

**APPLICAZIONE OFF-LABEL DELLA TECNOLOGIA MULTIPLEX TANDEM PCR SU MATRICI PRIMARIE RESPONSABILI DI INFEZIONI INVASIVE**

L. Bianchi<sup>1</sup>, S. Donati<sup>1</sup>, C. Sebastiani<sup>1</sup>, M. Trezzi<sup>2</sup>, A. Cafissi<sup>1</sup>, R. Lari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Azienda USL Toscana Centro, Ospedale "S. Jacopo", U.O. Laboratorio Analisi, via Ciliegiole, Pistoia

<sup>2</sup>Azienda USL Toscana Centro, Ospedale "S. Jacopo", U.O. Malattie Infettive, via Ciliegiole, Pistoia

**INTRODUZIONE**

Introduzione. La morbilità e mortalità delle infezioni invasive sono in aumento (Chang et al., 2013). La terapia empirica ad ampio spettro applicata a questi casi richiede una rapida ed efficace determinazione non solo del patogeno coinvolto ma anche della matrice sede di infezione primaria (MSIP) entro 12h (Dellinger RP et al., 2013), per un rapido switch verso una terapia mirata (migliore prognosi per il paziente, minor costo, minor probabilità di sviluppo di ceppi resistenti). Il gold standard attuale per la diagnosi eziologica di infezioni invasive è l'emocoltura (EC) seguita da identificazione biochimica, che annovera tra gli svantaggi un lungo Turn Around Time (TAT>48h), inadeguato alle esigenze cliniche, potenziali falsi negativi (patogeni esigenti, prelievo a terapia antimicrobica iniziata, etc), e non ultimo la scarsa sensibilità (Chung et al., 2016). Nelle infezioni invasive la carica batterica (CB) nel sangue può essere 1-10 CFU/ml (Loonen et al., 2013) ed essendo matrice dinamica, la crescita del patogeno in EC risulta ancor di più inficiata. Attualmente non esistono in commercio saggi molecolari applicabili a MSIP sensibili e rapidi nell'identificare l'agente eziologico coinvolto nell'infezione.

Scopo dello studio. Scopo di questo studio retrospettivo è stato valutare l'applicazione off-label della tecnologia MT-PCR su MSIP, opportunamente selezionate previa risultato del batterioscopico Gram (BG) o metodica molecolare di screening Gram +, Gram – analoga al BG.

**METODI**

Materiali e metodi. Sono stati analizzati 110 casi di sospetta sepsi con SOFA SCORE  $\geq 2$  e valutati i seguenti parametri: procalcitonina (PCT); positività alla RealTime (RT)-PCR (modificata da Han et al., 2014); positività a MT-PCR pannello Batteriemia (AU27411, NLM); positività all'EC di matrici primarie (urine, BAL, sangue, lesione aperta, etc). Per tali casi sono state analizzate 278 MSIP (compreso sangue). Analisi statistica eseguita: chi quadro ( $\chi^2$ ,  $p < 0.05$ ).

**RISULTATI**

Risultati. L'85% dei pazienti risulta con PCT  $\geq 2$  ng/ml. L'EC (TAT=24-96h), l'RT-PCR su sangue e sulle altre matrici, sono risultate positive nel 45% (49/110), 36% (40/110) e 59% (65/110) ( $p < 0.01$ ) dei casi, con una positività complessiva del 73,6% (81/110). Il 49% (40/81) dei casi positivi sono risultati positivi alla MT-PCR (minor numero di patogeni rilevati). La concordanza fra EC e RT-PCR è risultata superiore al 90%. L'RT-PCR ha un TAT ridotto di almeno 18-24h rispetto ad EC. La CB nelle MSIP è sempre  $> 10^5$  copie/ml ad eccezione del sangue, che quando non è MSIP, può avere  $< 10$  copie/ml.

**CONCLUSIONI**

Conclusioni. Dai dati ottenuti si evince che i saggi molecolari per la loro rapidità di esecuzione ed elevata sensibilità, anche nei pazienti in terapia antibiotica, costituiscono una metodica alternativa e/o complementare alle metodologie classiche. Nello specifico il test RT-PCR utilizzato in questo studio, impiegato in sinergia con le metodiche colturali, incrementa la sensibilità e migliora il TAT della diagnostica della sepsi e permette di selezionare i casi per l'applicazione della MT-PCR ottimizzandone il rapporto costo/beneficio. I dati preliminari di questo studio necessitano di essere confermati da uno studio multicentrico per valutarne riproducibilità e robustezza della metodica.