

Università degli studi di Genova

Scuola di scienze Mediche e Farmaceutiche

**Corso di laurea magistrale a ciclo unico in Medicina e
Chirurgia**



**Utilità della procalcitonina nella diagnosi di infezione
del torrente ematico in pazienti con neutropenia pre-
attecchimento post-trapianto allogenico di cellule
staminali ematopoietiche**

Relatore:

Prof.ssa Malgorzata Karolina Mikulska

Candidato:

Nicoletta Romelli

INDICE

INDICE.....	1
INTRODUZIONE.....	3
PROCALCITONINA.....	3
Caratteristiche biochimiche della procalcitonina.....	3
Procalcitonina e infiammazione.....	3
Procalcitonina e sepsi.....	4
Variazioni dei valori di procalcitonina dipendenti da condizioni cliniche non infettive.....	4
INFEZIONI DEL TORRENTE CIRCOLATORIO.....	5
Definizione.....	5
Diagnosi.....	5
Resistenze dei batteri che causano infezione del torrente circolatorio.....	5
NEUTROPENIA E NEUTROPENIA FEBBRILE.....	6
Neutropenia: definizione e cause.....	6
Neutropenia e rischio infettivo.....	7
Fattori di rischio di infezione in pazienti con neutropenia.....	8
Neutropenia febbrile: definizione.....	8
Cause e conseguenze della neutropenia febbrile.....	9
Gestione iniziale della neutropenia febbrile.....	9
Trattamento empirico-ragionato della neutropenia febbrile.....	11
Febbre persistente.....	11
TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE.....	12
Procedura.....	12
Ricostituzione immunologica dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche.....	13
Complicanze del trapianto di cellule staminali ematopoietiche.....	13
Trapianto di cellule staminali ematopoietiche e rischio infettivo.....	14
PCT IN NEUTROPENIA FEBBRILE.....	15
Studi riguardanti il valore della procalcitonina in pazienti ematologici con neutropenia febbrile.....	15
MATERIALI E METODI.....	21
DISEGNO E SETTING DELLO STUDIO.....	21
Criteri di inclusione.....	21
Definizioni.....	22
RACCOLTA DATI.....	22

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLA PROCALCITONINA.....	22
EMOCOLTURE	23
IDENTIFICAZIONE DEI PATOGENI.....	23
ANALISI STATISTICA	23
RISULTATI.....	24
CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI.....	24
Caratteristiche demografiche.....	24
Livelli di procalcitonina massima nei pazienti inclusi nello studio	29
Emocolture e batteri rilevati	30
Caratteristiche dei pazienti cha hanno sviluppato la batteriemia rispetto ai pazienti che non hanno avuto nessuna BSI.....	42
ANALISI STATISTICA DI CONFRONTO TRA PAZIENTI CON BSI DA GRAM-NEGATIVI, DA GRAM-POSITIVI E SENZA BSI.....	45
DISCUSSIONE	57
CONCLUSIONI	58
RINGRAZIAMENTI	59
BIBLIOGRAFIA	60

INTRODUZIONE

PROCALCITONINA

Caratteristiche biochimiche della procalcitonina

La procalcitonina è una proteina di 116 amminoacidi con peso molecolare di 13 kDa, che viene secreta dal tessuto tiroideo e presenta una concentrazione plasmatica molto bassa nei soggetti sani.

Il prodotto originale del gene CALC-I, responsabile della produzione della PCT nelle cellule C della tiroide e molto probabilmente anche della sua produzione durante l'inflammatione, è la catena di 141 amminoacidi che costituisce la preprocalcitonina. La sequenza segnale all'N-terminale con le sue proprietà idrofobiche permette il legame con il reticolo endoplasmatico, dove viene tagliata da endopeptidasi, dando così origine alla PCT. La calcitonina viene rilasciata nel sangue dopo che si sono formate le strutture secondaria e terziaria. Due cisteine nelle posizioni 1 e 7 formano un ponte sulfidrilico e la prolina C-terminale viene idrossilata. Entrambe queste strutture, essenziali per il legame della calcitonina al suo recettore, non sono perciò parte della struttura della PCT e si formano solamente dopo che la calcitonina è stata tagliata dalla PCT. Praticamente tutta la PCT che si forma nelle cellule C viene trasformata in calcitonina, quindi non entra PCT in circolo e i suoi livelli in soggetti sani non sono rilevabili. Nel plasma non ci sono enzimi che possano clivare la PCT; ciò significa che, se la PCT sfugge in qualche modo alla proteolisi intracellulare e viene secreta nel circolo, vi rimane imm modificata con un'emivita di 25-30h (mentre la calcitonina ha un'emivita di 4-5 minuti).¹

