

Impacto de la disponibilidad de la prueba molecular multiplex M/E en la duración del tratamiento antibiótico en niños con sospecha de infección del sistema nervioso central. Un estudio cuasi-experimental.

Isabella Cosme ¹, María Alejandra Ramírez ², Carlos Adrián Peñata ³, Ana María Atehortúa ⁴, Claudia Beltrán-Arroyave ⁵, Iván D. Flórez ⁶

1. Departamento de pediatría y puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Correo: isabella.cosme@udea.edu.co
2. Departamento de pediatría y puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Correo: jandican@hotmail.com
3. Microbiólogo. Hospital San Vicente Fundación. correo: carlosadrian.penata@sanvicentefundacion.com
4. Dirección Científica Clínica las Américas, . correo: anamaria.nurse@gmail.com
5. Clínica del Prado, Clínica el Rosario, Hospital Infantil Concejo de Medellín. Docente Departamento de pediatría y puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Correo: claudia.beltran@udea.edu.co
6. Departamento de pediatría y puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Correo: ivan.florez@udea.edu.co

Resumen

Introducción: El pronóstico de las infecciones del sistema nervioso central (SNC) depende del diagnóstico oportuno y el inicio precoz de un tratamiento adecuado. El panel molecular para meningitis y encefalitis FilmArray (MEFA) permite la detección de patógenos implicados en infecciones de SNC de forma rápida y con ello, se pretende agilizar la toma de decisiones en los pacientes. Este estudio pretende evaluar el impacto que tiene el uso del panel MEFA en la duración de la terapia antibiótica y antiviral. **Métodos:** se realizó un estudio cuasi-experimental, ambispectivo, en un hospital infantil de tercer nivel, en niños con sospecha clínica de neuroinfección. Se analizaron tres períodos de tiempo según la disponibilidad del panel MEFA. Grupo 1: no disponible, grupo 2: disponible según contratación de la aseguradora y bajo autorización administrativa, grupo 3 disponible en forma gratuita para toda la población. **Resultados:** En 490 pacientes (187 en el grupo 1, 189 en el grupo 2 y 114 en el grupo 3) con sospecha de neuroinfección, se realizaron 182 paneles MEFA, y fueron positivos 31 (17%). De estos, 54.8% (17 pacientes) tuvieron una detección viral y 38.7% (12 pacientes) una detección bacteriana. No tuvieron ninguna detección 151 pacientes. En 22/151 (14.6%) se suspendió el tratamiento antibiótico con el resultado de la prueba y en 20/151 (13.2%) pacientes, se evitó el inicio del mismo. Lo anterior resultó en la disminución significativa de 7 días en el total de días de tratamiento antibiótico en el grupo 2 ($p=0.02$) y de 4.5 días en el grupo 3 ($p=0.01$). Sin embargo, al comparar entre grupos los desenlaces tales como duración de tratamiento y estancia hospitalaria, no hubo significancia estadística. **Conclusión:** cuando se realiza el panel MEFA en pacientes con sospecha de infecciones del SNC, un resultado negativo de la prueba, probablemente asociado a otras características clínicas y de estudios diagnósticos ayuda al clínico a tomar la decisión de la suspensión de terapia antibiótica empírica o no iniciar su uso.

Palabras clave: FilmArray, meningitis, encefalitis, infección del SNC, pediatría, duración de antibiótico.

1. Introducción

El espectro de las infecciones del sistema nervioso central (SNC) requieren un diagnóstico acucioso basado en las manifestaciones clínicas en concordancia con hallazgos imagenológicos y de laboratorio. Si bien tienen una incidencia baja, estimada en 4 a 30 casos/ 100.000 habitantes para meningitis y 3 a 7 casos/100.000 habitantes de encefalitis se asocian a una alta carga en mortalidad ⁽¹⁾ y morbilidad con secuelas graves como alteraciones en la visión, audición, convulsiones y disfunción cognitiva ⁽²⁾. Adicionalmente, generan una carga alta en estancia hospitalaria, por ejemplo, se calcula que en Estados Unidos ocurren 50,000 hospitalizaciones por neuroinfecciones al año, principalmente por Enterovirus que son aislados en el 80-92% de los casos ⁽³⁾. En Colombia, en el 2019, se notificaron 359 casos confirmados de meningitis por *H. Influenzae*, *S. pneumoniae* y *N. meningitidis*, 157 permanecieron probables al no tener confirmación etiológica, teniendo en cuenta que en estos datos no hubo diferenciación clara entre adultos y niños⁽²¹⁾. Sin embargo, hasta la semana epidemiológica 15, se reportó la mayor letalidad en menores de 5 años dada por *S. pneumoniae* (25%) ⁽⁴⁾. Particularmente en Antioquia, entre el 2011 y 2015, se realizó un estudio retrospectivo con 40 pacientes en el Hospital Universitario San Vicente donde se encontró que la determinación etiológica se logró sólo en un 22.5% de los casos, siendo *S. pneumoniae* el agente causal más frecuente, seguido de *H. influenzae* y *N. meningitidis*. No se encontró registro de epidemiología relacionada a infecciones virales. ⁽²²⁾

El pronóstico de las infecciones del SNC, particularmente el de la meningitis bacteriana, depende de un diagnóstico y tratamiento de instauración rápida que parte de una sospecha clínica. El análisis del citoquímico del líquido cefalorraquídeo (LCR) junto con la tinción de Gram son las pruebas más rápidas para guiar el tratamiento antibiótico. Sin embargo, estas tienen baja sensibilidad y especificidad ya que no arrojan información sobre el tipo de microorganismo específico; 15–60% de los casos de meningitis y 40–70% de los casos de encefalitis quedan sin diagnóstico etiológico ^(1,5). Incluso, solo el 25-30% de los pacientes con sospecha de meningitis, demuestra pleocitosis en LCR y solo el 2% tiene cultivo positivo ⁽⁶⁾. **En muchas ocasiones, ante un citoquímico de líquido cefalorraquídeo alterado y la imposibilidad de determinar una agente etiológico viral o bacteriano, es decir una meningitis aséptica, se recomienda continuar con tratamiento antibiótico que podría ser innecesario si se contara con un aislamiento específico en el caso de los virus, esto se asocia con incremento en la duración de antibióticos empíricos y a su vez se relaciona con generación de resistencia bacteriana, y mayores tiempos de estancia hospitalaria ^(7,8).**

