

# El diagnóstico de las infecciones bacterianas en la actualidad

Graciela Greco  
Microbiología

Laboratorio Central  
Hospital Italiano de Bs As

# Muestras por urgencias en Pediatría

---

- Sangre
- Orina
- Materia fecal
- Hisopado de fauces
- Aspirado nasofaríngeo
- Punción de abscesos
- LCR
- Otros líquidos de punción (Pleural, etc.)

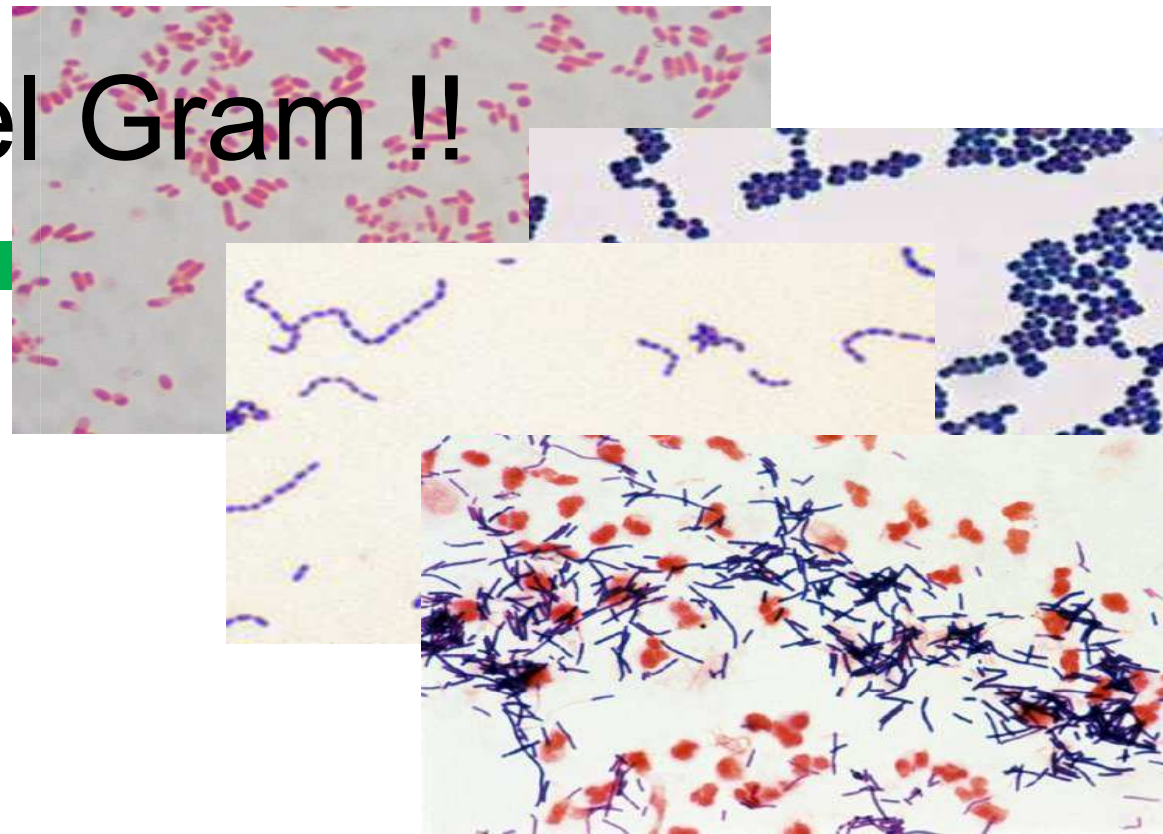
# Limitaciones de los métodos tradicionales

---

- Bacterias y virus de crecimiento lento o nulo
- Muestra adecuada de pacientes que no hayan recibido tratamiento
- Detección de antígenos (de sensibilidad y especificidad variable)
- Detección de anticuerpos (inmunodeprimidos o latencia)
- Microscopía (baja sensibilidad y especificidad operador dependiente)

# No nos olvidemos del Gram !!

- Realizado en forma adecuada e informado a tiempo provee diagnóstico temprano
- Asegura la calidad de la muestra
- Guía al microbiólogo en el seguimiento del cultivo
- Visto por personal experimentado da indicios de patología específica según el sitio de infección
- Puede generar el cambio de ATBs
- Es un estudio personalizado para quien tiene una infección



## □ PNA FISH

- Hibridación in situ con probes marcados (fluorescencia)
  - Equipos comerciales
    - Detección de MO Gram (+) y Gram (-) y levaduras
    - QuickFISH en 30 minutos.
      - No detecta mecanismos de resistencia (ahora mecA)

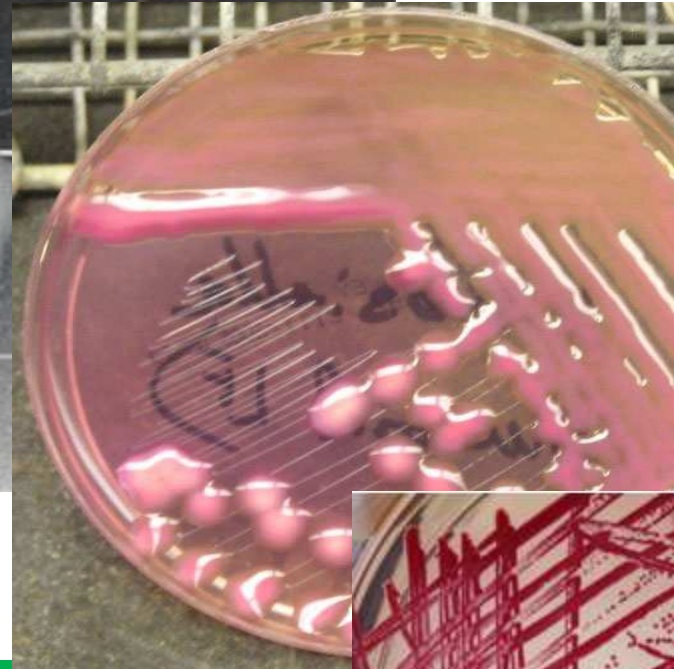
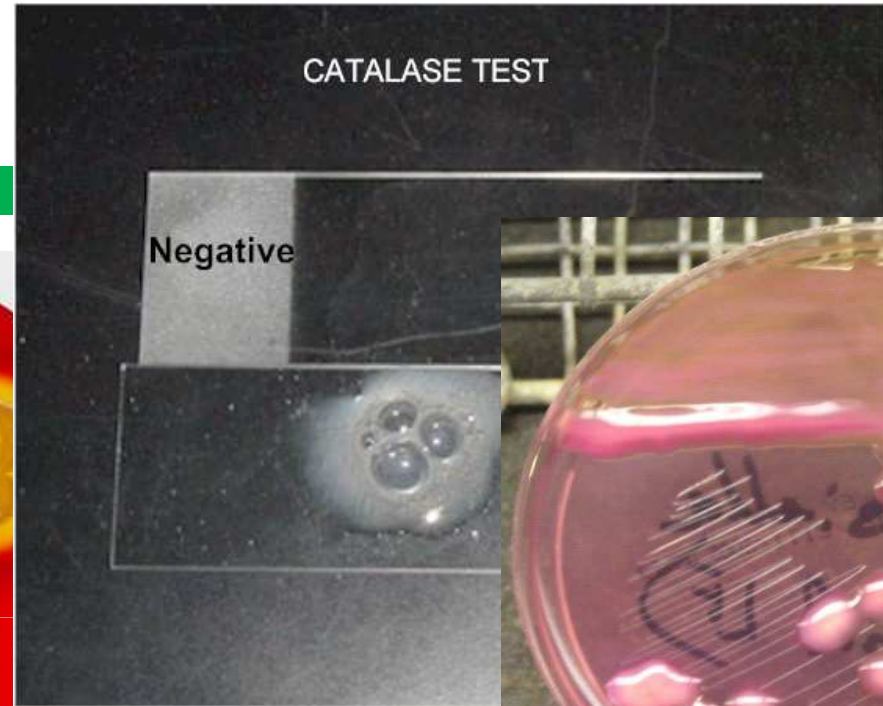
# Otra pruebas rápidas

## Inmunocromatografía

- Detección de antígenos
  - MO que producen meningitis
  - *Streptococcus* beta hemolítico
  - Rotavirus
    - Baja sensibilidad(lectura visual)
    - Requieren poca infraestructura
    - Fácil de usar e interpretar
    - Resultados en menos de una hora

## Otras

- Diagnóstico no específico
  - Recuento de células en LCR
  - Lactato
  - Procalcitonina
  - Tira reactiva en orina
  - Monotest



Por ahora no se puede abandonar el cultivo .....

