles en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en la detección por biología molecular de agentes virales. En el año 2015, la FDA aprobó el primer ensayo de PCR múltiple para la detección simultánea de virus, bacterias y levaduras asociados a ME adquirida en la comunidad y ME en pacientes inmunocomprometidos, tiempo de respuesta aproximado de una hora.

Objetivos: describir los agentes detectados por PCR en tiempo real en población asistida en un hospital pediátrico de referencia. Comparar el rendimiento del examen directo y cultivo del LCR versus la detección molecular con panel ME. Analizar el valor predictivo del estudio citoquímico del LCR.

Metodología: estudio observacional, descriptivo. Se incluyeron todos los niños asistidos en un hospital pediátrico de referencia de los cuales una muestra de LCR fue enviada al laboratorio de microbiología para estudio bacteriológico o virológico, o ambos. Las muestras de LCR fueron analizadas mediante examen directo, cultivo y detección de ácidos nucleicos con panel ME BioFire FilmArray (Biomerieux) o QIAstat-Dx (Qiagen), independientemente del resultado del estudio citoquímico. Los resultados fueron analizados retrospectivamente mediante revisión de bases de datos del laboratorio. Período: enero 2016 - junio 2024. Las variables cualitativas se expresan en frecuencias absolutas y relativas porcentuales.

1. Médico. Especialista Microbiología. Unidad Académica Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina. UDELAR.

2. Ex Directora Técnica. Laboratorio Nacional de Referencia Microbacterianas. CHLA-EP.

3. Médica Microbióloga. CHPR. ASSE.

4. Médico. Unidad Académica Bacteriología y Virología. Facultad de Medicina. UDELAR. CHPR. ASSE.

Declaramos no tener conflictos de intereses.

Este trabajo ha sido aprobado unánimemente por el Comité Editorial.

Resultados: se procesaron 834 muestras de LCR: 155 (18,6%) fueron positivas con panel ME, 19 (2,3%) resultaron inválidas. Se detectaron agentes virales en 60% de las muestras positivas, agentes bacterianos en 37,5% y 2,5% con levaduras. Hubo detección de más de un agente en 3,9% de las muestras. Los virus más frecuentes fueron virus herpes humano 6 (47) y enterovirus (32). La bacteria más frecuente fue *Neisseria meningitidis* (31), seguida de *Haemophilus influenzae* (13) y *Streptococcus agalactiae* (8). De las muestras con detección molecular de bacterias: el cultivo de LCR fue positivo en 48,3% y el hemocultivo recuperó 6,7% de agentes adicionales; en 43,3% se observaron bacterias en el examen directo y 94,7% tuvieron perfil típico de meningitis aguda bacteriana en el estudio citoquímico. Por el contrario, de las muestras con detección viral solo 22,6% tenían citoquímico de LCR alterado.

Conclusiones: virus herpes humano 6, enterovirus y *N. meningitidis* fueron los patógenos más frecuentemente detectados. Sin embargo, la detección de virus herpes humano 6 no siempre indica una infección activa, pudiendo corresponder a una infección latente. Por lo tanto, es crucial interpretar los resultados de la PCR en el contexto clínico del paciente. El diagnóstico etiológico bacteriano mediante panel ME duplicó la recuperación del cultivo. Dado que la meningitis meningocócica es una enfermedad prevenible mediante vacunación, la inmunización universal mejoraría significativamente la situación epidemiológica actual.

Palabras clave: Biología Molecular
Líquido Cefalorraquídeo

Summary

Introduction: meningoencephalitis (ME) is a serious disease that can be life-threatening and cause long-term sequelae. Typically, the etiological diagnosis of ME is based on direct examination, culture, and more recently, the detection of soluble antigens in cerebrospinal fluid (CSF) and the molecular detection of viral agents. In 2015, the FDA approved the first multiplex PCR assay for the simultaneous

detection of viruses, bacteria, and parasites associated with community-acquired ME and ME in immunocompromised patients, with an approximate turnaround time of 1 hour.

Objectives: describe the agents detected by real-time PCR in the population assisted at a reference pediatric hospital. Compare the performance of direct examination and CSF culture versus molecular detection with the ME panel. Analyze the predictive value of the CSF cytochemical study.

Methodology: observational, descriptive study. We included all children assisted at a reference pediatric hospital from whom a CSF sample was sent to the microbiology laboratory for bacteriological and/or virological study. CSF samples were analyzed by direct examination, culture, and nucleic acid detection with the BioFire FilmArray ME panel (Biomerieux) or QIAstat-Dx (Qiagen), regardless of the cytochemical study result. The results were analyzed retrospectively by reviewing laboratory databases. Period: January 2016 - June 2024. Qualitative variables are expressed as absolute and relative percentage frequencies.