Procalcitonina e inflammatione

La procalcitonina rintracciabile nel sangue durante eventi infiammatori non viene prodotta dalle cellule C della tiroide.² Essa viene rilasciata da cellule parenchimali (incluse cellule del fegato, del rene, adipociti e cellule muscolari) in risposta a tossine batteriche, arrivando a livelli elevati nel sangue in 2-4 ore; al contrario, la procalcitonina è down-regolata in pazienti con infezioni virali.³

La procalcitonina è emersa come marker promettente per la diagnosi di infezioni batteriche, perché sono stati trovati livelli di PCT più alti in infezioni batteriche severe rispetto a infezioni virali e a patologie infiammatorie non specifiche. Quindi, la PCT può essere usata a supporto delle decisioni cliniche riguardanti l'inizio o la sospensione della terapia antibiotica.⁴

Procalcitonina e sepsi

La procalcitonina è stata dimostrata essere più utile nella diagnosi di sepsi rispetto ad altre variabili ottenute clinicamente e ad altri test laboratoristici.⁴ Inoltre, al contrario rispetto ad altri biomarkers, inclusa la PCR, c'è forte evidenza del fatto che la PCT gioca un ruolo fisiopatogenetico nello sviluppo della sepsi severa e nella mortalità associata. Poiché il livello di procalcitonina è correlato alla severità della risposta infiammatoria sistemica, la PCT ha valore prognostico nella sepsi. In pazienti critici, la PCT viene usata per confermare o escludere la diagnosi di sepsi, sepsi severa e shock settico. Questo utilizzo ha varie conseguenze, per esempio può essere utile per decidere quando iniziare o interrompere il trattamento della sepsi, monitorare il corso della patologia e stimare il successo della terapia. Inoltre, poiché la PCT ha un alto valore predittivo negativo per escludere sepsi e infezioni batteriche severe, può essere tenuta in considerazione per guidare la terapia antibiotica in vari tipi di paziente, ad esempio pazienti con sospette infezioni delle basse vie respiratorie e pazienti critici con sepsi, sepsi severe e shock settivo. La stewardship della terapia antibiotica guidata dalla PCT ha portato ad una riduzione dell'esposizione ad antibiotici dal 20 al 70% senza effetti negativi sui pazienti. Accanto alla prevenzione del sovrautilizzo di antibiotici, la rapida diagnosi di infezione e sepsi è di eccezionale rilevanza, perché un'ora di ritardo nell'inserimento di una terapia antibiotica appropriata aumenta la mortalità dal 5 al 10%.⁵

Variazioni dei valori di procalcitonina dipendenti da condizioni cliniche non infettive

Un aumento non specifico di procalcitonina è stato descritto in neonati durante le prime 18-30 ore fino a valori di 20 ng/mL, con una diminuzione del biomarker a 1,5 ng/mL alle 72 ore dalla nascita. Un aumento della procalcitonina non specifico inoltre è stato descritto in pazienti con trauma grave, ustioni, interventi chirurgici massivi, insufficienza renale cronica, patologie cardiologiche acute e Graft-versus-Host Disease (GvHD), oltre che in pazienti che avevano ricevuto immunoglobuline antitimocitiche (ATG), la T-cell therapy e certi regimi chemioterapeutici.⁶