# Cepa/ Muestra (cultivo positivo)

## Identificación y sensibilidad ( muestra y cepa aislada)

- Espectrometría de masa para ID
  - MALDI-TOF
  - Ionización por electrospray
- Vitek 2C

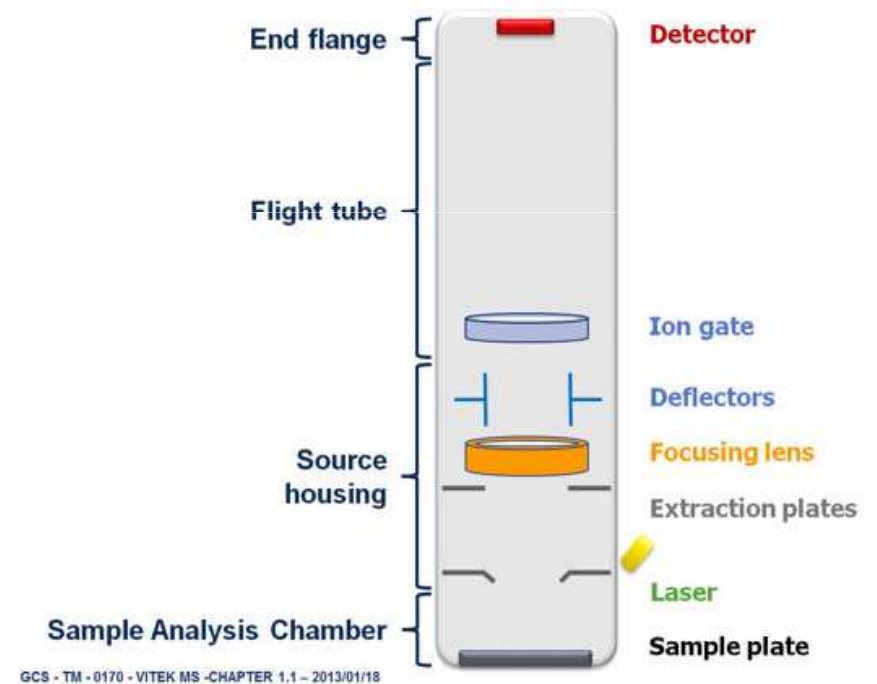


## Amplificación de ácidos nucleicos (muestra)

- PCR de punto final
- RT-PCR
- Diagnóstico molecular isotérmico
- Diagnóstico molecular en cartucho
- Multiplex para diagnóstico por patología
- Secuenciación de última generación

# Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight

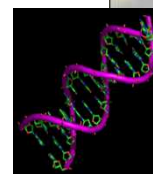
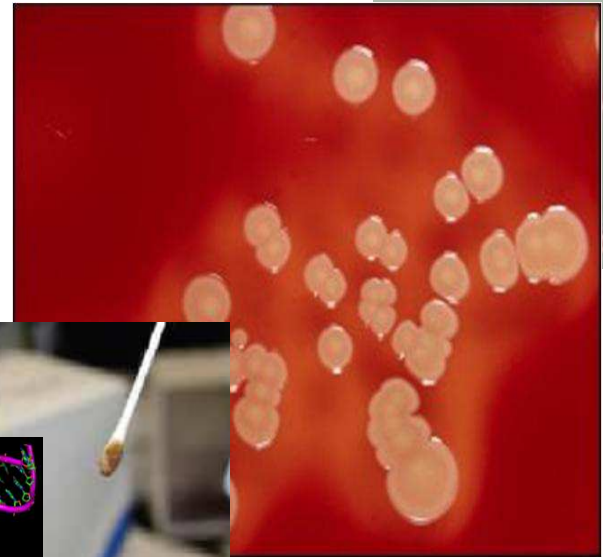
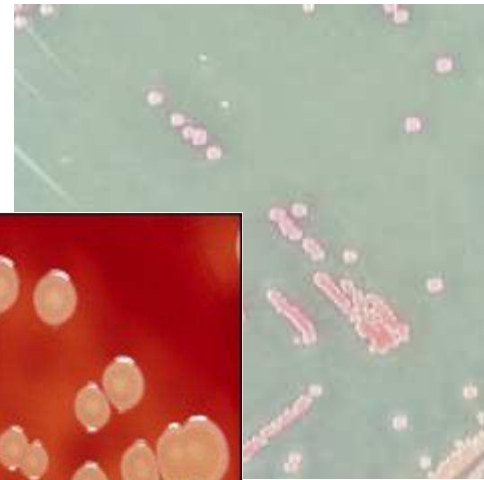
- Se obtienen espectros cuyos picos se comparan con el patrón característico para una especie, género o familia de microorganismos, lo que resulta en la ID del microorganismo





# SAMR

- La colonización del huésped por SAMS y SAMR es importante en la epidemiología de las infecciones causadas por este MO
- También tener en cuenta al personal de la salud
  - Detección de MR en los aislamientos clínicos
  - Cultivos de vigilancia en hisopados nasales
    - Cultivo medio selectivo o cromogénico
    - RT-PCR
      - Limitaciones
        - SAMS + SCNMR



# EVR

- La presión de selección actúa sobre MDROs ya que los pacientes pueden estar colonizados por más de uno al mismo tiempo
- Programa de vigilancia activa
  - Detección de VR en los aislamientos clínicos
  - Cultivo medio selectivo o cromogénico
  - RT-PCR
    - Limitaciones
      - Presencia de inhibidores en la muestra que pueden generar falsos negativos
      - *vanB* presente en microbiota anaeróbica habitual del TGI



# Detección de carbapenemasas en los aislamientos clínicos

- ❑ Difusión/ Dilución
- ❑ Prueba de Hodge modificada
  - Pierde especificidad si hay BLEE o AmpC combinado con pérdida o mutación de porinas
  - No distingue entre las carbapenemasas
  - Tiene baja sensibilidad para NDM y algunas OXA
    - Hodge mejorado (TritonX-100)
- ❑ Sinergia con inhibidores (borónico, EDTA)
- ❑ Blue Carba
  - Útil para detectar carbapenemasas de distintas clases aunque es poco sensible para clase D.
  - No realizar sobre colonias desarrolladas en agar MacConkey
  - Tiene un TAT corto
- ❑ Espectrometría
  - Espectrofotometría UV
  - Espectrometría de masa
  - Cromatografía líquida combinada con espectrometría de masa
- ❑ Métodos moleculares