Adicionalmente en el enfoque de pacientes con sospecha de neuroinfección, el clínico cuenta con otros criterios como hallazgos imagenológicos, electroencefalográficos y clínicos para descartarla o confirmarla. La resonancia magnética (RM) tiene mayor sensibilidad para la detección de paciente con neuroinfección, específicamente encefalitis. Un estudio realizado en el Hospital de Niños de San Diego (USA) encontró hallazgos anormales en el 23% de las tomografías y 50% de las RM realizadas en el periodo agudo, los hallazgos más comúnmente documentados fueron realce meníngeo, lesiones focales o difusas, hemorragias e hidrocefalia⁽²³⁾. Un estudio realizado en Medellín (Antioquia) reportó edema cerebral en el 22.7% de las tomografías realizadas y para la RM el principal hallazgo fue realce leptomeníngeo en 29.5%.⁽²¹⁾

Con el fin de mejorar la oportunidad en el diagnóstico y ampliar el panel etiológico en infecciones de sistema nervioso central, se desarrollaron pruebas basadas en la reacción

en cadena de la polimerasa; a partir del 2015 la FDA (del inglés *Food and Drug Administration*) autorizó el panel molecular para meningitis y encefalitis FilmArray (MEFA). Esta prueba puede detectar en 1 hora, a partir de 200 uL de LCR, 14 patógenos del SNC⁽⁹⁾. Según la única revisión sistemática de la literatura hasta la actualidad para evaluar la precisión del panel MEFA⁽⁹⁾, su sensibilidad a través de los diferentes estudios varía por cada microorganismo entre 88-94% y especificidad entre 88-100%, sin embargo, sería ideal hacer análisis para cada uno de los microorganismos, lo cual no fue posible debido a los escasos estudios publicados, siendo esto una limitación en los análisis de rendimiento de la prueba. Sólo 2 bacterias, *L. monocytogenes* y *N. meningitidis* no fueron detectadas por MEFA o cultivo durante el ensayo de validación inicial de la prueba, por lo que la sensibilidad no fue calculada, pero se reportaba especificidad del 100%⁽⁷⁾. El valor predictivo positivo del panel ME fue del 85,1% y el valor predictivo negativo fue del 98,7%⁽⁹⁾. El porcentaje de falsos positivos se reporta de 11,4%, siendo principalmente observada para *S. pneumoniae* (17.5%) seguido de *S. agalactiae* (15.4%). Para los falsos negativos, el valor fue del 2,2% del total de los resultados negativos, con una mayor proporción para VHS 1 y 2⁽⁹⁾.

El uso del panel MEFA incluido de forma rutinaria en el estudio de niños con sospecha de neuroinfección, pretende lograr un diagnóstico etiológico específico o la exclusión de microorganismos en el LCR de forma rápida, que permita al clínico optimizar precozmente la terapia antimicrobiana para así generar impacto en la duración de tratamiento antibióticos de amplio espectro.

El uso del panel MEFA incluido de forma rutinaria en el estudio de niños con sospecha de neuroinfección, pretende ampliar el diagnóstico etiológico de forma rápida, incluso en menos de 1 hora, y así permitir al clínico ajustar la terapia antimicrobiana: antiviral o antibactericida^(11, 15). Sin embargo, a pesar de que esta prueba lleva varios años disponibles, a la fecha no se ha estudiado en nuestro medio el impacto que esta prueba tenga sobre las decisiones médicas en niños con sospecha de neuroinfección especialmente relacionadas al uso de un tratamiento antibiótico.

Por lo anterior, decidimos realizar este estudio cuasi-experimental analizando tres períodos de tiempo en los que la disponibilidad del panel fue variable y evaluar su impacto sobre el uso de antibióticos y como objetivo secundario sobre la duración de la hospitalización.

2. Materiales y métodos

2.1 Diseño del estudio

Se trata de un estudio cuasi-experimental, ambispectivo, de tipo antes y después, realizado en el Hospital Infantil San Vicente Fundación (HUSVF) de Medellín, Colombia. La población de interés en todos los grupos de estudio fueron los niños menores de 14 años con sospecha clínica de neuroinfección (meningitis o encefalitis), en los que se realizó estudio del LCR para recibir tratamiento intrahospitalario. Se consideró la sospecha clínica, ya que permitía al médico tratante solicitar la prueba diagnóstica según su criterio, sabiendo que no estaba limitada a una autorización administrativa del panel. Excluimos niños con antecedente de derivación ventriculoperitoneal (DVP) o procedimientos quirúrgicos del SNC, con neuroinfección asociada al cuidado de la salud, sospecha de neurosífilis, y a

aquellos niños a quienes se les realizó punción lumbar con fines diferentes a descartar neuroinfección.

Analizamos las diferencias en la conducta médica tomada en tres grupos, definidos por diferentes periodos de tiempo. El grupo 1 fueron los pacientes atendidos entre julio de 2016 a julio de 2017, periodo en el que el panel MEFA no se encontraba disponible en el hospital. Durante este año el manejo de los casos con neuroinfección era por estudio de citoquímico, gram y cultivo de LCR, antígenos bacterianos, tinción de KOH según el caso, sin ejecución de pruebas moleculares, además de los criterios imagenológicos, electroencefalograma y manifestaciones clínicas.

El grupo 2, correspondió al periodo entre diciembre 16 de 2017 a diciembre 16 de 2018, cuando pruebas moleculares individuales y paneles moleculares (que contienen más de un microorganismo) inician su circulación en el HUSVF. Sin embargo, por su alto costo, no se encontraban incluidas dentro del plan obligatorio del sistema de salud del país; es decir, requería una solicitud adicional en su trámite para solicitarla, por lo que el médico tratante solía reservarla para casos específicos, principalmente, en pacientes con alta sospecha de neuroinfección por etiología viral y debía esperar la autorización por parte de la aseguradora.

El grupo 3, fue una cohorte prospectiva que inició el 17 de diciembre de 2018, inicialmente se estableció una semana de prueba, y se inició esta fase a partir del 24 de diciembre de 2018 hasta diciembre 24 de 2019. En este periodo, como parte de la implementación de este estudio, se puso a disposición la prueba para ser realizada en todos los niños que cumplieran los criterios de inclusión, sin ninguna restricción ya que se obtuvieron los paneles de forma gratuita para los pacientes, donados por la casa fabricante del panel. Adicionalmente, se realizaron los estudios de rutina descritos previamente sin influir en las decisiones del médico tratante. Antes de iniciar este periodo, implementamos una campaña educativa por medio electrónico (e-mail) y presencial en los diferentes servicios, incluido material visual en las carteleras del hospital, acerca de la disponibilidad gratuita de la prueba entre pediatras y subespecialistas del área de pediatría, para que esta se solicitará a todos los niños, simultáneamente con el estudio de LCR y cultivo ante la sospecha clínica de neuroinfección. La prueba se realizó independiente del resultado del citoquímico, Gram o cultivo, a todos los pacientes ingresados con sospecha de neuroinfección que cumplieran los criterios de elegibilidad.