Results: 834 CSF samples were processed: 155 (18.6%) were positive with the ME panel, and 19 (2.3%) were invalid. Viral agents were detected in 60% of the positive samples, bacterial agents in 37.5%, and yeasts in 2.5%. More than one agent was detected in 3.9% of the samples. The most frequent viruses were human herpesvirus 6 (47) and enterovirus (32). The most frequent bacterium was *Neisseria meningitidis* (31), followed by *Haemophilus influenzae* (13) and *Streptococcus agalactiae* (8). Of the samples with molecular detection of bacteria: CSF culture was positive in 48.3%, and blood culture recovered 6.7% of additional agents; bacteria were observed in the direct examination in 43.3%, and 94.7% had a typical profile of acute bacterial meningitis in the cytochemical study. In contrast, of the samples with viral detection, only 22.6% had altered CSF cytochemistry.

Conclusions: human herpesvirus 6, enterovirus, and *N. meningitidis* were the most frequently detected pathogens. However, the detection of human herpesvirus 6 does not always

indicate an active infection and may correspond to a latent infection. Therefore, it is crucial to interpret PCR results within the patient's clinical environment. Bacterial etiological diagnosis using the ME panel doubled the recovery of culture. Given that meningococcal meningitis is a vaccine-preventable disease, universal immunization would significantly improve the current epidemiological situation.

Key words: Molecular Biology
Cerebrospinal Fluid

Resumo

Introdução: a meningoencefalite (ME) é uma doença grave que pode comprometer a vida, bem como gerar sequelas a longo prazo. Classicamente, o diagnóstico etiológico da ME baseia-se no exame direto, cultura e, mais recentemente, na detecção de antígenos solúveis no líquido cefalorraquidiano (LCR) e na detecção por biologia molecular de agentes virais. No ano de 2015, o FDA aprovou o primeiro ensaio de PCR multiplex para a detecção simultânea de vírus, bactérias e parasitas associados à ME adquirida na comunidade e ME em pacientes imunocomprometidos, com um tempo de resposta aproximado de 1 hora.

Objetivos: descrever os agentes detectados por PCR em tempo real na população assistida em um hospital pediátrico de referência. Comparar o desempenho do exame direto e cultura do LCR versus a detecção molecular com painel ME. Analisar o valor preditivo do estudo citológico de LCR.

Metodologia: estudo observacional, descritivo. Foram incluídas todas as crianças assistidas em um hospital pediátrico de referência das quais uma amostra de LCR foi enviada ao laboratório de microbiologia para estudo bacteriológico e/ou virológico. As amostras de LCR foram analisadas por exame direto, cultura e detecção de ácidos nucleicos com painel ME BioFire FilmArray (Biomerieux) ou QIAstat-Dx (Qiagen), independentemente do resultado do estudo citológico. Os resultados foram analisados retrospectivamente por meio da revisão de bancos de dados do laboratório.

Período: janeiro de 2016 - junho de 2024.

As variáveis qualitativas são expressas em frequências absolutas e relativas percentuais.

Resultados: foram processadas 834 amostras de LCR: 155 (18,6%) foram positivas com o painel ME, e 19 (2,3%) foram inválidas. Agentes virais foram detectados em 60% das amostras positivas, agentes bacterianos em 37,5% e leveduras em 2,5%. Houve detecção de mais de um agente em 3,9% das amostras. Os vírus mais frequentes foram o vírus herpes humano 6 (47) e enterovírus (32). A bactéria mais frequente foi *Neisseria meningitidis* (31), seguida por *Haemophilus influenzae* (13) e *Streptococcus agalactiae* (8). Das amostras com detecção molecular de bactérias: a cultura de LCR foi positiva em 48,3% e a hemocultura recuperou 6,7% de agentes adicionais; em 43,3% foram observadas bactérias no exame direto e 94,7% tiveram perfil típico de meningite bacteriana aguda no estudo citológico. Em contraste, das amostras com detecção viral, apenas 22,6% apresentaram citológico de LCR alterado.

Conclusões: vírus herpes humano 6, enterovírus e *N. meningitidis* foram os patógenos mais frequentemente detectados. No entanto, a detecção de vírus herpes humano 6 nem sempre indica uma infecção ativa, podendo corresponder a uma infecção latente. Portanto, é crucial interpretar os resultados da PCR no contexto clínico do paciente. O diagnóstico etiológico bacteriano por meio do painel ME dobrou a recuperação da cultura. Dado que a meningite meningocócica é uma doença prevenível por vacinação, a imunização universal melhoraria significativamente a situação epidemiológica atual.

Palavras chave: Biologia Molecular
Líquido Cefalorraquidiano