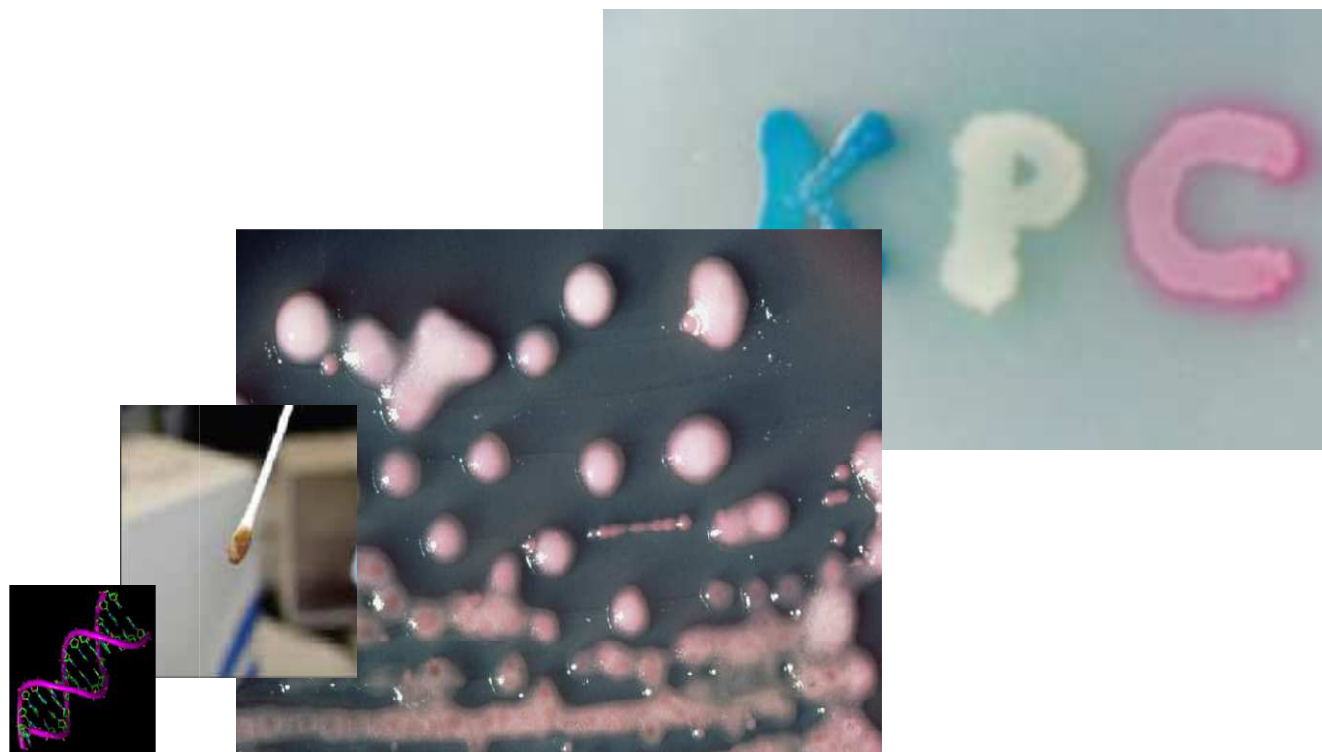
# Detección de portadores KPC

- Una buena prueba debe tener corto TAT, debe ser S y con E razonable, detectar varios tipos de carbapenemasa y ser costo efectiva

- Cultivo

- Protocolo del CDC
- Medios selectivos
- Medios cromogénicos

- Métodos moleculares



# Otros MDROs

El reservorio de los pacientes colonizados en el TGI es importante y puede presentarse contaminación de productos o equipos hospitalarios

- Detección en los aislamientos clínicos (ambiente)
  - Pueden crecer en los medios cromogénicos utilizados en los cultivos de vigilancia de hisopados rectales para CPOs
  - Medios cromogénicos en estudio
  - RT-PCR ( pendiente aprobación ANMAT)



# Métodos moleculares

- Detectan los determinantes genéticos que han sido caracterizados
  - Es importante el protocolo de extracción de ácidos nucleicos de la materia fecal
  - Costo
    - PCR de punto final simple o multiplex ( Gran cantidad de target)
    - Real Time PCR simple o multiplex ( In house o comerciales)
    - Loop- mediated isothermal amplification (LAMP) ( Baja complejidad)
    - Microarrays ( No sobre MF)
    - NGS ( Por ahora poco accesible para el laboratorio clínico )

# Métodos moleculares

---

- Detecta la presencia de material genético pero no dice que el MO está vivo
- Falta de “gold standard” para la validación de un método molecular nuevo cuando el cultivo da negativo
  - Diagnóstico clínico
  - Recurrir a otro método molecular que detecte otro target diferente
  - Muestras de referencia bien caracterizadas

# Métodos moleculares

- Tradicionalmente las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos se consideraban de “alta complejidad” por lo que requerían de personal altamente entrenado
  - In house
  - Comerciales
    - Pruebas de uso exclusivo para Investigación (RUO)
    - Pruebas para diagnóstico “in vitro”(IVD)
      - Certificadas para la Comunidad Europea (CE)
      - Certificadas para EEUU (FDA)
  - Extracción previa de los ácidos nucleicos
  - Probabilidad de contaminación



# Métodos moleculares

- El diagnóstico molecular ha revolucionado el diagnóstico clínico
- Al realizarse sobre muestra biológica ha generado un impacto significativo en el diagnóstico de enfermedades infecciosas
  - Detección de segmentos de DNA
  - Enzimas de restricción y secuenciación simple
    - *N. gonorrhoeae* / *C. trachomatis* (FDA )
  - Reacción de polimerasa en cadena
    - Estándar, Múltiple, Restriction Fragment Length Polymorphims, Reverse transcriptase, Real Time

# Métodos moleculares

- Pruebas para diagnóstico de *B. pertussis*
  - Cultivo o inmunofluorescencia
    - Baja sensibilidad y alta especificidad
  - Diagnóstico molecular por real time PCR
    - Alta sensibilidad y especificidad
- Pruebas para diagnóstico de CMV
  - Útiles en pacientes transplantados
  - Cuantificables para realizar seguimiento
  - Alta sensibilidad y especificidad

# Diagnóstico molecular

## □ Ventajas

- Resultados rápidos
- Técnicas estandarizadas y automatizadas
- Microorganismos de difícil crecimiento
- Mayor sensibilidad y especificidad

