



Lumbalpunktion utförs vid United Mission Hospital Tansen, Nepal. Orsaken till CNS-infektioner skiljer sig mellan olika geografiska områden.

Foto: OLOF SÅLL

Kommersiella multiplex PCR-paneler för CNS-infektioner

Diagnostiken av CNS-infektioner har gått framåt under det senaste decenniet. Klassiska metoder som cellräkning av likvor och bakterieodling finns fortfarande kvar som viktiga metoder för att konstatera om det rör sig om infektion som orsak till patientens symtom. På senare tid har multiplex PCR blivit rutinmetod vid diagnostiken av CNS-infektioner. Metoden innebär samtidig analys av ett antal mikroorganismer med svar om DNA/RNA från dessa kan påvisas i provet. Då den kan utföras av laboratoriepersonal utan omfattande utbildning, skulle den kunna vara användbar i många låg- och medelinkomstländer. **Olof Säll**, forskare vid Örebro universitet, ger här en bakgrund samt berättar om deras studie på misstänkta CNS-infektioner genomförd i Nepal.



Vilken rutin man har för diagnostik av CNS-infektioner behöver vara skräddarsytt för lokal epidemiologi, där man i Sverige behöver ta hänsyn till bland annat TBE och borrelia.

Vid akuta CNS-infektioner kan den orsakande patogenen oftast påvisas i likvor, dock med vissa undantag. Som exempel kan TBE nämnas där viruset sällan kan påvisas vid encefalitsymtom, då inflammationen i hjärnan oftast är en post-infektiös inflammation. Ett annat undantag är borrelia där mängden bakterier oftast är för liten.

En fråga som är värd att lyfta fram är vilken plats multiplex PCR-paneler för CNS-infektioner bör ha. Breda multiplexpaneler har välkomnats av kliniker för snabb analys av ett antal viktiga patogener. Därför ansågs dessa metoder initialt som en revolution i CNS-infektionsdiagnostik. Metoden har potential att bidra till minskad användning av antibiotika, kortare sjukhusvistelse och minskad totalkostnad. Men oro har väckts om sensitiviteten för vissa patogener. Efter några års användning har en mer balanserad syn antagits. Användning bör begränsas till endast starkt misstänkta infektioner och att multiplexpanelen inte är ett fristående diagnostiskt test; även andra analyser krävs. Vilken rutin man har för diagnostik av CNS-infektioner behöver vara skräddarsytt för lokal epidemiologi, där man i Sverige behöver ta hänsyn till bland annat TBE och borrelia.

Den multiplexa PCR-panel som används mest i Sverige är FilmArray ME (meningit/encefalit) panel. Metoden analyserar förekomst av sex bakterier (*Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae* och *S. pneumoniae*), sju virus (cytomegalovirus, enterovirus, herpes simplex virus typ 1 (HSV-1), HSV 2, humant herpesvirus typ 6, humant parechovirus och varicella zoster virus) och två arter av *Cryptococcus*-svampar (*C. neoformans* och *C. gattii*; dock inte specificerad för arter). Metoden är konstruerad som ett slutet system och innehåller frystorkade reagens som krävs för att isolera, amplifiera och detektera nukleinsyra från ovan nämnda patogener. Bara några minuters arbetstid krävs och analysen är färdig efter 70 minuter.

Hittills är detta den enda multiplex PCR-panelen för CNS-infektioner som är godkänd av amerikanska FDA. En prospektiv utvärdering av kliniska prover från flera sjukhus föregick FDA-godkännandet vilken visade positiva och nega-

tiva prediktiva värden på 95,2 procent respektive 99,9 procent, jämfört med konventionell odling för bakterier och singleplex PCR för virus och svampar. Dessa siffror begränsas dock av en låg total positivitetsgrad och av det faktum att de flesta patogener testade positivt färre än fem gånger, vilket minskade statistisk styrka. Varken *Neisseria meningitidis* eller *Listeria monocytogenes* detekterades i något prov.¹ David Nestor med kollegor i Örebro utvärderade FilmArray ME panel med hänsyn till de ingående bakterierna och *Cryptococcus* jämfört med odling och en intern PCR-panel, med väsentligen samma resultat.²

Falskt positiva resultat har rapporterats i andra studier, vilket dock är svårt att bedöma om dessa berodde på kontamination i något steg av provhante-

ringen eller på brister i själva analysen. Kanske ännu viktigare är att falskt negativa resultat av herpes simplex virus HSV typ 1 och 2 har rapporterats.

I en stor svensk studie av 4.199 likvorprover där det fanns kliniska uppgifter om patienterna och jämfört med rutindiagnostik, visade FilmArray ME-panelen god övergripande prestanda och visade sig vara användbar vid screening för en stort antal patogener. Författarna rekommenderar dock att en specifik PCR bör kompletteras för HSV-1 om den kliniska misstanken om denna patogen är stark, på grund av lägre känslighet än konventionell PCR.³ Denna rekommendation finns även i Infektionsläkarförningens Vårdprogram för virala CNS-infektioner.⁴


Förutom FilmArray ME panel finns ett antal andra kommersiella multiplexa PCR-paneler för CNS-infektioner, men dokumentationen är begränsad för flera av dessa [Se tabell 1].

Själv har jag använt FilmArray ME panel i en studie som genomförts i Nepal. Vi kunde inkludera 176 patienter med misstänkt CNS-infektion. Från dessa analyserades likvor med både FilmArray ME panel samt panelen MeningoFinder 2SMART. Studien är den enda publicerade utvärderingen av 2SMART. Jämfört med FilmArray ME panel noterades lägre känslighet för CMV, enterovirus, HHV-6, HSV-1, VZV och *Cryptococcus* – men högre känslighet för HSV-2.

