



Panel Filmarray GI® en la detección de patógenos entéricos en deposiciones: experiencia preliminar

Mauricio Farfán, Paula Piemonte, Yohanna Labra,
Juan Henríquez, Enzo Candia y J. Pablo Torres

Filmarray GI™ panel for detection of enteric pathogens in stool samples: preliminary experience

Introduction: Gastrointestinal infections remain a major public health problem worldwide and its etiologic diagnosis is one of the main challenges. In molecular diagnostic techniques recently developed, the Filmarray GI® panel allows detection of 23 pathogens (14 bacteria, virus 5 and 4 parasites) within an hour. **Objective:** To describe the experience of Filmarray GI® panel in the Molecular Biology Laboratory of Clínica Las Condes. **Method:** A cross-sectional observational study that includes the results of 305 stool samples tested by Filmarray GI® panel was performed. **Results:** Of the 305 tests requested 99 (32.5%) were negative and 206 were positive (67.5%). Of the positive samples, in 107 samples (51.9%) one pathogen was detected and in 99 samples (48.1%) more than one pathogen was found. **Conclusions:** Describe the experience of using FilmArray GI® panel in stool specimens, which highlights the large number of positive samples for a microorganism and co-detection of enteric pathogens.

Key words: Filmarray GI® panel, diarrhea, molecular diagnostic.

Palabras clave: Panel Filmarray GI®, diarrea, diagnóstico molecular.

para la detección de rotavirus. Sin embargo, estos patógenos dan cuenta aproximadamente de 25% de los agentes etiológicos de diarrea⁴⁻⁵.

En general, el diagnóstico mediante técnicas de biología molecular, ha tenido un fuerte impacto en la detección de patógenos. En el estudio de las infecciones gastrointestinales, estas técnicas han ampliado el número de patógenos detectados, sobre todo con el uso de técnicas de reacciones de la polimerasa en cadena (RPC) múltiple⁶. Sin embargo, estas técnicas son costosas, requieren de personal entrenado y están limitadas a ciertos patógenos, careciendo además de validaciones y certificaciones que entreguen seguridad al equipo clínico para la indicación del tratamiento adecuado. Recientemente, la *Food and Drugs Administration* (FDA) ha liberado para su uso en clínica el panel Filmarray GI® (Biofire, Inc., Salt Lake City, UT) que permite, en una sola reacción, la detección de 23 patógenos entéricos: virales (adenovirus F40/41, astrovirus, norovirus GI/GII, rotavirus A, sapovirus I, II, IV and V), bacterianos (*Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, *Shigella* spp., *Escherichia coli* (*E. coli*) enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* enteroinvasora (EIEC), y parasitarios (*Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*). Esta técnica integra la extracción y purificación de ácidos nucleicos directamente de la muestra, la RPC y la detección de las regiones génicas amplificadas. El proceso completo entrega resultados en alrededor de una hora. Considerando el impacto que ha tenido esta técnica en otros países y que no existen estudios en nuestro país sobre el uso de este panel, el objetivo de nuestro estudio es describir la experiencia del panel Filmarray GI® en la detección de patógenos entéricos en deposiciones en el laboratorio de Biología Molecular de Clínica Las Condes.

Introducción

Las infecciones gastrointestinales continúan siendo un problema de salud pública en países en vías de desarrollo e industrializados¹. A pesar de los avances en las políticas públicas de sanidad, las regulaciones en la seguridad de los alimentos y las inmunizaciones, estas enfermedades siguen afectando a millones de personas cada año, siendo la población pediátrica la más vulnerable². Esta situación se ve agravada con la aparición de brotes de diarrea que modifican dramáticamente el escenario epidemiológico³. En este sentido, el diagnóstico rápido y preciso, ha demostrado un gran impacto en el manejo y en la vigilancia epidemiológica de estas infecciones. Uno de los mayores obstáculos en el diagnóstico de las infecciones gastrointestinales es el amplio número de patógenos virales, bacterianos y parasitarios asociados, que dificultan tanto el cultivo como la identificación de los agentes etiológicos involucrados. El cultivo microbiológico “clásico” se ha enfocado principalmente en el cultivo de patógenos como *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp.; y pruebas rápidas

Método

Previo a su aplicación como examen en nuestro centro, se realizó una verificación con muestras de deposición utilizando pruebas comparadoras disponibles en nuestro laboratorio como cultivo o RPC en tiempo real para patógenos específicos, obteniendo 100% de concordancia (datos no mostrados). Posteriormente, se realizó un estudio observacional y transversal que incluyeron los resultados obtenidos de 305 muestras de deposiciones en que se solicitó el examen de panel Filmarray GI® en pacientes de urgencia, ambulatorios e internados en Clínica Las Condes desde el 1 de enero al 30 de junio de 2015. Este estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de Clínica Las Condes.