## □ Desventajas

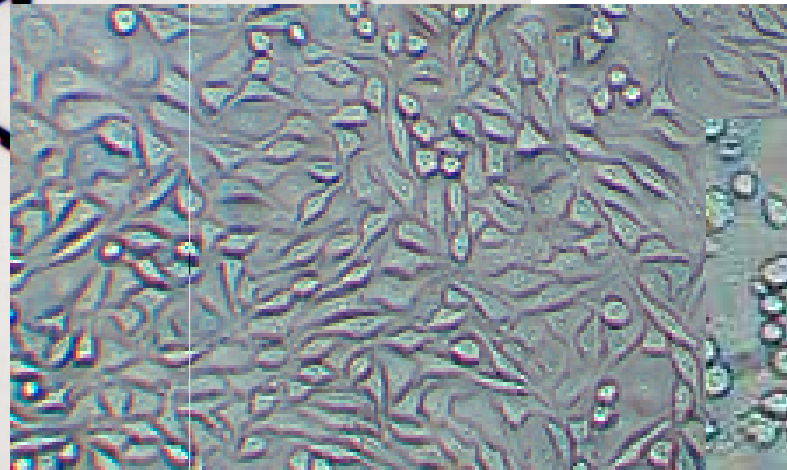
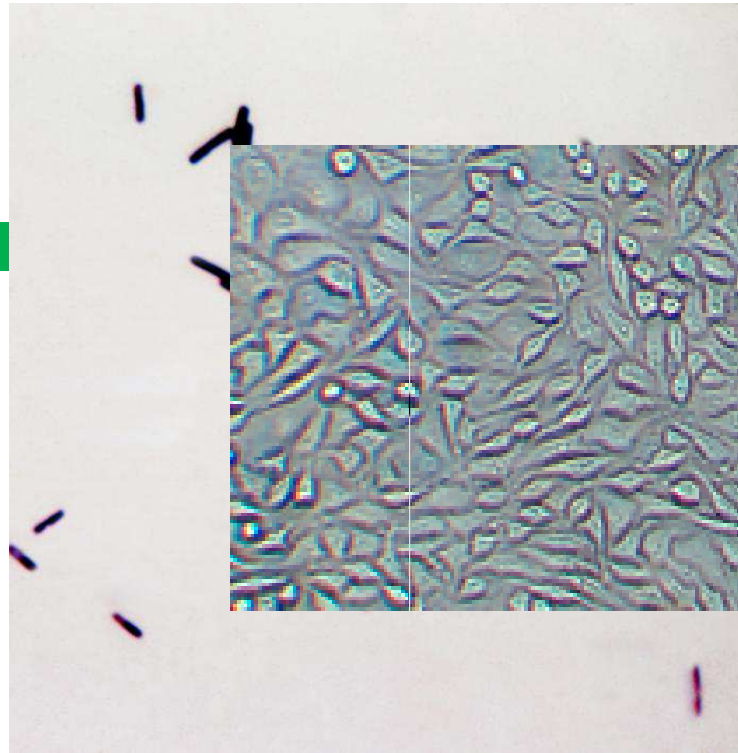
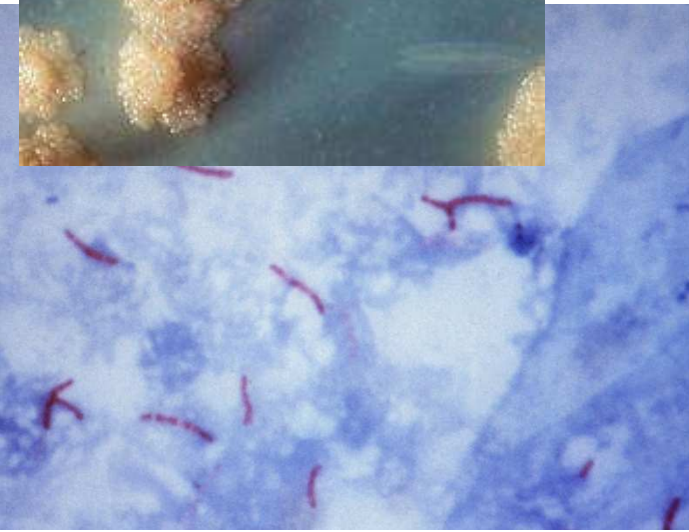
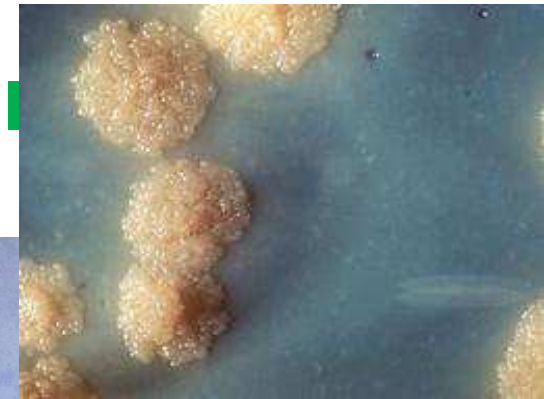
- Falsos positivos
  - Contaminación
- Falsos negativos
  - Mala extracción de DNA, Inhibidores
- Precio
- Cuál es el agente infeccioso
- No detecta sensibilidad a los antibióticos

# Métodos moleculares

- La automatización y simplificación del procedimiento han generado RT-PCR de “moderada complejidad” en equipos cerrados que integran los procesos de extracción y purificación de ácidos nucleicos directamente desde la muestra, con los de amplificación e identificación de los segmentos obtenidos.

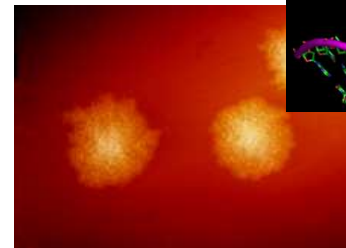
- “De la muestra al resultado”





Limitación  
No procesar muestras de pacientes tratados

Limitación  
Sólo procesar muestras de MF líquidas o no formadas



# Métodos moleculares

- ❑ Varios patógenos al mismo tiempo
- ❑ Resultados en 2 hs los 7 días durante las 24 hs

- ❑ Estudio del paciente por síndromes

- Respiratorio
- Diarrea
- Bacteriemia
- Meningitis



## The FilmArray BCID Panel

Simultaneous detection of 27 targets:



### Gram + Bacteria

- *Staphylococcus*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Enterococcus*
- *Listeria monocytogenes*



### Gram - Bacteria

- *Klebsiella oxytoca*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Serratia*
- *Proteus*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria meningitidis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Enterobacteriaceae*
- *Escherichia coli*
- *Enterobacter cloacae* complex



### Fungi

- *Candida albicans*
- *Candida glabrata*
- *Candida krusei*
- *Candida parapsilosis*
- *Candida tropicalis*



### Antibiotic Resistance

- *mecA*
- *vanA / vanB*
- *KPC*

## The FilmArray GI Panel

Simultaneous detection of 23 targets:



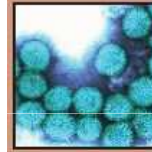
### Bacteria

- *Aeromonas*
- *Campylobacter*
- *Clostridium difficile*
- *Plesiomonas shigelloides*
- *Salmonella*
- *Vibrio*
- *Vibrio cholerae*
- *Yersinia enterocolitica*



### Diarrheagenic *E. coli*/Shigella

- Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) *lt/st*
- Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
- Shiga toxin producing *E. coli* (STEC) *stx1/stx2*
- *Shigella*/Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- Enteraggregative *E. coli* (EAEC)
- *E. coli* O157



### Viruses

- Adenovirus F40/41
- Human Astrovirus
- Norovirus GI/GII
- Rotavirus A
- Sapovirus



### Protozoa

- *Cryptosporidium*
- *Cyclospora cayentanensis*
- *Entamoeba histolytica*
- *Giardia lamblia*

## FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel

1 Test. 14 Targets. All in about an hour.



### Bacteria

*Escherichia coli* K1  
*Haemophilus influenzae*  
*Listeria monocytogenes*  
*Neisseria meningitidis*  
*Streptococcus agalactiae*  
*Streptococcus pneumoniae*



### Viruses

Cytomegalovirus (CMV)  
Enterovirus  
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)  
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)  
Human herpesvirus 6 (HHV-6)  
Human parechovirus  
Varicella zoster virus (VZV)



### Fungi

*Cryptococcus neoformans/gattii*



1 Test. 20 Respiratory Pathogens. All in about an hour.



### Viruses

- Adenovirus
- Coronavirus HKU1
- Coronavirus NL63
- Coronavirus 229E
- Coronavirus OC-43
- Human Metapneumovirus
- Human Rhinovirus/Enterovirus:
- Influenza A
- Influenza A/H1
- Influenza A/H1-2009
- Influenza A/H3
- Influenza B
- Parainfluenza 1
- Parainfluenza 2
- Parainfluenza 3
- Parainfluenza 4
- Respiratory Syncytial Virus