I studien kunde vi påvisa tecken på infektion i majoriteten av patienterna.

Produktnamn	Tillverkare	Analys	Kommentar
FilmArray ME panel	BioFire Diagnostics, bioMérieux	6 bakterier 7 virus 2 svamp	FDA-godkänd Mycket väl dokumenterad
QIAstat-Dx meningitis/encephalitis panel	QIAGEN	8 bakterier 6 virus 2 svamp	Lovande, allt mer dokumentation
2SMART	MeningoFinder	9 bakterier 12 virus 2 svamp	Enbart för användning i forskning Låg sensitivitet, kräver manuell tolkning
FTD Bacterial meningitis, FTD Viral meningitis FTD Neonatal meningitis	Fast Track Diagnostics		Enbart för användning i forskning Knapphändigt validerad
Syndrome Evaluation System	XCyton Diagnostics	4 bakterier 12 virus 1 svamp 1 parasit	Knapphändigt validerad
easyplex CSF	AmplexDiagnostics	6 bakterier	Bra prestanda men kräver manuell tolkning
Allplex Meningitis Panel Assays	SeeGene	6 bakterier 12 virus	Dokumentation saknas
ePlex CNS panel	GenMark Dx	oklart	Dokumentation saknas
Meningitis Viral 1/2 ELITe MGB Panel	Elitech InGenious	6 virus	Dokumentation saknas

Tabell 1: Sammanställning av utvecklade multiplexa PCR-paneler avsedda för CNS-infektioner.



Även den varierande epidemiologin av CNS-infektioner över hela världen, med patogener som inte ingår, är en annan begränsning av användbarheten av FilmArray ME-panelen.

I 88 procent av likvorproverna sågs förhöjt celltal, vilket är ett tecken på inflammation och sannolikt infektion. Hela 67 procent av patienterna hade tagit antibiotika före ankomst till sjukhus, oftast peroral cefalosporiner, vilket kan ha en dämpande effekt på en bakteriell infektion och försvåra diagnosen för behandlande läkarna. PCR-analyserna kunde påvisa orsakande mikroorganism i 23 procent av proverna, vilket var lägre än förväntat.⁵ Ytterligare studier behövs för att veta vilka patogener som orsakar CNS-infektioner i Nepal.

FilmArray ME-panelen används ofta i klinisk rutin i höginkomstländer. Den bör också vara användbar i många låg- och medelinkomstländer, eftersom metoden kan utföras av laboratoriepersonal utan omfattande utbildning. Men både instrumentet och testsatserna är dyra, vilket för närvarande utesluter den användningen. Även den varierande epidemiologin av CNS-infektioner över hela världen, med patogener som inte ingår, är en annan begränsning av användbarheten av FilmArray ME-panelen. Vårt projekt i Nepal är en av få publicerade studier som undersöker etiologin av CNS-infektioner i ett låg- eller medel-

inkomstland med hjälp av FilmArray ME panel.

Diagnostiken av CNS-infektioner i Nepal är i allmänhet baserad på klinisk symtombild, grundläggande laboratorieanalyser och utvärdering av given empirisk behandling. Antibiotika är lättillgängligt receptfritt i Nepal, och ofta har patienten provat peroralt antibiotika före ankomst till sjukhus. Detta kan minska chansen att hitta orsakande bakterier. Även vid icke-bakteriella infektioner kan det vara ett problem eftersom det blir svårare för läkarna att utesluta antibiotikakrävande infektioner. Resultatet blir ofta överbehandling med bredspektrumantibiotika med dess negativa konsekvenser i form av biverkningar och utveckling av antibiotikaresistens.

Bättre diagnostiska metoder för CNS-infektioner behöver utvecklas och måste anpassas för specifika geografiska områden. Dessa metoder måste vara robusta för att klara olika lokala förhållanden som extrema temperaturer eller damm. De måste också vara snabba och exakta för att vägleda läkarna till rätt behandling för patienten. Till sist behöver metoderna vara tillräckligt billiga för att kunna användas även för låg- och medelinkomstländer.



OLOF SÄLL
Infektionsläkare,
Universitetssjukhuset
i Örebro. Affilierad
forskare, Institutionen för
medicinska vetenskaper,
Örebro universitet
olof.sall@oru.se

Referenser

1. Leber AL, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol* 2016; 54(9):2251-2261.
2. Nestor D, Thulin Hedberg S, Lignell M, Skovbjerg S, Mölling P, Sundqvist M. Evaluation of the FilmArray™ Meningitis/Encephalitis panel with focus on bacteria and *Cryptococcus* spp. *J Microbiol Methods* 2019; 157:113-116.
3. Lindström J, Elfving K, Lindh M, Westin J, Studahl M. Assessment of the FilmArray ME panel in 4199 consecutively tested cerebrospinal fluid samples. *Clin Microbiol Infect* 2022; 28(1):79-84.
4. <https://infektion.net/wp-content/uploads/2023/03/virala-cns-infektioner-2022-230316.pdf>
5. Säll O, Thulin Hedberg S, Neander M, Tiwari S, Dornon L, Bom R, Lagerqvist N, Sundqvist M, Mölling P. Etiology of Central Nervous System Infections in a Rural Area of Nepal Using Molecular Approaches. *Am J Trop Med Hyg* 2019; 101(1):253-259.