Para el análisis microbiológico y molecular, se obtenían rutinariamente tres muestras de LCR en tubo seco que llegaban al laboratorio del HUSVF, se destinaba parte de esta para estudios como citoquímico, tinciones (Gram, KOH según el caso), cultivo y se tomaban 200 µl de LCR para estudio molecular. En promedio, según protocolos internos del laboratorio del HUSVF, el resultado del citoquímico y tinciones se obtiene en 1.5 horas, mientras que el cultivo tarda entre 3 y 5 días dependiendo del microorganismo implicado y el panel molecular (MEFA), según el inserto de la compañía productora, 1 hora aproximadamente. El panel de FilmArray→ Biofire® fue realizado por el equipo de biología molecular y demás personal entrenado del HUSVF y los resultados del panel MEFA, se adjuntaban a los estudios previamente mencionados y se informaba al médico tratante el resultado final en caso de ser positivo para alguno de los 14 microorganismos (*Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, Citomegalovirus, Enterovirus, Virus del Herpes Simple 1 (VHS-1)), VHS-2, Herpesvirus Humano 6 (VHH-6), Parechovirus Humano (HPeV), Virus Varicela Zóster (VZV) y *Cryptococcus neoformans / gattii*).

Los resultados de la prueba molecular se interpretaban a la luz de las otras herramientas diagnósticas por los médicos tratantes quienes desconocían el objetivo del estudio y no se encontraban influenciados por ninguno de los autores del trabajo de investigación.

2.2. Recolección de datos

La recolección de datos para los 3 grupos se realizó de forma retrospectiva, la información se obtuvo a partir de la historia clínica electrónica, basada en la identificación de pacientes suministradas por el laboratorio de microbiología, en este estudio no se tuvo interacción con pacientes en ninguno de los grupos ni con los médicos tratantes a la hora de tomar una decisión. A los pacientes elegibles se les aplicó los criterios de inclusión y exclusión. Una vez ingresado, se utilizó un formato establecido y aprobado previamente donde se incluían variables sociodemográficas, datos clínicos, microbiológicos, etiología de la infección, uso de antibióticos y antivirales y conductas tomadas por los diferentes médicos tratantes (pediatra, neurólogo o especialista en enfermedades infecciosas).

2.3. Desenlaces

El desenlace principal fue la duración del tratamiento antimicrobiano. Como secundario se evaluó la duración de la estancia hospitalaria.

2.4. Análisis estadístico

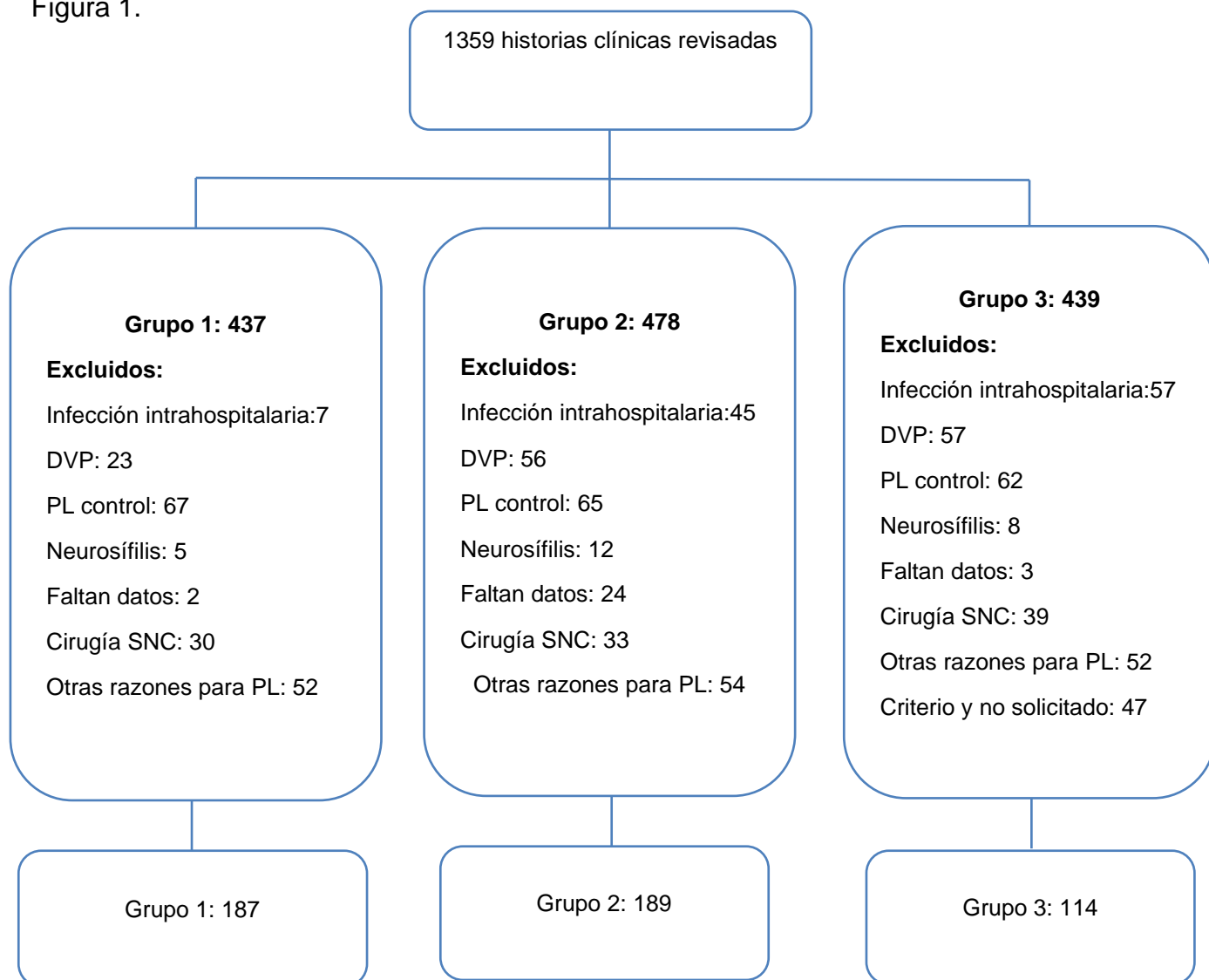
Para el análisis univariado, describimos con estadísticas descriptivas las variables clínicas y demográficas de toda la población y de cada grupo de estudio, así como los desenlaces. Realizamos un análisis bivariado para explorar diferencias entre los tres grupos en cuanto a las características clínicas y demográficas de los pacientes con la prueba de Chi-cuadrado o U de Mann-Whitney, para las variables cualitativas y cuantitativas (ya que no se comportaron normalmente), respectivamente. Adicionalmente, comparamos diferencias entre neonatos y niños mayores en cuanto a las diferencias en los hallazgos del LCR con la prueba de Chi-cuadrado.