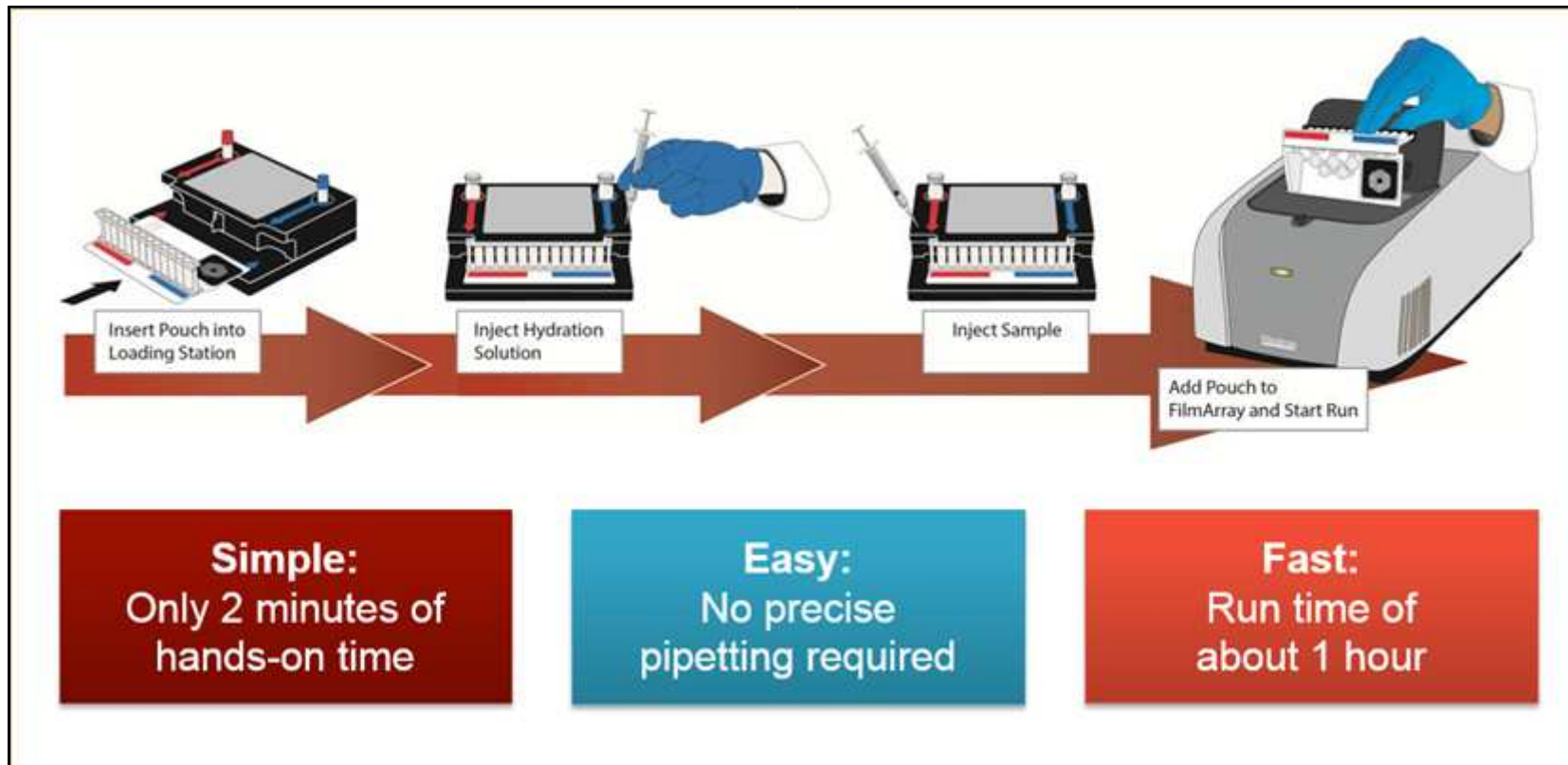


### Bacteria

- *Bordetella pertussis*
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Mycoplasma pneumoniae*



# Preparación del panel





# Infecciones respiratorias

---

- Inmunofluorescencia
  - Bajo costo, procesa varias muestras a la vez, fácil
  - Operador dependiente, microscopio de fluorescencia, controles
- Diagnóstico molecular
  - Resultado en horas disponible 24 por 7 días
  - Realizado en el lugar de atención
  - Precio

# Comparison of the Biofire FilmArray RP, Genmark eSensor RVP, Luminex xTAG RVPv1, and Luminex xTAG RVP Fast Multiplex Assays for Detection of Respiratory Viruses

Elena B. Popowitch,<sup>a</sup> Stacey S. O'Neill,<sup>a</sup> Melissa B. Miller<sup>a,b</sup>

Journal of Clinical Microbiology p. 1528–1533 May 2013 Volume 51 Number 5

TABLE 1 Details for the four FDA-cleared respiratory panels

| Assay <sup>a</sup>        | Manufacturer                  | Methodology                     | Preextraction required | Viruses reported <sup>b</sup>                           |
|---------------------------|-------------------------------|---------------------------------|------------------------|---|
| FilmArray RP <sup>c</sup> | BioFire Diagnostics           | Endpoint melt curve analysis    | No                     | AdV; CoV HKU1, NL63; influenza virus B; MPV;            |
| eSensor RVP               | GenMark Dx                    | Voltammetry                     | Yes                    | AdV (C, B/E); influenza virus B; MPV; PIV1, -2, -3;     |
| xTAG RVPv1                | Luminex Molecular Diagnostics | Fluorescence-labeled bead array | Yes                    | AdV; influenza virus A (H1N1); PIV1, -2, -3; RSV (A/B); |
| xTAG RVP fast             | Luminex Molecular Diagnostics | Fluorescence-labeled bead array | Yes                    | AdV; influenza virus A (H1N1); RSV; RhV/EV              |

<sup>a</sup> All four panels are FDA cleared for testing on NP swabs only.

<sup>b</sup> AdV, adenovirus; CoV, coronavirus; MPV, metapneumovirus; PIV, parainfluenza virus; RSV, respiratory syncytial virus; RhV, rhinovirus.

<sup>c</sup> Note that, after the completion of this study, the FilmArray RP was FDA cleared for additional targets which were not assessed in our study: *Bordetella pertussis*, *Chlamydomytila pneumoniae*, and *Mycoplasma pneumoniae*.

TABLE 5 Workflow analysis of the four platforms

| Parameter                                      | Time <sup>a</sup> (h) or other value as indicated using |             |            |               |
|--|---|-------------|------------|---------------|
|  | FilmArray RP  | eSensor RVP | xTAG RVPv1 | xTAG RVP fast |
| Off-board extraction <sup>b</sup>              | No  | Yes         | Yes        | Yes           |
| No. of steps                                   | 1   | 3           | 5          | 2             |
| Hands-on time                                  | 0.05  | 0.92        | 1.2        | 0.75          |
| Instrument time                                | 1.1   | 5.0         | 5.5        | 2.75          |
| Time to assay completion                       | 1.1   | 6.0         | 6.6        | 3.5           |
| Total time to result                           | 1.2   | 7.2         | 7.8        | 4.8           |
| No. of samples processed in 8 h per instrument | 7   | 21          | 21         | 21            |

<sup>a</sup> Times are per sample for FilmArray RP and per batch for eSensor RVP, xTAG RVPv1, and xTAG RVP fast.

<sup>b</sup> Off-board extraction was done with the bioMérieux EasyMag, which has a hands-on time of ~30 min and total extraction time of 77 min.