INFEZIONI DEL TORRENTE CIRCOLATORIO

Definizione

Le infezioni del torrente circolatorio sono patologie infettive definite dalla presenza di batteri o funghi vitali nel torrente circolatorio (successivamente dimostrata dalla positività di una o più emocolture), che elicitata o abbia elicitato una risposta infiammatoria caratterizzata da alterazioni cliniche, laboratoristiche e dei parametri emodinamici.⁷

Diagnosi

La diagnosi delle infezioni del torrente circolatorio è basata sulla positività di una o più emocolture. In particolare, per quanto riguarda i contaminanti cutanei, è preferibile che venga considerata infezione del torrente circolatorio solamente quando sono presenti due emocolture positive, per evitare di ascrivere l'eziologia ad un patogeno che non è attualmente nel circolo sanguigno, con ovvi errori terapeutici e possibili drammatiche conseguenze.⁷

Resistenze dei batteri che causano infezione del torrente circolatorio

Nelle ultime due decadi, i cambiamenti più significativi nell'eziologia delle infezioni del torrente circolatorio non hanno riguardato il tipo di organismi infettanti, ma la loro resistenza agli antibiotici, specialmente per quanto riguarda i bastoncini Gram-negativi. Due meccanismi principalmente hanno messo in pericolo l'efficacia degli antibiotici: la produzione di ESBL (di cui esistono differenti sottotipi), a causa della quale in molti Paesi si è persa (o si sta perdendo) l'attività delle cefalosporine di terza generazione, quantomeno negli ospedali, e la produzione di carbapenemasi e metallo-betalattamasi, con conseguente aumento di organismi multi o pan-resistenti. Per controllare le resistenze sono urgentemente necessari un utilizzo più consono dei vecchi antibiotici e l'accesso a nuove molecole oltre a misure di controllo delle infezioni e a miglioramenti nella diagnostica.⁷

NEUTROPENIA E NEUTROPENIA FEBBRILE

Neutropenia: definizione e cause

La neutropenia è definita per una conta assoluta dei neutrofili (ANC) < 1500 cellule/microlitro; la neutropenia severa è generalmente definita per ANC < 500 cellule/microlitro o quando ci si aspetta che diminuisca di 500 cellule/microlitro nelle successive 48 ore; la neutropenia profonda c'è quando si ha ANC < 100 cellule/microlitro.⁸

Le cause di neutropenia sono svariate, possono essere sia congenite che acquisite. Tra le cause congenite possiamo annoverare ad esempio la neutropenia familiare benigna e la neutropenia ciclica, mentre quelle acquisite possono essere dovute ad infezioni (post-infettive o sviluppatasi durante infezioni virali o sepsi) o indotte da farmaci, alcuni dei quali possono causare ad esempio agranulocitosi, oppure possono avere base autoimmune o ancora possono essere causate da patologie neoplastiche ematologiche (leucemia acuta, mielodisplasia, mieloma, linfoma, etc.), da carenza di B12 o folati o rame nella dieta, oppure da malnutrizione calorica globale.⁹

Tabella 1. Fattori di rischio dello sviluppo della neutropenia febbrile

Classe	Fattori di rischio
Correlati al paziente	<ul style="list-style-type: none">• Et� > 65• Sesso femminile• Performance status basso (ECOG \geq2)• Stato nutrizionale basso• Immunodepressione (es. infezione da HIV)• Preesistente neutropenia o linfopenia• Ferite aperte• Infezioni tissutali attive• Comorbilit� (patologie cardiovascolari, BPCO, patologie epatiche, diabete mellito, anemia)

Associati alla patologia	<ul style="list-style-type: none"> • Tipo di tumore (ematologico o solido) • Metastasi a livello del midollo osseo • Patologia avanzata/refrattaria • Livelli alti di LDH (es. linfoma)
Correlati al trattamento	<ul style="list-style-type: none"> • Regime chemioterapeutico • Relative Dose Intensity (RDI) • Precedenti regimi chemioterapeutici • Concomitante o precedente terapia radiante al midollo osseo ($\geq 20\%$) • Neutropenia complicata in cicli precedenti (FN prolungata, ipotensione, sepsi, polmonite o infezione fungina) • Intervallo della CT • Precedenti riduzioni di dose