Por último, realizamos un análisis bivariado comparando las diferentes decisiones tomadas por los médicos, la duración del tratamiento antibiótico, y la duración de la estancia hospitalaria según los resultados de MEFA positiva vs negativa por medio de la prueba Chi cuadrado. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa, cuando el valor de p fue inferior a 0.05. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico Stata 15.0 (StataCorp. 2017. *Stata Statistical Software: Release 15*. College Station, TX: StataCorp LLC). Este estudio fue aprobado por el comité de ética en investigación del HUSVF.

3. Resultados

Revisamos 1359 historias clínicas de pacientes potencialmente elegibles: 437, 478 y 439 para los grupos 1, 2 y 3, respectivamente. Excluimos 864 registros en total (grupo 1: 250, grupo 2: 289, grupo 3: 325). Adicional a los criterios de exclusión descritos, en el grupo 3 excluimos también los reportes de los 47 pacientes a quienes no se les realizó FilmArray aun cuando tenían criterio de inclusión, sin especificar la causa en la historia clínica (Figura 1). Incluimos en total 490 pacientes, 187 en el grupo 1, 189 en el grupo 2 y 114 en el grupo 3.

Figura 1.



DVP: Derivación ventriculoperitoneal. PL: Punción lumbar. SNC: Sistema nervioso central.
* Otras razones para PL: TB meníngea, enfermedad neurometabólica, enfermedad autoinmune, polineuropatía, tumor de SNC.

Comparamos variables como edad, características del LCR, duración de tratamiento y estancia hospitalaria entre los pacientes del grupo 3 y los casos perdidos. Encontramos que no hubo diferencias significativas para la mayoría de las variables entre los dos grupos. Sin embargo, encontramos diferencias importantes entre los casos completos y las pérdidas en cuanto a la edad con una mediana (RIC) de casos completos, vs pérdidas: 1 (0.4-11) vs 18 (4-72), $p < 0.0001$.

Para analizar las variables sociodemográficas, se tomaron en cuenta los aspectos más relevantes de cada grupo. La edad en la etapa neonatal se calculó tomando en cuenta la edad cronológica, 371/490 (75.7%) de los pacientes incluidos en el estudio estaban fuera del periodo neonatal, hubo una distribución similar entre hombres y mujeres (56.7% vs 43.3%), la mayoría eran residentes en Antioquia. 16/490 (3.3%)

presentaban alguna comorbilidad: neumopatía, cardiopatía, desnutrición, lupus eritematoso sistémico, o enfermedad renal crónica. Casi todos los pacientes tenían vacunación completa para la edad (449 pacientes; 91.6%).

No hubo diferencias clínicamente significativas en cuanto a la sintomatología presentada en los diferentes grupos, la fiebre fue el principal motivo de consulta en los tres grupos 385/490 (78.5%), seguida de episodios convulsivos 207/490 (42.2%) y alteración del estado de conciencia 198/490 (40.4%). Esta presentación clínica, llevó a que se sospechara neuroinfección como primera posibilidad diagnóstica en todos los grupos (70% de la totalidad de los pacientes) Tabla 1. Previo al ingreso al servicio de urgencias, 169 pacientes ya habían recibido tratamiento antibiótico y antiviral, principalmente betalactámicos 91/490 (18.6%), seguido de la combinación aminoglucósido + betalactámico 32/490 (6.5%).

Tabla 1. Datos demográficos, clínicos y de laboratorio relevantes por grupos

Variable	Total	Grupo 1 N=187	Grupo 2 N=189	Grupo 3 N=114	Valor p
Edad (meses)*	9 (1 – 48)	5 (0.8 – 32)	9 (1 – 40)	18 (4 – 72)	0.0013 [†]
Diagnóstico					
Neuroinfección	343	124(66.1%)	133(70.37%)	86(75.4%)	0.006 [§]
Sepsis neonatal tardía	92	49 (26.2%)	33 (17.4%)	10(8.7%)	
Fiebre sin foco	27	7 (3.7%)	10 (5.29%)	10(8.77%)	
Sepsis	18	6(3.2%)	7(3.7%)	5(4.4%)	
Sepsis neonatal temprana	10	1(0.53%)	6 (3.1%)	3 (2.6%)	
Aislamiento de cultivos en LCR					
Negativo	459	177	172	110	0.55
Positivo	26	10(38.4%)	12(46.1%)	4(15.3%)	
<i>E. coli</i>	5	0	5(2.65%)	0	
<i>S. pneumoniae</i>	4	4(2.14%)	0	0	
<i>H.influenzae B</i>	4	3 (1.6%)	0	1(0.88%)	
<i>N. meningitidis</i>	3	3 (1.6%)	0	0	
<i>S. epidermidis</i>	3	0	2(1.06%)	1 (0.88%)	
<i>E. faecalis</i>	2	0	1(0.53%)	1(0.88%)	
<i>S. agalactiae</i>	1	0	1(0.53%)	0	
<i>S. aureus</i>	1	0	1(0.53%)	0	
<i>L.monocitogenes</i>	1	0	0	1(0.88%)	
<i>E. avium</i>	1	0	1 (0.53%)	0	
<i>E. faecium</i>	1	0	1 (0.53%)	0	
FilmArray (n=182)					
Negativo	151	NA	55(80.8%)	96 (84.21%)	0.067 [‡]
Positivo	31	NA	13	18	
VHH-6	7	NA	2(2.9%)	5 (4.4%)	
<i>S. pneumoniae</i>	5	NA	0	5 (4.4%)	
Enterovirus	5	NA	4(5.88%)	1(0.88%)	
<i>N. Meningitidis</i>	3	NA	1 (1.5%)	2 (1.7%)	
VHS-2	3	NA	2(2.9%)	1 (0.88)	

<i>H. influenzae</i>	3	NA	3 (4.4%)	0	
VHS-1	2	NA	1 (1.5%)	1 (0.88)	
Enterovirus+VHH6	1	NA	0	1(0.88%)	
<i>L.monocytogenes</i>	1	NA	0	1 (0.88%)	
Enterovirus + <i>H. Influenzae</i>	1	NA	0	1 (0.88%)	

*Resultados presentados en Mediana (Rango intercuartil)