Resultados

En relación a las características demográficas de las muestras analizadas, el panel Filmarray GI® se solicitó en mayor proporción en los pacientes entre 1 y 5 años (82/305; 26,8%) y 22-64 (92/305; 30,1%). Con respecto al origen de las muestras, la mayoría provenían de pacientes internados (206/305; 67,5%). En 78/305 (25,6%) y 21/305 (6,9%) las muestras provinieron de pacientes ambulatorios y de urgencia, respectivamente. En relación a la positividad del panel, de los 305 exámenes solicitados, 99 (32,5%) resultaron negativos y 206 positivos (67,5%). De las 206 muestras positivas, en 107 (51,9%), 67 (32,5%), 21(10,2%), 6 (2,9%), 2 (1%) y 3 (1,5%) resultaron

Clínica Las Condes. Laboratorio de Biología Molecular.

Declaración conflicto de interés: Los autores declaramos no tener conflictos de interés.
Fuente de financiamiento: Ninguna.

Recibido: 17 de agosto de 2015 / Aceptado: 5 de enero de 2016

Correspondencia a:

Mauricio Farfán
mauriciofarfan4@gmail.com



Tabla 1. Número de patógenos entéricos detectados por el panel Filmarray GI® por patógeno y grupo etario

Patógeno	Total	Co-infección (% del total)	Número de muestras positivas (% del total del patógeno detectado) por grupo etario					
			< 1 año	1-5 años	6-12 años	13-21 años	22-64 años	> 65 años
Bacteria								
<i>Campylobacter</i> spp.	26	16 (61,5)	0 (0)	4 (15,4)	2 (7,7)	5 (19,2)	15 (57,7)	0 (0)
<i>C. difficile</i>	37	23 (62,2)	8 (21,6)	11 (29,7)	8 (21,6)	3 (8,1)	4 (10,8)	3 (8,1)
<i>P. shigelloides</i>	3	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)
<i>Salmonella</i> spp.	13	6 (46,2)	0 (0)	6 (46,2)	2 (15,4)	0 (0)	4 (30,8)	1 (7,7)
<i>Y. enterocolitica</i>	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Vibrio</i> spp.	1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)
<i>V. cholerae</i>	3	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (66,7)	1 (33,3)
EAEC	38	32 (84,2)	2 (5,3)	13 (34,2)	4 (10,5)	5 (13,2)	11 (28,9)	3 (7,9)
EPEC	64	53 (82,8)	2 (3,1)	28 (43,8)	5 (7,8)	7 (10,9)	18 (28,1)	4 (6,3)
ETEC	17	14 (82,4)	1 (5,9)	3 (17,6)	0 (0)	5 (29,4)	7 (41,2)	1 (5,9)
STEC	8	6 (75,0)	0 (0)	4 (50,0)	1 (12,5)	1 (12,5)	2 (25,0)	0 (0)
EIEC	10	7 (70)	0 (0)	0 (0)	2 (20,0)	1 (10,0)	6 (60,0)	1 (10,0)
Parásitos								
<i>Cryptosporidium</i> spp.	8	5 (62,5)	1 (12,5)	3 (37,5)	3 (37,5)	0 (0)	1 (12,5)	0 (0)
<i>C. cayetanensis</i>	2	1 (50,0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)	0 (0)	1 (50,0)	0 (0)
<i>E. histolytica</i>	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>G. lamblia</i>	15	7 (46,7)	2 (13,3)	1 (6,7)	5 (33,3)	0 (0)	4 (26,7)	3 (20,0)
Virus								
Adenovirus F40/41	9	8 (88,9)	0 (0)	7 (77,8)	1 (11,1)	0 (0)	1 (11,1)	0 (0)
Astrovirus	8	5 (62,5)	0 (0)	5 (62,5)	1 (12,5)	1 (12,5)	1 (12,5)	0 (0)
Norovirus GI/GII	54	35 (64,8)	10 (18,5)	16 (29,6)	3 (5,6)	6 (11,1)	16 (29,6)	3 (5,6)
Rotavirus A	25	14 (56,0)	8 (32,0)	7 (28,0)	2 (8,0)	2 (8,0)	6 (24,0)	0 (0)
Sapovirus	13	9 (69,2)	0 (0)	7 (53,8)	3 (23,1)	2 (15,4)	0 (0)	1 (7,7)
Total	354	247 (69,7)	247 (69,7)	34 (9,6)	116 (32,8)	42 (11,9)	39 (11,0)	10

