RT-PCR CANDIDA SU SIERO E BDG PER DIAGNOSI DI CANDIDOSI INVASIVA

A. Parisi[1], E. Furchì[1], A. Busacca[1], A. Maraschini[1], S. Amato[1], A. Pirrone[1], G. Giordano[1], L. Valentino[1], S. Allaria[1], D. Croci[1], A. Grancini[1], L. Daprai[1], C. Matinato[1]

[1]*SC Microbiologia e Virologia IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano*

INTRODUZIONE

Il lievito del genere *Candida* rappresenta il più diffuso tra i patogeni fungini nell'uomo.

Il trattamento tempestivo delle candidosi invasive è di fondamentale importanza per l'alto livello di morbilità e mortalità che esse comportano.

Oggigiorno le indagini colturali rappresentano il *gold standard* per la diagnosi di infezioni fungine invasive, nonostante abbiano scarsa sensibilità e lunghi tempi di positivizzazione.

Di recente introduzione nella diagnostica non colturale è la ricerca di β-D glucano (BDG) nel siero di pazienti a rischio. Esso è un marcatore caratterizzato da sensibilità e specificità variabili perché rilevabile anche in caso di infezione sostenute da altri patogeni.

Tra i test non colturali, promettente risulta essere la diagnostica molecolare per la ricerca di DNA di *Candida*, soprattutto se in associazione alla diagnostica tradizionale.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di confrontare i dati di BDG, emocoltura e RT-PCR.

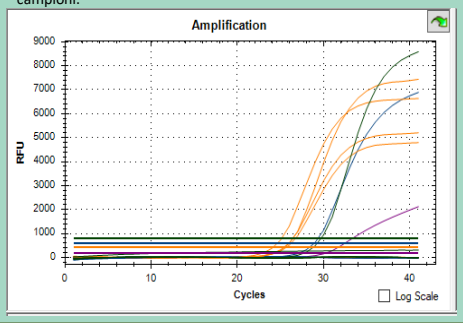
MATERIALI E METODI

Sono stati esaminati 31 sieri appartenenti ad altrettanti pazienti adulti a rischio di candidosi invasiva, ricoverati presso le UO di Medicina, Rianimazione e Chirurgia Generale dell'IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano. I campioni sono stati inviati in laboratorio per la determinazione del BDG (Wako) ed il materiale residuo è stato impiegato per la ricerca di DNA di *Candida spp*.

Per l'estrazione del materiale genetico è stato utilizzato lo strumento InGenius (Elitech) partendo da un volume di siero pari a 1 ml. L'amplificazione è stata eseguita con il kit Cand-ID Real Time PCR (Lion-dx) che permette la tipizzazione di sei specie: *C. albicans, C. parapsilosis, C. glabrata, C. tropicalis, C. krusei e C. dubliniensis* (Fig. 1-2).

Le emocolture sono state processate con lo strumento Virtuo Bact-Alert (Biomérieux)

Fig. 1 curve di amplificazione relative a *C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis* e i controlli interni dei campioni.



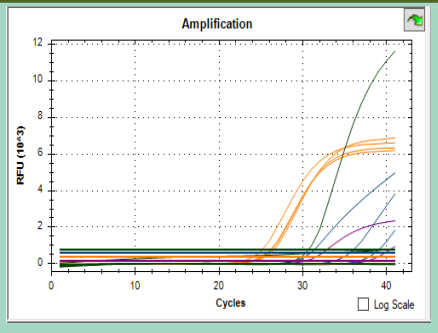
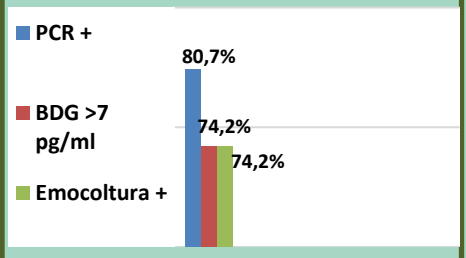


Fig. 2 curve di amplificazione relative a *C. tropicalis, C. krusei, C. dubliniensis* e i controlli interni dei campioni.

Fig. 3 Istogramma delle percentuali di positività ottenute con i diversi test.



RISULTATI

L'80,7% dei 31 sieri testati in biologia molecolare ha rilevato la presenza di DNA di *Candida spp*. Inoltre, in 5 di questi è stato rilevato il DNA di una seconda specie di *Candida* non isolata in coltura (3 *C. glabrata* e 2 *C. krusei*).

In 4 casi positivi alla PCR e negativi al BDG, 2 non hanno mostrato crescita all'emocoltura e nei restanti 2 è stata isolata *C. albicans* (Fig. 3).

Il 19,3% dei 31 sieri testati è risultato negativo in PCR nonostante l'isolamento da emocoltura di *Candida spp*. Di questi campioni solo il 50% aveva un BDG >7 pg/ml e inoltre il siero utilizzato per l'indagine molecolare è stato prelevato con distanza temporale superiore a sei giorni rispetto all'isolamento di *Candida* da emocoltura.

CONCLUSIONI

Nonostante l'esiguo numero di campioni che abbiamo potuto testare, la RT-PCR Cand-ID si è dimostrata un possibile supporto diagnostico nei casi di sospetta candidosi invasiva consentendo sia di confermare il sospetto clinico, in caso di valore positivo del BDG, sia di supportare la diagnosi dei casi con coltura e BDG negativi. Inoltre, ha permesso di evidenziare delle coinfezioni, non rilevate con la diagnosi colturale tradizionale, che potrebbero condizionare e modificare la prognosi e il trattamento.

Bibliografia

Price J. S. Et Al. An Evaluation Of The OLM Candid Real Time PCR To Aid In The Diagnosis Of Invasive Candidiasis When Testing Serum Samples. J. Fungi 2022-8:935