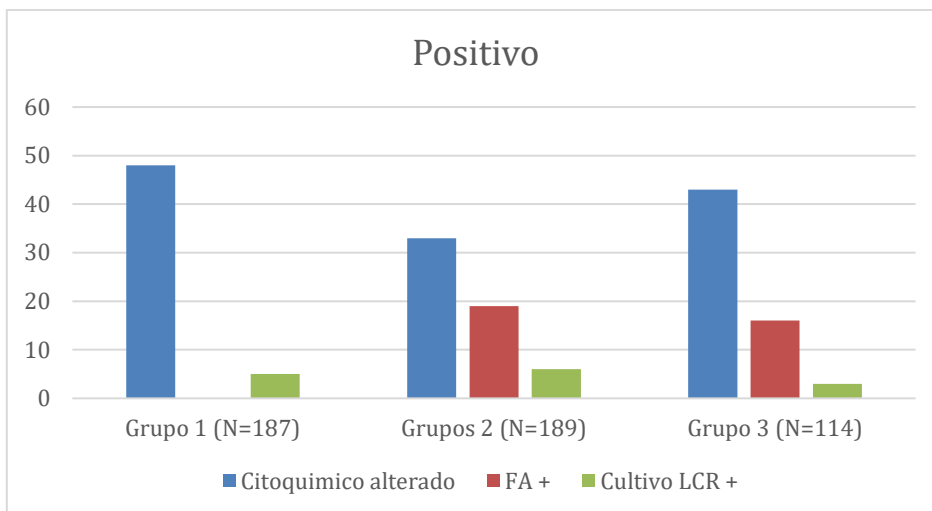
¶ U de Mann Whitney test; ¥ Chi-square test; NA: no aplica

En cuanto al estudio de LCR, estuvo alterado en 202/490 (41.2%) de los casos, siendo la pleocitosis la principal alteración en los 3 grupos 146/202 (72.2%), seguido de hiperproteinorraquia en 118/202 (58.4%). El Gram de LCR fue negativo en 480/488 (98.3%) de las muestras. La mayoría de los hemocultivos fueron negativos 280/333 (84,1%) pacientes. En los que se logró un aislamiento, *E. coli* fue el microorganismo más común 9/38 (23.6%) junto con *S. aureus* en 7/38 (18.%).

Para el aislamiento en cultivos de LCR, la mayoría fueron negativos, logrando el crecimiento de algún germen en 26/485 (5.3%). La distribución de los aislamientos se describe en la tabla 1.

En cuanto al panel MEFA (n=182), la positividad del número total de exámenes realizados fue de 17% (31). Durante el periodo correspondiente al grupo 2, se realizaron 79 pruebas, de estos 72 fueron paneles y tan solo 7 fueron PCR individuales para herpes y enterovirus La mayoría de las detecciones por reacción en cadena de a polimerasa fueron virus, principalmente 7/182 (3.8%) casos para VHH-6 de predominio en el grupo 3 y enterovirus 4/182 (2.1%) hallado con mayor frecuencia en el grupo 2. Dentro de la detección molecular bacteriana, el más frecuente fue *S. pneumoniae* en 5/182 (2.7%) y *H. influenzae* 3/182 (1.6%) pacientes. Tabla 1. No se obtuvo detección de criptococo. Dos pacientes tuvieron detección de dos organismos. El primero tuvo detección de Enterovirus+VHH-6, la cual fue considerada como falso positivo por neurología infantil y la segunda, con detección de Enterovirus+*H. Influenzae*, se consideró positiva solo para *H. influenzae* por la clínica del paciente y la correlación con el aislamiento en el cultivo de LCR.

Tabla 2. Estudios microbiológicos y moleculares realizados por grupos



Comparación entre grupos respecto a los resultados de citoquímico, cultivo y FA. Nota: el grupo 1 no se realizó FA. FA: Filmarray, LCR: Líquido cefaloraquídeo.

Las decisiones clínicas tomadas con los resultados de la prueba estuvieron a cargo de los pediatras en la mayoría de los casos. La decisión más frecuente con panel MEFA positivo y negativo (n=182), fue continuar igual tratamiento en 63 pacientes (34,6%). Sin embargo, tener panel MEFA positivo, logró disminuir el espectro antibiótico en 6 de 31 pacientes (19,3%). Con confirmación del panel molecular negativo, en un 14.6% (22/151 pacientes) se logró suspender antibiótico (conducta tomada como segunda opción en frecuencia) y en 20/151 (13.2%) se decidió no iniciar terapia antibiótica. Es importante mencionar que, dentro de otras decisiones tomadas por el equipo médico, se encontraban esperar el resultado de cultivo de LCR, dar de alta o solicitar interconsulta a otras especialidades como neurología o infectología pediátrica o no interpretación por falta de información en la historia clínica (Tabla 3).

No encontramos diferencias significativas en cuanto a la duración de tratamiento y estancia hospitalaria cuando se comparó entre grupos (ver tabla 4). Sin embargo, al analizar por subgrupos en el grupo 3 y el grupo 2, el resultado de la prueba, encontramos que al tener FilmArray negativo, existe una reducción estadísticamente significativa en la duración de tratamiento antibiótico o aciclovir (3 vs 7.5 días en el grupo 3, p=0.012; 3 vs 10 días en el grupo 2, p=0.029). En cuanto a la estancia hospitalaria, se observó una disminución en los días de hospitalización tanto en el grupo 3 como en el grupo 2, lo cual no fue estadísticamente significativo (7 vs 11 días en el grupo 3, p=0.09; 7 vs 10 días en el grupo 2, p=0.069). (Tabla 4).

Tabla 3. Decisiones tomadas con el panel molecular (N= 182)

Variable	Total	Resultado FilmArray N=182		Valor de p
		Negativo	Positivo	
Decisión tomada con la prueba				

No modificó	63 (34.6%)	53 (35.1%)	10 (32.3%)	
Modificó				
Suspensión de antibiótico	26 (14.3%)	22 (14.6%)	4 (12.9%)	0.26 ^{TT}
Continua sin antibiótico	22 (12.0%)	20 (13.2%)	2 (6.5%)	
Retiro de antiviral	19 (10.4%)	16 (10.6%)	3 (9.7%)	
Reducción de espectro	13 (7.2%)	7 (4.7%)	6 (19.3%)	
Inicio antibiótico	3 (1.7%)	3 (2%)	0	
Adición de antiviral	2 (1.1%)	1 (0.7%)	1 (3.2%)	
Adición de otro antibiótico	1 (0.5%)	1 (0.7%)	0	
NA	20 (11%)	16 (10.6%)	4 (12.9%)	
Otras	13 (7.2%)	12 (8%)	1 (3.2%)	
Quien toma la decisión con la prueba				
Pediatra	106(58.3%)	92 (61.0%)	14(45.2%)	0.019 ^{TT}
Neurología	45 (24.7%)	39 (25.8%)	6 (19.4%)	
Infectología	16 (8.8%)	9 (6.0%)	7 (22.6%)	