ser simultáneamente positivas para uno, dos, tres, cuatro, cinco y seis patógenos, respectivamente. La Tabla 1 detalla el total de patógenos detectados en las 206 muestras positivas, destacando una elevada detección de EPEC, norovirus GI/GII y *G. lamblia* para los patógenos bacterianos, virales y parasitarios, respectivamente. Con respecto a la co-infección, es interesante destacar que todos los microorganismos detectados se encontraron asociados a otros patógenos, en proporciones desde 46,2% (*Salmonella* spp.) a 100% (*P. shigelloides* y *V. cholerae*).

Discusión

La detección de múltiples patógenos por la técnica de Filmarray ha tenido un fuerte impacto en el diagnóstico de las diarreas, principalmente por la rapidez de la obtención de resultados y el número de patógenos incluidos en una sola determinación. Con respecto al tiempo de análisis, los resultados de esta técnica se obtienen en una hora, a diferencia de las técnicas de RPC o cultivo tradicional para los patógenos incluidos en el panel, cuyos lapsos fluctúan entre 6-8 h y 24-72 h, respectivamente. En relación a los

valores de sensibilidad y especificidad, un estudio multicéntrico reciente comparó el panel Filmarray GI® con técnicas de cultivo o RPC asociado a secuenciación en 1.556 muestras de deposiciones, donde el panel mostró una sensibilidad de 100% para 12 de los patógenos incluidos en el panel; para el resto de los patógenos los valores de sensibilidad fueron $\geq 94,5\%$ ⁷. Para *Vibrio* spp., *V. cholerae* y *E. histolytica* no fue posible obtener datos de sensibilidad debido a su baja prevalencia. En este mismo estudio, se encontró que la especificidad para cada uno de los patógenos incluidos en el panel era sobre 98,4%. Resultados similares se encontraron al comparar el panel Filmarray GI® con *Luminex xTag gastrointestinal pathogen panel*; ambas técnicas aprobadas por la FDA⁸.

Una observación interesante sobre el uso del panel Filmarray GI® en nuestro centro es el alto número de muestras positivas para más de un patógeno (48,1%). Estudios recientes, encontraron que 32,9%, 54,2% y 31,5% de las muestras positivas por Filmarray presentaban más de un patógeno⁷⁻¹⁰. Una explicación a estos hallazgos puede asociarse a la falta de experiencia clínica en exámenes que detectan un número importante de patógenos en una misma reacción. Será interesante evaluar en el futuro los mecanismos de co-infección y el impacto clínico de estas observaciones, de modo de



diseñar algoritmos que faciliten la interpretación de estos resultados en la asignación del agente etiológico de la diarrea.

Otro hallazgo interesante de nuestra experiencia, es el elevado número de muestras positivas para los patotipos de *E. coli* diarreogénicas. Desde su descubrimiento, el diagnóstico de estos patógenos se basa en la detección de genes de patogenicidad específicos para cada serotipo mediante técnicas de biología molecular, una situación que impide determinar la prevalencia de estos patotipos y su uso como una técnica de rutina¹⁰. Tal como se presenta en la tabla 1, de las 354 detecciones positivas en 137 (38,7%) se detectaron *E. coli* diarreogénicas, en su mayoría asociado a co-infecciones ($\geq 70\%$), con alto número de detecciones positivas para los patotipos EPEC y EAEC, consistentes con reportes previos⁷⁻⁹. Será interesante implementar en el futuro estudios epidemiológicos destinados a establecer la prevalencia de estos patógenos de modo de diseñar estrategias que permitan su manejo y control.

