

**LA REAL-TIME PCR NELLA DIAGNOSI DI ASPERGILLOSI INVASIVA DA A. FUMIGATUS E RILEVAMENTO DELLE MUTAZIONI TR34/L98H**

L. Trovato<sup>1</sup>, A.P. Di Giovanni<sup>1</sup>, G. Castelli<sup>1</sup>, S. Oliveri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Analisi II, A.O.U. Policlinico-Vittorio Emanuele, Catania

<sup>2</sup>Laboratorio Analisi II, A.O.U. Policlinico-Vittorio Emanuele, Catania; Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università di Catania

**INTRODUZIONE**

L'aspergillosi invasiva (IA) rimane una delle principali cause di morbidità e mortalità principalmente in pazienti che presentano un severo stato di prolungata o profonda neutropenia o altra immunosoppressione. La diagnosi precoce è fondamentale per l'avvio di una appropriata strategia terapeutica e a tal proposito diversi marcatori di laboratorio, come il galattomannano (GM) e la ricerca del DNA di *Aspergillus*, sono stati utilizzati per accertare l'infezione. Scopo del lavoro è stato valutare il ruolo della Real-Time PCR nella diagnosi di IA da *A. fumigatus* e rilevamento delle mutazioni TR34/L98H.

**METODI**

Sono stati inseriti nello studio 35 pazienti con sospetta IA ricoverati presso i reparti di Pneumologia, Rianimazione e Medicina dell'A.O.U. Policlinico-Vittorio Emanuele di Catania e sottoposti a broncoscopia. Su ciascun campione di BAL, oltre alle indagini convenzionali, è stata effettuata la ricerca del GM mediante kit Platelia *Aspergillus* (Bio-Rad). Contemporaneamente, una aliquota di ciascun campione è stata congelata a -20°C per la successiva ricerca del DNA di *Aspergillus*. Per l'estrazione del DNA è stato utilizzato il kit MycoGENIE® (Ademtech). Per la ricerca del DNA è stato utilizzato il kit MycoGENIE® *Aspergillus fumigatus* Real-Time PCR (Ademtech) che consente di evidenziare DNA genomico di *Aspergillus* sezione fumigati e delle mutazioni TR34 e L98H, correlate alla resistenza agli azoli. La classificazione dei pazienti con IA provata, probabile e possibile è stata eseguita mediante i criteri dell'EORTC/MSG.

**RISULTATI**

Dei 35 pazienti inseriti nello studio, 5 sono stati classificati con IA probabile (14.3%) e 1 con IA possibile (2.9%). Nei pazienti con IA probabile/possibile l'83.3% è risultato positivo alla Real-Time PCR. Nel paziente con IA probabile negativo alla real-time PCR l'antigene GM è risultato positivo. Viceversa, nel paziente con IA possibile positivo alla Real-time PCR l'antigene GM è risultato negativo. Tutti i pazienti classificati senza IA (29) sono risultati negati alla Real-Time PCR, mentre in uno è stato evidenziato un risultato positivo al GM, in seguito ad una probabile polmonite da *B. capitatus*. In nessun campione positivo alla Real-Time sono state evidenziate mutazioni TR34 e L98H.

**CONCLUSIONI**

La Real-Time PCR, pur non essendo ancora stata inserita tra i test raccomandati per la diagnosi di IA probabile, è risultata un valido marcatore diagnostico soprattutto se utilizzata in combinazione al GM. La possibilità di poter identificare la specie responsabile dell'infezione, e i relativi marcatori di resistenza, potrebbe rappresentare un valido supporto alla diagnosi di IA e all'avvio di una appropriata terapia antifungina.