NA: no aplica se refiere a los casos donde la decisión no se tomó basada en la prueba sino por cambio en el enfoque diagnóstico inicial

Tabla 4. Desenlaces primarios por grupo

Variable	Grupo 1 (N=187)	Grupo 2 (N=189 -68 SOLO en subgrupos-)			Grupo 3 (N = 114)					
	Total del grupo 1 (días)	Total del grupo 2 (días)	Resultado FilmArray N=68		Valor P por resultado de FA	Total del grupo 3 (días)	Resultado FilmArray N=114		Valor P por resultado de FA	Valor p pos los 3 grupos
			(-)	(+)			(-)	(+)		
DT (días)	4 (1-8)	3 (1-3)	3 (1-7)	10 (4-17)	0.02 ^β	3 (1-3)	3 (0.5-8)	7.5 (3-14)	0.01 ^β	0.45 ^β
EH (días)	7 (3-13)	7 (4-14)	7 (4-14)	10 (6-22)	0.06 ^β	7 (4-14)	7 (3.5-12.5)	11 (4-14)	0.09 ^β	0.85 ^β

En **negrita** los resultados significativos estadísticamente

*Mediana (Rango intercuartil), ^β Prueba chi-cuadrado

(-): negativo; (+): positivo; DT: duración de tratamiento; EH: estancia hospitalaria

4. Discusión

El presente estudio se realizó en 490 menores de 14 años con sospecha de neuroinfección divididos en 3 grupos diferentes definidos por la disponibilidad del panel MEFA con el fin de evaluar el impacto de este en el uso de antibióticos y como objetivo secundario la duración de estancia hospitalaria. No se encontró diferencias significativas entre los tres grupos de estudio en cuanto a duración del tratamiento

antibiótico y la estancia hospitalaria; sin embargo, en el análisis realizado dentro de cada grupo, los grupos 2 y 3 que tuvieron disponibilidad de la prueba, tener un resultado negativo de la prueba molecular disminuyó significativamente el total de días de tratamiento antibiótico entre 4.5 y 7 días menos. Adicionalmente, la duración de la estancia hospitalaria fue un poco menor en los niños con MEFA negativo que con MEFA positivo en ambos grupos 2 (7 vs 10 días), y 3 (7 vs 11 días) aunque no fueron diferentes estadísticamente significativas.

El grupo investigador planteó la hipótesis que ampliar las posibilidades de diagnóstico etiológico viral, permitiría no solo la suspensión de antibióticos cuando se detectaba un virus en el panel sino de suspender el antiviral, específicamente aciclovir cuando no se detectaba Herpes virus, sin desconocer que el diagnóstico definitivo de las infecciones de sistema nervioso central obedece a un análisis minucioso de los hallazgos imagenológicos, clínicos y electrofisiológicos ^(21, 22, 24). Sin embargo, se consideró que este ejercicio diagnóstico se presenta de igual manera en los 3 grupos ya que son pacientes que pertenecen a una misma institución en la cual se maneja un protocolo uniforme frente al abordaje de las infecciones por SNC; esto hace que sea más factible evaluar el impacto de la prueba de forma independiente con las limitaciones que se relatan más adelante.

Gaensbauer y col. describieron un grupo de pacientes con sospecha de neuroinfección y notaron un incremento en el uso de aciclovir no relacionado con el aumento en el número de infecciones por VHS ⁽¹⁷⁾; el aciclovir es un antiviral que no es inocuo y acarrea efectos adversos como nefrotoxicidad ⁽¹⁸⁾. En el estudio de Evans y col. observaron este efecto, pero con la obtención de mayor detección viral (30.4% en el grupo con disponibilidad de PCR múltiple vs 10.9% en el grupo control) se logró disminuir significativamente la duración del tratamiento con aciclovir (41.6 horas vs 30.8 horas; $p < 0.01$) ⁽⁵⁾.

Un estudio retrospectivo en Estados Unidos mostró que cuando se realiza estudio viral, en este caso PCR para VHS hubo disminución significativa (50.3 hr vs 19.2 hr, $p < 0.05$) en la duración de aciclovir para pacientes cuyos resultados estuvieran disponibles en las primeras 4 horas. En nuestro estudio, no ocurrió este efecto ⁽¹³⁾.

Hagen, et al, encontraron que la introducción de este panel molecular multiplex en pacientes con sospecha de infección del SNC se asoció con reducción en los antibióticos recibidos y el tiempo de antibiótico empírico (de 4 días a 3 días) en menores de 1 año. Tampoco, observaron disminución de la estancia hospitalaria con la introducción del panel, hallazgos similares a los nuestros ⁽¹⁴⁾. O'Brien et al. por su parte, demostró una disminución en la duración de tratamiento antibiótico de 3 a 2 días de forma significativa, además de una reducción en la estancia hospitalaria de 5 a 3 días, sin embargo, en este estudio, sólo se incluyeron niños

con infección confirmada del SNC a diferencia de nuestro reporte en el cual incluimos todos los niños con sospecha de infección de SNC ⁽¹⁰⁾.

La estancia hospitalaria depende de muchas variables como la presencia de comorbilidades, la edad, o las complicaciones derivadas de las infecciones del SNC y no precisamente de la duración de un tratamiento medico antibiótico, en nuestro reporte pudo haber sido afectada por el predominio de lactantes en los grupos de estudio (promedio de edad 19 meses en pacientes fuera de etapa neonatal) pues la sintomatología presentada es muy inespecífica y es una edad con mayor riesgo de complicaciones; el otro factor es que no tuvimos en cuenta la causa de la estancia como por ejemplo que el diagnóstico de egreso fue diferente a infección del SNC, como tumores, enfermedades neurometabólicas, enfermedades reumatológicas, entre otras, lo que pudo genera estancias hospitalarias muy prolongadas, y no ser evaluado.

Otros estudios han mostrado que tener una prueba de PCR positiva para enterovirus reduce la estancia hospitalaria hasta 1.54 días y la duración del tratamiento antibiótico disminuye 33,7% ^(16,17). Nuestro estudio no encontró diferencia significativa en la duración antibiótica ni estancia hospitalaria al compararla entre grupos según la disponibilidad de la prueba, pero la identificación de enterovirus fue baja en nuestra población; sin embargo, cuando no hubo detección de microorganismos en la prueba molecular, se tomó decisiones como suspensión del tratamiento antibiótico, seguido de reducción del espectro y retiro de antiviral, lo cual se tradujo en una reducción de los días de antibiótico cuando la prueba estaba disponible.

