

VALUTAZIONE DI REAL TIME PCR ASPERGILLUS SPP. IN CAMPIONI DI LAVAGGIO BRONCO-ALVEOLARE

A. Grancini¹, A. Orlandi¹, C. Pozzi¹, D. Consonni³, V. Rossetti², L. Morlacchi², M. Arghittu¹, G. Lunghi¹, R. Maiavacca¹

¹UO Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia Fondazione IRCCS Cà Granda O. M. Policlinico Milano

²UO Broncopneumologia Fondazione IRCCS Cà Granda O.M. Policlinico Milano

³UO Epidemiologia Fondazione IRCCS Cà Granda O.M. Policlinico Milano

INTRODUZIONE

I progressi nel management di pazienti trapiantati dei pazienti critici hanno comportato un incremento dell'incidenza di malattie opportunistiche tra le quali le infezioni fungine invasive (IFI) caratterizzate da elevata mortalità. La diagnosi si basa principalmente su metodiche convenzionali e tecniche non-colturali quali la ricerca di 1- β -D glucano e galattomannano (GM), riconosciute da EORTC/MSG per la definizione di IFI. Scopo del lavoro è valutare se un test molecolare Real-Time per la ricerca di DNA di *Aspergillus* spp. consente di migliorare la diagnosi di IFI. Lo studio è stato approvato dal comitato etico.

METODI

Sono stati indagati retrospettivamente 112 campioni di lavaggio bronco-alveolare (BAL) prelevati da pazienti a rischio (età media 51.3 anni, range 7-83), ricoverati presso il nostro Ente: 80 soggetti sottoposti a trapianto di organo solido, 6 affetti da emopatologie maligne, 7 ricoverati in Terapia Intensiva e 19 in trattamento con immunosoppressivi.

I campioni, precedentemente indagati con esame colturale e ricerca GM, sono stati sottoposti a Real-Time PCR eseguita con il kit *Aspergillus* spp ELITE MGB che amplifica il gene rDNA18S previo trattamento con proteasi K ed estrazione con un metodo automatico EZ1(Qiagen). L'analisi statistica è stata eseguita con Stata 13.

RISULTATI

Dei 112 pazienti, 3 sono stati persi al follow up, 3 con coltura positiva sono stati considerati colonizzati o con campione inquinato, 64 con tutti i test concordemente negativi non hanno mostrato evidenza di aspergillosi invasiva (AI), 42 avevano uno o più test positivi. Tra questi ultimi 19 pazienti furono considerati affetti da AI probabile (8 con tutti e tre i test positivi; 7 positivi per GM e PCR; 2 positivi per PCR e coltura; 2 con GM positivo di cui uno con coltura negativa e uno con coltura positiva), 2 pazienti, positivi alla sola PCR, erano stati considerati affetti da AI possibile, 21 pazienti positivi al solo GM presentavano una differente eziologia o erano in terapia interferente con il test. Con riferimento alla diagnosi clinica, sensibilità (Se) e specificità (Sp) sono così risultate: GM (cut-off >0.5): Se=71%, Sp=79%; PCR: Se=79%, Sp=98%; coltura: Se=50%, Sp=98%.

CONCLUSIONI

L'associazione di coltura, GM e PCR ha permesso di individuare il 99% delle AI e la negatività dei tre test ha consentito di escludere la diagnosi di AI nel 99% dei casi. Rimane comunque indispensabile l'indagine colturale che permette la valutazione dei test di sensibilità in vitro. La metodica molecolare risulta tra le tre studiate quella dotata di maggior sensibilità e specificità e l'esecuzione combinata delle metodiche consentirebbe l'esclusione di AI con elevata probabilità.