Neutropenia e rischio infettivo

Un numero di neutrofili inferiore a 500 cellule/mm³ (e, specialmente, inferiore a 100 cellule/mm³) è associato ad un aumentato rischio di infezioni fungine e batteriche severe.¹⁰ Il rischio infettivo è più alto nei casi di neutropenia prolungata (>7 giorni).⁸ Anche i pazienti con conta granulocitaria compresa tra 500 e 1000 cellule/mm³, specialmente se diminuita rapidamente, hanno alto rischio di complicanze infettive, perché il concetto di neutropenia non è statico ma, piuttosto, dinamico. Infatti, una ricerca fatta sulla febbre durante neutropenia in bambini con cancro ha mostrato la presenza di complicazioni infettive severe (ad esempio batteriemia o micosi invasive) in pazienti con una conta granulocitaria che non era mai scesa al di sotto di 500 cellule/mm³, suggerendo la presenza di una “zona grigia” che dovrebbe essere monitorata con cura. Così è stato proposto un indice (D-index o c-D-index) per valutare l’area al di sotto della curva della conta di neutrofili (che combina profondità e durata della neutropenia), per valutare il rischio di infezioni tardive, in particolare le malattie invasive fungine (IFD), in pazienti adulti.¹⁰ Le infezioni in soggetti con

neutropenia possono essere il risultato della trasmissione di agenti infettivi tra persone o di organismi che vivono nella bocca, nell'intestino o sulla cute, ma che normalmente non causano patologia perché un sistema immunitario efficiente li tiene sotto controllo.¹¹

Fattori di rischio di infezione in pazienti con neutropenia

In pazienti con neutropenia, la presenza di infezioni del torrente circolatorio è favorita da mucositi, presenza di CVC, colonizzazione batterica gastrointestinale, leucemia mieloide acuta e precedenti trattamenti antibiotici.¹²

Il danno alla barriera mucosa è il risultato della dose di chemioterapia e radioterapia. Il meccanismo sottostante è stato parzialmente identificato con il rilascio di citochine proinfiammatorie e di enzimi tissutali (come metalloproteasi e sfingomielinasi), che porta ad apoptosi e danno tissutale.¹² Il danno alla barriera mucosa permette ai batteri colonizzanti di entrare nel circolo sanguigno, dove, in assenza di granulociti, possono sviluppare rapidamente infezioni severe, anche nel caso di una carica batterica bassa. La mucosite può essere la base di infezioni severe e spesso polimicrobiche, con o senza neutropenia.¹⁰

Per quanto riguarda il CVC, la sua introduzione è spesso necessaria sia per la somministrazione di chemioterapici, sia per quella delle terapie di supporto. La presenza di un accesso venoso centrale aumenta la probabilità di sepsi e il rischio sembra essere maggiore con i dispositivi a più vie, in pazienti con neoplasie ematologiche e nei casi in cui il CVC viene manipolato molte volte. L'incidenza di infezioni del torrente circolatorio associate a CVC in pazienti neutropenici può essere significativamente ridotta tramite attività formative.¹²

Inoltre il fenomeno della crescita della resistenza batterica agli antibiotici ovviamente influisce sulla gestione delle infezioni nei pazienti con cancro.

Infine, aspetti nuovi e peculiari emergono dall'uso di modificatori biologici di risposta, che sono stati inseriti nella maggior parte dei regimi di chemioterapia e pongono nuovi cambiamenti da considerare.¹⁰

Neutropenia febbrile: definizione

La neutropenia febbrile (FN) è definita come una temperatura orale $> 38,3^{\circ}\text{C}$ o due misurazioni $> 38^{\circ}\text{C}$ per due ore e una conta assoluta dei neutrofili $< 500/\text{microlitro}$ o che ci aspettiamo diventi $< 500/\text{microlitro}$.¹³