En cuanto a los resultados del panel MEFA, se analizó un total de 182 pruebas de las cuáles 17% tuvieron un resultado positivo. Las detecciones moleculares más frecuentes fueron virus, enterovirus (principalmente en neonatos) y VHH-6 (en niños mayores). Las bacterias con mayor frecuencia aisladas fueron *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. Meningitidis*. Estudios previos en niños han reportado también predominio de detecciones virales. Leber y col. lograron resultados positivos en 14.0% de niños con sospecha de neuroinfección en los que se le aplicó la prueba ⁽⁷⁾. O'brien y col. por su parte, en niños con infección confirmada del SNC, reportó enterovirus como el detección principal seguido por HPeV⁽¹⁰⁾. La detección bacteriana fue muy baja, al igual que lo reportado en el estudio realizado por Leber y col. en un 1,4% ^(7,10). En el estudio realizado por Messacar y colaboradores, la positividad del estudio molecular fue del 31% del total de 138 muestras analizadas, sin embargo, el resultado positivo fue significativamente más alto, ya que se trató del análisis retrospectivo de muestras de LCR de 3 grupos: una estudiada previamente para enterovirus y VHS en menores de 3 meses, otro grupo con

diagnóstico de meningitis aséptica y encefalitis y un último grupo con infección confirmada de SNC, lo que aumenta la probabilidad de detección de algún germen en el LCR ⁽¹¹⁾.

Tradicionalmente los resultados de citoquímico y tinción de Gram, son usados para la toma de decisiones respecto a iniciar o no un tratamiento antimicrobiano mientras se obtiene reporte de pruebas definitivas como el cultivo del LCR. En nuestro estudio, el citoquímico de LCR estuvo alterado en las dos quintas partes de los casos, predominando la pleocitosis e hiperproteíorraquia en la población no neonatal, lo cual fue relevante ya que fue el segundo parámetro más importante para la toma de decisiones por parte del médico tratante. El estudio de coloración de Gram fue negativo casi en la totalidad de los casos, por lo que no se consideró útil en el momento de toma de decisiones. A pesar de que nuestro estudio mostró un 41,2% de citoquímicos de LCR alterados, el cultivo de LCR sólo identificó 26/485 (5,3%) de los agentes etiológicos, mientras que el panel molecular tuvo un aislamiento positivo en 31/182 (17%) de los casos, lo que significa aproximadamente en un 20% de los citoquímicos alterados no fue posible un aislamiento microbiológico, lo cual plantea un reto en el diseño de pruebas que incluyan otros microorganismos. En nuestro estudio, aunque la mayoría de los hemocultivos fueron negativos, los restantes se correlacionan con el aislamiento en cultivo de LCR, *E. coli* fue el más común en neonatos en un 2.6% y *H. influenzae* en el resto de población infantil en un 1.1%. Estos resultados, no se relacionaron con detección viral por MEFA y donde *E. coli* no fue encontrado.

En nuestro estudio encontramos 8 detecciones de VHH 6. En 2 casos, fue necesaria una segunda punción lumbar, puesto que, en estadios muy tempranos, la PCR puede ser negativa para detectar el ARN de VHS que era la sospecha etiológica en estos pacientes. De los 6 pacientes restantes, en 2 de ellos se decidió esperar el resultado del cultivo antes de suspender tratamiento antibiótico o aciclovir, 3 pacientes fueron considerados falsos positivos (uno de ellos presentó co-detección) y tan solo 1 continuó aciclovir durante 21 días luego del análisis de otras herramientas diagnósticas. Teniendo en cuenta que cada vez es más frecuente encontrar reportes de VHH 6 como agente causal de meningitis, encefalitis o estatus epiléptico en pacientes inmunocompetentes ⁽¹²⁾, además, que la positividad de la prueba puede representar una infección primaria, latente o reactivación, se debe interpretar con precaución y evaluar el contexto clínico antes de realizar una PCR sanguínea confirmatoria ^(15,16) o suspender tratamiento antiviral ^(13,14). Respecto a la significancia clínica de encontrar dos microorganismos en un mismo panel MEFA, se ha visto que no es inusual según lo reportado en estudios similares en la literatura. Hanson y col, describen co-detección en un 6% (20/342) ⁽¹²⁾; en nuestro caso, lo encontramos en un 1,1% de todas las muestras (dos pacientes).

La oportunidad en la obtención del resultado no solo permitiría optimizar el tratamiento antibiótico o antiviral y estancia hospitalaria, sino disminuir los costos en salud ^(11,19). Los métodos de diagnóstico microbiológicos convencionales como cultivos y tinciones para bacterias, toman un tiempo promedio de 13.3 horas para determinar el patógeno, en comparación a 3 horas que tomaría transportar, procesar y reportar la muestra de pruebas moleculares. En un estudio con 6643 pacientes con neuroinfección en los servicios de urgencias de los Estados Unidos, el estudio convencional de LCR fue US 3.480 dólares más costoso al compararlo con el uso de paneles moleculares. A su vez, el panel MEFA realizado en todos los pacientes demostró un ahorro de US 3481 dólares por paciente, contrastándola con realizarlo sólo a citoquímicos patológicos. Es decir, el uso de una prueba molecular sensible y específica, disminuye el espectro diagnóstico, y puede lograr ahorros importantes en la atención en salud ⁽²⁰⁾. Por lo tanto, consideramos que se requieren estudios que evalúen si la disminución en los días de tratamiento puede llegar a ser costo-efectiva o no en Colombia.

Dentro de las fortalezas del estudio, encontramos el número de pacientes incluidos, la identificación clara de los motivos de exclusión, y la disponibilidad de la prueba para todos los niños que cumplieron los criterios de inclusión, independiente del resultado del citoquímico de LCR.

La principal limitación fueron las pérdidas significativas dentro del grupo 3, de las cuales la gran mayoría ocurrieron en neonatos, presumiblemente por desconocimiento del protocolo de investigación en la unidad neonatal, sin embargo, los grupos eran equiparables en cuanto a características clínicas, de laboratorio y de duración de tratamiento antibiótico y estancia hospitalaria, excepto para la edad; por ende, nuestros resultados pueden tener limitaciones para ser aplicados en la población neonatal. También se reconoce la presencia de sesgos, principalmente de selección, con riesgo de sobreuso de la prueba al tener como criterio de inclusión la sospecha clínica de neuroinfección por el médico, pues muchos de los síntomas son inespecíficos principalmente en neonatos y lactantes. También sesgo de confusión, ya que hay resultados como estancia hospitalaria y la misma decisión médica, donde existen otros factores que podrían influir sobre la evolución del resultado. Por otro lado, al ser un estudio unicéntrico puede no representar el total de la población.