# Gastroenteritis infecciosa

- Es una causa importante de morbimortalidad global
- Intoxicaciones alimentarias o asociadas al cuidado de la salud
- Presentación clínica no ayuda al diagnóstico diferencial aunque se las puede separar en acuosas, persistentes o sanguinolentas
- El diagnóstico etiológico específico de la gastroenteritis infecciosa provee información para
  - Manejo del caso en particular
  - Control de infecciones
  - Intervenciones en la salud pública

# Multicenter Evaluation of the BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel for Etiologic Diagnosis of Infectious Gastroenteritis

Sarah N. Buss,<sup>a\*</sup> Amy Leber,<sup>d</sup> Kimberle Chapin,<sup>c</sup> Paul D. Fey,<sup>a</sup> Matthew J. Bankowski,<sup>d,e</sup> Matthew K. Jones,<sup>f</sup> Margarita Rogatcheva,<sup>f</sup> Kristen J. Kanack,<sup>f</sup> Kevin M. Bourzac<sup>f</sup>

Journal of Clinical Microbiology March 2015 Volume 53 Number 3

TABLE 5 Performance summary and characteristics of the FilmArray GI Panel versus those of comparator assays (stool culture or PCR and sequencing)

| Analyte  | No. of detections <sup>a</sup> |     | Sensitivity/PPA <sup>b</sup> |      |                 | Specificity/NPA <sup>b</sup> |      |           |
|--|--------------------------------|-----|------------------------------|------|-----------------|------------------------------|------|-----------|
|  | C                              | FA  | TP/(TP+FN)                   | %    | 95% CI (%)      | TN/(TN+FP)                   | %    | 95% CI    |
| <i>Campylobacter</i> spp.                        | 35                             | 58  | 34/35                        | 97.1 | 85.1–99.9       | 1,497/1,521                  | 98.4 | 97.7–99.9 |
| <i>C. difficile</i>                              | 165                            | 204 | 163/165                      | 98.8 | 95.7–99.9       | 1,350/1,391                  | 97.1 | 96.0–97.7 |
| <i>P. shigelloides</i>                           | 3                              | 18  | 3/3                          | 100  | 29.2–100        | 1,538/1,553                  | 99.0 | 98.4–99.9 |
| <i>Salmonella</i> spp.                           | 31                             | 37  | 31/31                        | 100  | 88.8–100        | 1,519/1,525                  | 99.6 | 99.1–99.9 |
| <i>Vibrio</i> spp.                               | 0                              | 2   | 0/0                          |      |                 | 1,554/1,556                  | 99.9 | 99.5–100  |
| <i>V. cholerae</i>                               | 0                              | 1   | 0/0                          |      |                 | 1,555/1,556                  | 99.9 | 99.6–100  |
| <i>Y. enterocolitica</i>                         | 1                              | 1   | 1/1                          | 100  | NA <sup>c</sup> | 1,555/1,555                  | 100  | 99.8–100  |
| EAEC   | 83                             | 109 | 82/83                        | 98.8 | 93.5–100        | 1,446/1,473                  | 98.2 | 97.3–98.8 |
| EPEC   | 317                            | 348 | 314/317                      | 99.1 | 97.3–99.8       | 1,167/1,201                  | 97.2 | 96.1–98.1 |
| ETEC   | 22                             | 31  | 22/22                        | 100  | 84.6–100        | 1,525/1,534                  | 99.4 | 98.9–99.9 |
| STEC   | 33                             | 38  | 33/33                        | 100  | 89.4–100        | 1,518/1,523                  | 99.7 | 99.2–99.9 |
| <i>E. coli</i> O157                              | 3                              | 4   | 3/3                          | 100  | 29.2–100        | 34/35                        | 97.1 | 85.1–99.9 |
| <i>Shigella</i> spp./EIEC (culture) <sup>d</sup> | 49 (31)                        | 49  | 47/49                        | 95.9 | 86.0–99.5       | 1,505/1,507                  | 99.9 | 99.5–100  |
| <i>Cryptosporidium</i> spp.                      | 18                             | 24  | 18/18                        | 100  | 81.5–100        | 1,532/1,538                  | 99.6 | 99.2–99.9 |
| <i>C. cayetanensis</i>                           | 19                             | 19  | 19/19                        | 100  | 82.4–100        | 1,537/1,537                  | 100  | 99.8–100  |
| <i>E. histolytica</i>                            | 0                              | 0   | 0/0                          |      |                 | 1,556/1,556                  | 100  | 99.8–100  |
| <i>G. lamblia</i>                                | 20                             | 27  | 20/20                        | 100  | 83.2–100        | 1,529/1,536                  | 99.5 | 99.1–99.9 |
| Adenovirus F 40/41                               | 44                             | 55  | 42/44                        | 95.5 | 84.5–99.4       | 1,499/1,512                  | 99.1 | 98.5–99.9 |
| Astrovirus                                       | 7                              | 8   | 7/7                          | 100  | 59.0–100        | 1,548/1,549                  | 99.9 | 99.6–100  |
| Norovirus GI/GII                                 | 55                             | 70  | 52/55                        | 94.5 | 84.9–98.9       | 1,483/1,501                  | 98.8 | 98.1–99.9 |
| Rotavirus A                                      | 6                              | 18  | 6/6                          | 100  | 54.1–100        | 1,538/1,550                  | 99.2 | 98.7–99.9 |
| Sapovirus  | 46                             | 59  | 46/46                        | 100  | 92.3–100        | 1,497/1,510                  | 99.1 | 98.5–99.9 |

<sup>a</sup> C, comparator method as defined in Table 1; FA, FilmArray GI Panel.

<sup>b</sup> Targets that utilized clinical reference standard comparator methods (i.e., stool culture) are reported in terms of sensitivity and specificity. However, the terms positive and negative percent agreement (PPA and NPA, respectively) are typically used to describe performances for analytes that used PCR as a reference. As detailed in Materials and Methods, sensitivity is calculated in the same manner as is PPA, and specificity is calculated in the same manner as is NPA. CI, confidence interval.

<sup>c</sup> NA, not applicable.

<sup>d</sup> Molecular methods targeting both *Shigella* spp. and EIEC were utilized for comparator testing and calculation of FilmArray GI Panel performance characteristics. However, culture was used by the clinical study sites to identify *Shigella* spp. for informational purposes, and the culture results are noted in parentheses.

Resultados de *C. difficile* serán  
difícil interpretación en los  
menores de 1 año

Resultados positivos se  
explican por  
contaminación cruzada con  
información genética  
de *Hafnia alvei*  
seri

Resultados falsos positivos se  
explican por  
contaminación cruzada con  
organismos  
similares de la  
flora fecal

# Meningitis/ encefalitis

---

- Pueden tener alta morbimortalidad sobre todo las bacterianas
- Mejor outcome cuando el tratamiento adecuado se inicia rápidamente
- Secuelas y costos hospitalarios
- Meningitis asépticas (virales)
- Encefalitis (virales )
  - Parámetros fisicoquímicos en el LCR
  - Cultivo

# Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens

Amy L. Leber,<sup>a</sup> Kathy Everhart,<sup>a</sup> Joan-Miquel Balada-Llasat,<sup>b</sup> Jillian Cullison,<sup>b</sup> Judy Daly,<sup>c</sup> Sarah Holt,<sup>c</sup> Paul Lephart,<sup>d</sup> Hossein Salimnia,<sup>d</sup> Paul C. Schreckenberger,<sup>e</sup> Sharon DesJarlais,<sup>e</sup> Sharon L. Reed,<sup>f</sup> Kimberle C. Chapin,<sup>g</sup> Lindsay LeBlanc,<sup>g</sup> J. Kristie Johnson,<sup>h</sup> Nicole L. Soliven,<sup>h</sup> Karen C. Carroll,<sup>i</sup> Jo-Anne Miller,<sup>j</sup> Jennifer Dien Bard,<sup>k</sup> Javier Mestas,<sup>k</sup> Matthew Bankowski,<sup>l,m</sup> Tori Enomoto,<sup>l</sup> Andrew C. Hemmert,<sup>n</sup> Kevin M. Bourzac<sup>n</sup>

September 2016 Volume 54 Number 9 Journal of Clinical Microbiology

TABLE 3 Performance summary and characteristics of the FilmArray ME Panel versus those of the comparator assays<sup>a</sup>

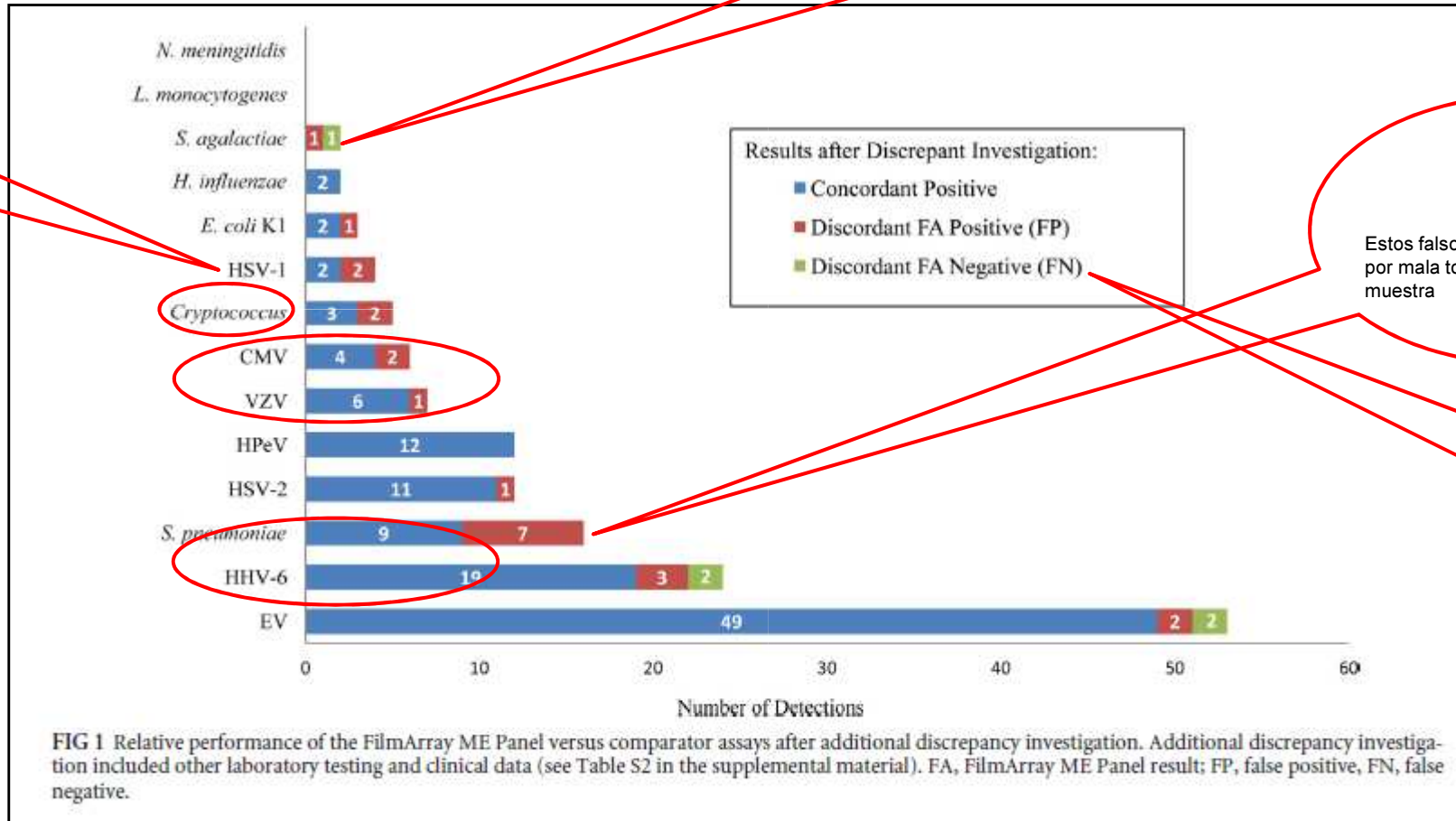
| Analyte                        | Sensitivity/PPA <sup>b</sup> |      |           | Specificity/NPA <sup>b</sup> |      |          |
|--------------------------------|------------------------------|------|-----------|------------------------------|------|----------|
|                                | TP/(TP + FN) <sup>c</sup>    | %    | 95% CI    | TN/(TN + FP) <sup>c</sup>    | %    | 95% CI   |
| <b>Bacteria</b>                |                              |      |           |                              |      |          |
| <i>E. coli</i> K1              | 2/2                          | 100  | 34.2–100  | 1,557/1,558                  | 99.9 | 99.6–100 |
| <i>H. influenzae</i>           | 1/1                          | 100  |           | 1,558/1,559                  | 99.9 | 99.6–100 |
| <i>L. monocytogenes</i>        | 0/0                          |      |           | 1,560/1,560                  | 100  | 99.8–100 |
| <i>N. meningitidis</i>         | 0/0                          |      |           | 1,560/1,560                  | 100  | 99.8–100 |
| <i>S. agalactiae</i>           | 0/1                          | 0.0  |           | 1,558/1,559                  | 99.9 | 99.6–100 |
| <i>S. pneumoniae</i>           | 4/4                          | 100  | 51.0–100  | 1,544/1,556                  | 99.2 | 98.7–100 |
| <b>Viruses</b>                 |                              |      |           |                              |      |          |
| CMV                            | 3/3                          | 100  | 43.9–100  | 1,554/1,557                  | 99.8 | 99.4–100 |
| EV                             | 44/46                        | 95.7 | 85.5–98.8 | 1,507/1,514                  | 99.5 | 99.0–100 |
| HSV-1                          | 2/2                          | 100  | 34.2–100  | 1,556/1,558                  | 99.9 | 99.5–100 |
| HSV-2                          | 10/10                        | 100  | 72.2–100  | 1,548/1,550                  | 99.9 | 99.5–100 |
| HHV-6                          | 18/21                        | 85.7 | 65.4–95.0 | 1,532/1,536                  | 99.7 | 99.3–100 |
| HPeV                           | 9/9                          | 100  | 70.1–100  | 1,548/1,551                  | 99.8 | 99.4–100 |
| VZV                            | 4/4                          | 100  | 51.0–100  | 1,553/1,556                  | 99.8 | 99.4–100 |
| <b>Yeast</b>                   |                              |      |           |                              |      |          |
| <i>C. neoformans/C. gattii</i> | 1/1                          | 100  |           | 1,555/1,559                  | 99.7 | 99.3–100 |

<sup>a</sup> These data are based on comparator assay only and do not reflect any discordant analysis.  
<sup>b</sup> The performance measures of sensitivity and specificity only refer to bacterial analytes for which the gold standard of CSF bacterial culture was used as the reference method. Performance measures of positive percentage of agreement (PPA) and negative percentage of agreement (NPA) refer to all other analytes, for which PCR/sequencing assays were used as comparator methods.  
<sup>c</sup> A FilmArray ME result (detected or not detected) was considered true positive (TP) or true negative (TN) only when it agreed with the result (positive or negative) from the comparator method. When the results were discordant, they were considered to be either false negative (FN) or false positive (FP) relative to the comparator method.