Cause e conseguenze della neutropenia febbrile

Molti regimi chemioterapici a dosi standard sono associati a 6-8 giorni di neutropenia e la neutropenia febbrile è osservata in circa 8 casi ogni 1000 pazienti che ricevono la chemioterapia contro il cancro. C'è una chiara correlazione tra la severità della neutropenia (che influenza direttamente l'incidenza della neutropenia febbrile) e l'intensità della chemioterapia. Attualmente, i differenti regimi terapeutici vengono classificati in base alla produzione di un alto (>20%), medio (10-20%) o basso rischio (<10%) di neutropenia febbrile.¹³

Altri fattori di rischio di neutropenia febbrile sono l'età, che porta anche a maggiore mortalità e morbilità, uno stadio avanzato della malattia, anamnesi positiva per neutropenia febbrile, mancata profilassi antibiotica o mancato utilizzo di "granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), mucositi, performance status scadente e/o patologie cardiovascolari.¹³

La maggior parte degli episodi di neutropenia febbrile, approssimativamente l'80%, potrebbe essere legato a cause infettive. L'eziologia include batteri, funghi e virus. Tuttavia, il 20-25% dei casi di neutropenia febbrile dovrebbe essere imputato a cause non infettive come, tra le altre, la Graft-versus-Host Disease, la engraftment syndrome, la tossicità indotta dai farmaci, o le reazioni agli anti-tumorali. Quindi, un processo diagnostico accurato e tempestivo è obbligatorio per trovare prontamente la diagnosi e guidare le terapie antibiotiche mirate e, possibilmente, la loro durata.¹⁴

Nelle ultime decadi c'è stato un passaggio dalla maggior presenza di neutropenie febbrili associate a batteri Gram-negativi alla maggior presenza di FN associate a batteri Gram-positivi. Attualmente, molti centri riportano batteriemie da Gram-positivi e Gram-negativi nel 50% dei pazienti con FN, sebbene centri che non utilizzano fluorochinoloni come profilassi riportino una predominanza di batteri Gram-negativi. Inoltre è stata notata una tendenza all'antibiotico-resistenza, come batteri Gram-negativi produttori di beta-lattamasi ad ampio spettro (ESBL), Enterococchi vancomicina-resistenti (VRE) e Stafilococco aureo meticillino-resistente (MRSA). Inoltre è stato riportato un aumento di infezioni da parte di Candida fluconazolo-resistente.¹³

Spesso la neutropenia febbrile porta alla riduzione della dose di chemioterapico, cosa che può compromettere i risultati clinici in neoplasie potenzialmente responsive.¹⁵

Gestione iniziale della neutropenia febbrile

La prevenzione e la gestione appropriata della neutropenia febbrile è importante, perché la percentuale delle complicanze maggiori (ipotensione, insufficienza renale acuta, insufficienza respiratoria e scompenso cardiaco) in tale contesto va approssimativamente dal 25% al 30% e la

mortalità arriva fino all'11%. In aggiunta a ciò, nel caso di sepsi e shock settico, la mortalità ospedaliera può essere anche del 50%.¹⁶

Il successo della gestione della neutropenia febbrile richiede che la potenziale infezione venga riconosciuta prontamente, quindi è molto importante educare i pazienti non ospedalizzati a monitorare i propri sintomi, inclusa la temperatura corporea, e fornirgli istruzioni scritte riguardanti quando e come contattare i servizi appropriati per l'evento di interesse. La terapia dovrebbe essere iniziata entro 1 ora dall'ingresso del paziente in ospedale. Un ritardo nell'inizio della terapia antibiotica è associato a un significativo aumento dei tempi di ospedalizzazione e ad un aumento di mortalità.

Innanzitutto bisogna valutare l'eventuale presenza di cateteri venosi a permanenza e di sintomi o segni che suggeriscano un focolaio infettivo, che può essere ad esempio a livello del sistema respiratorio, del tratto gastrointestinale, della cute, del tratto genitourinario, della regione perianale, dell'orofaringe o del sistema nervoso centrale, tenendo conto che i segni e i sintomi possono essere minimi in soggetti neutropenici, soprattutto se hanno ricevuto corticosteroidi, e in soggetti anziani, che spesso possono presentare uno stato confusionale. Particolare attenzione va posta a pazienti che si presentano ipotesi, con temperatura corporea bassa o apiretici, perché potrebbero stare sviluppando una setticemia da Gram-negativi, che richiede trattamento precoce.