En conclusión, nuestro estudio aporta datos sobre el impacto del uso del panel molecular MEFA cuando se aplica en toda la población pediátrica con sospecha de neuroinfección. Nuestros resultados sugieren que, la alteración en el citoquímico y la clínica presentada siguen siendo parámetros importantes en la toma de decisiones, sin embargo, el no tener detección de un microorganismo en una prueba molecular como esta, junto con los parámetros anteriormente mencionados,

hallazgos específicos en neuroimagen y estudios electroencefalográficos, puede ayudar a tomar la decisión de suspender antibióticos empíricos o evitar su inicio, lo que se traduce posiblemente en una disminución significativa de la duración de la terapia antimicrobiana a pesar de no encontrar disminución de los días de estancia hospitalaria. Es importante la realización de estudios de costo efectividad para determinar si tener la prueba disponible en esta población justifica su uso generalizado.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecimientos especiales al personal del laboratorio clínico del Hospital Universitario San Vicente Fundación, quienes prestaron su servicio las 24 horas de día y estuvieron siempre dispuestos a trabajar por mejorar las condiciones del estudio. También a la gerente en sistemas de información en salud quien nos ayudó con el análisis de los resultados y por supuesto, al personal asistencial que estuvo dispuesto a ordenar esta prueba durante todo el año.

FINANCIACIÓN:

Los paneles moleculares del grupo prospectivo fueron suministrados por el laboratorio BioMérieux. El laboratorio no participó en la concepción de la idea, en la recolección de datos, el análisis, ni escritura del artículo.

CONFLICTO DE INTERESES:

Dra Claudia Beltrán fue speaker en el año 2018 de la empresa Biomeriux que produce la prueba MEFA. El resto de los investigadores no declaran ningún tipo de conflicto

Referencias

1. Polage CR, Cohen H. State-of-the-Art Microbiologic Testing for Community-Acquired EPIDEMIOLOGY OVERVIEW. *J Clin Microbiol.* 2016;54(5):1197–202.
2. Hudson LD, Viner RM, Christie D. Long-term sequelae of childhood bacterial meningitis. *Curr Infect Dis Rep.* 2013;15(3):236–41.
3. Debiasi RL, Tyler KL. Molecular Methods for Diagnosis of Viral Encephalitis. *Society.* 2004;17(4):903–25.
4. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Boletín Epidemiológico

Semanal. Semana epidemiológica 15. 2019. 2019;1–28. Available from: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019> Boletín epidemiológico semana 15.pdf

5. Evans M, Merkel KG, Harder J, Rose DT. Impact of the implementation of a rapid meningitis/encephalitis multiplex polymerase chain reaction panel on IV acyclovir duration: multicenter, retrospective cohort of adult and pediatric patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2020;96(2):114935.
6. DiDiodato G, Bradbury N. Cerebrospinal fluid analysis with the biofire filmarray meningitis/ encephalitis molecular panel reduces length of hospital stay in patients with suspected central nervous system infections. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(4):1–3.
7. Demogines A, Fouch S, Everhart K, Leber A, Barney T, Daly JA, et al. Multi-Center Clinical Evaluation of a Multiplex Meningitis / Encephalitis PCR Panel for Simultaneous Detection of Bacteria , Yeast , and Viruses in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol*. 2015;54(9):2251–61.
8. Prober CG, Srinivas NS. Infecciones del sistema nervioso central [Internet]. 20th Editi. Nelson. Tratado de pediatría. Elsevier España241;a, S.L.U.; 2016. 1-50 p.
9. Tansarli GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire® FilmArray® meningitis/encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2019;26(3):281–90.
10. O'Brien MP, Francis JR, Marr IM, Baird RW. Impact of Cerebrospinal Fluid Multiplex Assay on Diagnosis and Outcomes of Central Nervous System Infections in Children. *Pediatr Infect Dis J* 2018;1.
11. Messacar K, Breazeale G, Robinson CC, Dominguez SR. Potential clinical impact of the film array meningitis encephalitis panel in children with suspected central nervous system infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;86(1):118–20.
12. You SJ. Human Herpesvirus-6 may be Neurologically Injurious in Some Immunocompetent Children. *J Child Neurol*. 2020;35(2):132–6.
13. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, Sejvar JJ, Marra CM, Roos KL, et al. The Management of Encephalitis : Clinical Practice Guidelines by the

Infectious Diseases Society of America. 2008;07740.

14. Yilmaz M, Yasar C, Aydin S, Derin O, Polat B, Ertan G, et al. Human Herpesvirus 6 encephalitis in an immunocompetent pregnant patient and review of the literature. *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2018;171(May):106–8.
15. Hagen A, Eichinger A, Meyer-Buehn M, Schober T, Huebner J. Comparison of antibiotic and acyclovir usage before and after the implementation of an on-site FilmArray meningitis/encephalitis panel in an academic tertiary pediatric hospital: A retrospective observational study. *BMC Pediatr*. 2020;20(1):1–10.
16. Klein B, Sato DK. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment &. *J Pediatr (Rio J)* 2020;96:12–9.
17. Gaensbauer JT, Birkholz M, Pfannenstein K, Todd JK. Herpes PCR testing and empiric acyclovir use beyond the neonatal period. *Pediatrics*. 2014;134(3):e651–6.
18. Van TT, Mongkolrattanothai K, Arevalo M, Lustestica M, Bard JD. Impact of a rapid herpes simplex virus PCR assay on duration of acyclovir therapy. *J Clin Microbiol*. 2017;55(5):1557–65.
19. Portnoy A, Jit M, Lauer J, Blommaert A, Ozawa S, Stack M, et al. Estimating costs of care for meningitis infections in low- and middle-income countries. *Vaccine* [Internet]. 2015;33(S1):A240–7.
20. Duff S, Hasbun R, Balada-Llasat JM, Zimmer L, Bozzette SA, Ginocchio CC. Economic analysis of rapid multiplex polymerase chain reaction testing for meningitis/encephalitis in adult patients. *Infection*. 2019;47(6):945–53.
21. Segura M, Osorno L. Boletín Epidemiológico Medellín Saludable Boletín Epidemiológico Medellín Saludable.
22. Otero JA, Gomez M del P, Cornejo JW, Cabrera D. Características clínicas y paraclínicas de niños con meningitis bacteriana aguda en el Hospital Universitario San Vicente Fundación en Medellín, Colombia. 2011 - 2015: estudio descriptivo – retrospectivo. *Acta Neurológica Colomb*. 2017;33(2):84–93.
23. Bykowski J, Kruk P, Gold JJ, Glaser CA, Sheriff H, Crawford JR. Acute

pediatric encephalitis neuroimaging: Single-institution series as part of the California encephalitis project. *Pediatr Neurol* [Internet]. 2015;52(6):606–14.

24. Gaieski DF, O'Brien NF, Hernandez R. Emergency Neurologic Life Support: Meningitis and Encephalitis. *Neurocrit Care*. 2017;27:124–33.