# 1560 muestras de LCR

El falso negativo se pueden explicar si el paciente tiene una infección de partes blandas y no una meningitis

Los positivos se explican por mala toma o procesamiento de la muestra



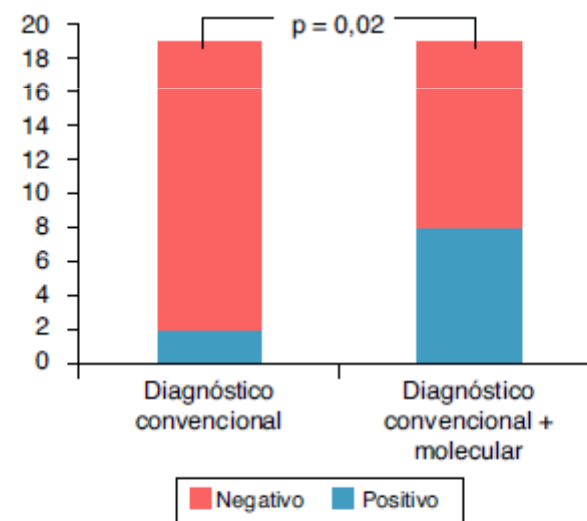
Estos falsos positivos se pueden explicar por mala toma o procesamiento de la muestra

Falsos negativos:  
Gram y cultivo,  
Estudiar otras muestras del p

# Diagnóstico etiológico en meningitis y encefalitis por técnicas de biología molecular

Natalia Conca<sup>a,\*</sup>, María Elena Santolaya<sup>b</sup>, Mauricio J. Farfan<sup>c</sup>, Fernanda Cofré<sup>a</sup>, Alejandra Vergara<sup>c</sup>, Liliana Salazar<sup>d</sup> y Juan Pablo Torres<sup>b,c</sup>

Rev Chil Pediatr. 2016;**87**(1):24---30



**Figura 2** Diagnóstico etiológico en 19 niños con sospecha de meningitis/meningoencefalitis utilizando diagnóstico microbiológico convencional versus diagnóstico convencional y molecular.



# Sepsis

---


- Sepsis causa una significativa morbimortalidad
- La ID rápida y certera de los MO cultivados y la elección del ATB adecuado son críticos en el tratamiento de la sepsis.
- La demora en el tratamiento o en la selección del tratamiento lleva a incrementos en la mortalidad, en los días de estadía en el hospital, los costos y la resistencia a los ATBs
- El uso del ATB adecuado desde el principio mejora los outcomes de los pacientes

# Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction–Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing

Ritu Banerjee,<sup>1,a</sup> Christine B. Teng,<sup>2,a</sup> Scott A. Cunningham,<sup>3</sup> Sherry M. Ihde,<sup>3</sup> James M. Steckelberg,<sup>4</sup> James P. Moriarty,<sup>5</sup> Nilay D. Shah,<sup>5</sup> Jayawant N. Mandrekar,<sup>6</sup> and Robin Patel<sup>3,4</sup>

CID 2015:61 (1 October)

# Benefits of Adding a Rapid PCR-Based Blood Culture Identification Panel to an Established Antimicrobial Stewardship Program

 Shawn H. MacVane,<sup>a,b</sup> Frederick S. Nolte<sup>c</sup>

Department of Pharmacy,<sup>a</sup> Division of Infectious Diseases,<sup>b</sup> and Department of Pathology and Laboratory Medicine,<sup>c</sup> Medical University of South Carolina, Charleston, South Carolina, USA

# Nuevos métodos

## NGS

- Describe el contenido genómico de comunidades microbianas con propósitos diagnósticos, terapéuticos y de salud pública
- Es independiente del cultivo y no es limitado como la PCR
- MiSeq y HiSeq (Illumina) / Ion Torrent
  - 16S rRNA
- Secuenciación de toda la muestra
  - Secuenciación metagenómica



# Nuevos métodos.....

## Realidad o fantasía ?

- Microbiología Clínica
  - Cambio en el personal
    - La buenos microbiólogos son difíciles de encontrar
  - Innovación técnica
    - Siembra a partir de medio líquido
    - Espectrometría de masa con MALDI-TOF
      - Colonias aisladas
  - Calidad
  - Bioseguridad



# Nuevos métodos.....

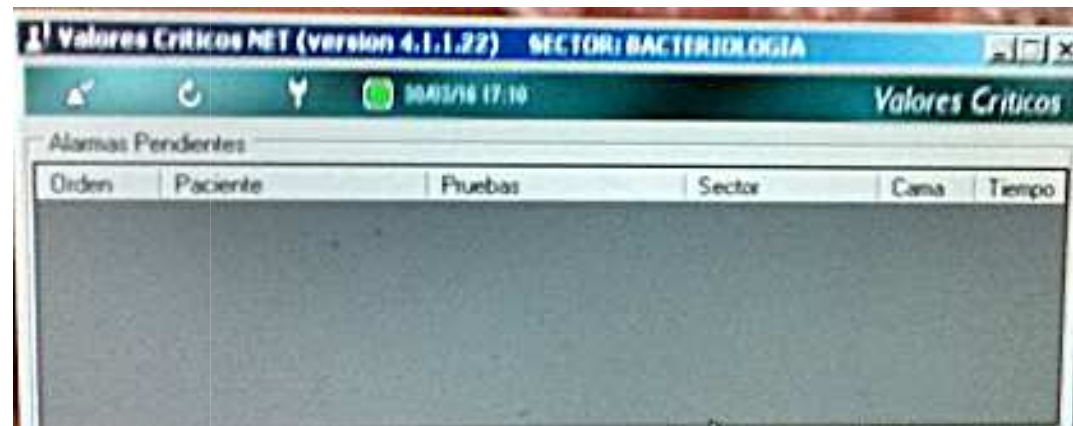
---

- Implementación de técnicas moleculares en el ámbito público y privado
- Diagnósticos precisos y de calidad
- Interpretación de los resultados obtenidos. Ventajas y limitaciones
- Entrenar a los futuros profesionales en el uso de estas metodologías
- Diseñar, implementar, estandarizar, controlar e interpretar estas herramientas diagnósticas

# Comunicación efectiva

70 % de las decisiones médicas se basan en resultados de laboratorio

- Si son pruebas rápidas deben estar disponibles 7 por 24 para que realmente el paciente se beneficie por el TAT corto



Valores Criticos NET (version 4.1.1.22) SECTOR: BACTERIOLOGIA

10/03/16 17:10

Valores Criticos

Alarmas Pendientes:

| Orden | Paciente | Pruebas | Sector | Cama | Tiempo |
|-------|----------|---------|--------|------|--------|
|-------|----------|---------|--------|------|--------|

# Para terminar...

- El sistema informático une las expectativas de los médicos de obtener resultados rápidos y confiables con las del laboratorio que emite esos resultados
- Es el laboratorio el que afronta el costo de los insumos aunque la relación costo beneficio dentro del Laboratorio no sea la adecuada, ya que ....

Esta INVERSION en diagnóstico microbiológico debería generar por su uso adecuado mejores outcomes en los pacientes con reducción en los tiempos de hospitalización y disminución de los procedimientos a los que sean sometidos resultando en un ahorro en el gasto sanitario por paciente para la institución .



Muchas gracias

[graciela.greco@hiba.org.ar](mailto:graciela.greco@hiba.org.ar)