

APPLICAZIONI DI UNA MULTIPLEX PCR RAPIDA NELLA DIAGNOSI MOLECOLARE DELLE MENINGOENCEFALITI

R. Narra¹, L. Greco¹, S. Uceda¹, A. Zoccoli¹, A. Orlandi¹, L. Giovanna¹

¹Unità Operativa di Virologia IRCCS Fondazione Policlinico Ca' Granda, Milano

INTRODUZIONE

Il FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel è un test diagnostico multiplex qualitativo in vitro in grado di rilevare simultaneamente in circa 70 minuti batteri (*E. coli* K1, *H. influenzae*, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*), virus (Cytomegalovirus, Enterovirus, Herpes simplex virus 1, Herpes simplex virus, Human herpesvirus 6, Human parechovirus, Varicella zoster virus) e lieviti (*Cryptococcus neoformans/gattii*) direttamente da campioni di fluido cerebrospinale di soggetti con segni e/o sintomi di meningite e/o encefalite. Lo scopo di questo lavoro è stato valutare l'utilità clinica di una metodica molecolare multiplex rapida per la diagnosi di meningo-encefaliti. Sono stati considerati 53 campioni di liquido cerebrospinale provenienti dal Pronto Soccorso generale e pediatrico della Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, nel periodo gennaio-settembre 2016. Inoltre si sono validati i limiti di sensibilità per i diversi microrganismi dichiarati dalla casa produttrice.

METODI

Al fine di valutare la reale sensibilità del sistema FilmArray, è stato testato il limite di rilevazione riportato dalla casa produttrice: per i target virali, campioni di liquido cefalorachidiano negativi sono stati infettati utilizzando campioni a carica virale nota, derivati dal Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) positivi ai virus d'interesse. Le diluizioni sono state testate con Film Array e con la metodica di routine (estrazione con EZ Advanced XL e amplificazione con FTD Viral Meningitis). Per i target batterici, invece, a partire da un ceppo noto, sono state effettuate delle diluizioni seriali fino al raggiungimento della concentrazione (CFU/mL) pari al limite di sensibilità dichiarato. I campioni ottenuti sono stati poi testati con Film Array e riseminati in piastra. Il confronto per i 53 campioni clinici è stato svolto con la metodica FTD Bacterial/Neonatal Meningitis.

RISULTATI

Su 53 campioni testati per la comparazione, 41(77.4%) sono negativi e 11(20.6%) positivi per entrambe le metodiche (patogeni rinvenuti: 1 VZV, 3 *S. pneumoniae*, 1 *S. agalactiae*, 2 HPeV, 1 Enterovirus, 1 *N. meningitidis*, 1 HSV1). Solo un campione risulta discordante, positivo per HHV6 con il Film Array. Quest'ultimo campione è stato tuttavia considerato negativo, poiché in letteratura si ha riscontro di falsi positivi relativi a questo target. Per quanto riguarda i limiti di sensibilità, questi si sono confermati per tutti i target virali (VZV, HSV1, HSV2, HHV6, HPeV), risultando anche in alcuni casi inferiori (HHV6). Tra i target batterici, *S. agalactiae* è risultato positivo a concentrazione di 10⁴ CFU/ml.

CONCLUSIONI

I dati preliminari del nostro studio evidenziano il potenziale impatto clinico del FilmArray per la diagnosi rapida delle meningoencefaliti inclusa l'ottimizzazione in tempo reale della terapia antibatterica e la riduzione dell'uso inutile di Aciclovir. I casi sintomatici, negativi al FilmArray, devono tuttavia indurre a considerare lo studio dei microorganismi non compresi nel pannello, o presenti in bassissima concentrazione.