Con respecto al costo de cada determinación, varios estudios concuerdan en que si bien estas técnicas presentan un valor elevado, su costo es bastante menor que el análisis por separado de cada uno de los patógenos incluidos en el panel. Además, esta técnica requiere de un tiempo de operador de alrededor de cinco minutos y no requiere análisis posteriores, obteniendo los resultados en una hora⁷.

Este estudio presenta varias limitaciones, siendo la más importante la falta de una técnica de estándar de oro u otra técnica comparadora que permita confirmar la presencia de los microorganismos detectados, sobre todo en aquellas muestras en que se detectó la presencia de más de un patógeno. Sin embargo, la verificación previa realizada sobre 20 muestras de deposiciones mostró 100% de concordancia con técnicas comparadoras como cultivo o RPC en tiempo real. Por otra parte, no fue posible evaluar la presencia de *Y. enterocolitica* y *E. histolytica* en las muestras analizadas, debido a la baja prevalencia de estas infecciones en nuestro país. Otra limitante se refiere a la población estudiada, la cual tiene características socio-económicas que no permite extrapolar los resultados a la población general. Es importante destacar que, siendo un estudio realizado desde el laboratorio, en ningún caso se objetivó la ocurrencia de diarrea ni las características clínicas de los pacientes en que se solicitó el examen, lo que será interesante evaluar en el futuro.

En resumen, este trabajo muestra la experiencia del uso del panel Filmarray GI[®] como herramienta diagnóstica en la detección de patógenos entéricos, donde destaca el elevado número de muestras positivas para un microorganismo y la co-detección de patógenos. El uso de este tipo de técnicas, permitirá incrementar el diagnóstico etiológico de las diarreas, y eventualmente, el control de estas infecciones.

Resumen

Introducción: Las infecciones gastrointestinales continúan siendo un problema de salud pública, siendo el diagnóstico etiológico uno de los principales desafíos. Dentro de las técnicas de diagnóstico molecular

recientemente desarrolladas, el panel Filmarray GI[®] permite la detección de 23 patógenos (14 bacterias, cinco virus y cuatro parásitos) en una hora.

Objetivo: Describir la experiencia del panel Filmarray GI[®] en el laboratorio de Biología Molecular de Clínica Las Condes. **Método:** Se realizó un estudio observacional y transversal que incluyó los resultados obtenidos de 305 muestras de deposiciones en que se solicitó el examen de panel Filmarray GI[®]. **Resultados:** De los 305 exámenes solicitados, 99 (32,5%) resultaron negativos y 206 positivos (67,5%). De las muestras positivas, en 107 muestras (51,9%) se detectó un solo patógeno y en 99 muestras (48,1%) se detectó más de un patógeno. **Conclusiones:** Se describe la experiencia del uso del panel Filmarray GI[®] en deposiciones, donde destaca el elevado número de muestras positivas para un microorganismo y la co-detección de patógenos entéricos.

Referencias bibliográficas

- 1.- O'Ryan M, Prado V, Pickering L K. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16:125-36.
- 2.- World Health Organization. World health statistics 2014. WHO press, Geneva, Switzerland. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2014/en (Accedido: 22 de marzo de 2014).
- 3.- Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 671-6.
- 4.- Zhang H, Morrison S, Tang Y W. Multiplex polymerase chain reaction tests for detection of pathogens associated with gastroenteritis. *Clin Lab Med* 2015; 35:461-86.
- 5.- Lawler J V, Wallace M R. Diagnosis and treatment of bacterial diarrhea. *Curr Gastroenterol Rep*. 2003; 5: 287-94.
- 6.- Rand K H, Tremblay E E, Hoidal M, Fisher L B, Grau K R, Karst S M. Multiplex gastrointestinal pathogen panels: implications for infection control. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 82:154-7.
- 7.- Buss S N, Leber A, Chapin K, Fey P D, Bankowski M J, Jones M K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 915-25.
- 8.- Khare R, Espy M J, Cebelinski E, Boxrud D, Sloan L M, Cunningham S A, et al. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 3667-73.
- 9.- Spina A, Kerr K G, Cormican M, Barbut F, Eigentler A, Zerva L, et al. Spectrum of enteropathogens detected by the Filmarray GI[®] Panel in a multicentre study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 719-28.
- 10.- Croxen M A, Law R J, Scholz R, Keeney K M, Wlodarska M, Finlay B B. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26: 822-80.