Inoltre dovremo andare a effettuare esami ematochimici per la valutazione della funzionalità midollare, renale ed epatica, ed esami che comprendano il profilo della coagulazione e la proteina C reattiva. Fondamentali per la gestione precoce del trattamento sono due set di emocolture da sangue venoso periferico e emocolture prelevate anche dai cateteri a permanenza, prima dell'inizio della terapia. Possono essere utili anche esami delle urine ed urinocolture, esame microscopico e coltura dell'espettorato, esame microscopico delle feci e coprocultura, aspirati o biopsie cutanee e la radiografia al torace.¹³

Inoltre, per stabilire la terapia iniziale, è molto importante valutare se sono presenti degli esami microbiologici precedenti ed in particolare se erano presenti germi antibiotico-resistenti. Anche se non fossero presenti esami precedenti bisogna porre molta attenzione all'epidemiologia locale, poiché il tipo di patogeni che causano infezione nei pazienti neoplastici cambia molto da posto a posto e cambia nel tempo.

Ulteriori esami che possono essere fatti nel caso di neutropenia profonda e prolungata conseguente ad allotrapianto sono la TC toracica ad alta risoluzione e il broncolavaggio alveolare¹³.

Trattamento empirico-ragionato della neutropenia febbrile

I pazienti con neutropenia febbrile vengono trattati in maniera diversa a seconda che siano a basso o ad alto rischio di complicanze. Possiamo individuare i pazienti a basso e ad alto rischio di complicanze tramite il MASCC score¹²⁻¹⁷ oppure tramite Talcott's rules o criteri di giudizio clinico¹⁶.

Per quanto riguarda quelli a basso rischio si può utilizzare una terapia orale nel caso in cui il paziente sia emodinamicamente stabile, non abbia leucemia acuta o evidenza di insufficienza d'organo e non abbia polmonite, catetere venoso a permanenza o infezioni severe dei tessuti molli. Altri pazienti ad alto rischio possono essere trattati con un regime terapeutico parenterale a livello ambulatoriale.

Per quanto riguarda invece i pazienti ad alto rischio o che presentino caratteristiche di alto rischio secondo il medico, dovrebbero essere ricoverati e dovrebbero cominciare una terapia antibiotica endovenosa con antibiotici ad ampio spettro, poiché il rischio di sepsi batterica è molto alto. Per la scelta dell'antibiotico è fondamentale valutare l'epidemiologia locale e l'eventuale presenza di antibiotico-resistenza in precedenti antibiogrammi di colture batteriche effettuate. Oltre all'antibiotico ad ampio spettro, vi sono regimi terapeutici specifici per condizioni cliniche particolari, ad esempio la presenza di catetere venoso centrale, polmonite, infiltrati polmonari, lesioni vescicolari o sospette infezioni virali, sospette meningiti o encefaliti, celluliti, sepsi pelvica o intra-addominale, diarrea e candidiasi.¹³

Febbre persistente

La febbre persistente è un episodio di febbre durante la neutropenia che non si risolve dopo 5 giorni di terapia antibiotica ad ampio spettro. Non è necessario modificare la terapia antibiotica in caso di febbre persistente solamente se il paziente gode di buone condizioni cliniche. In questo caso la migliore scelta clinica è la vigile attesa. Comunque, i pazienti che rimangono febbrili dopo l'inizio della terapia empirico-ragionata devono essere rivalutati per la ricerca di possibili fonti infettive. Inoltre deve essere considerata anche la possibilità di un'infezione fungina invasiva, che è stata identificata come una causa comune di febbre persistente in pazienti neutropenici. La scelta della terapia antifungina dipende da quali funghi sono più probabilmente responsabili dell'infezione, ma anche dal profilo di tossicità e dal costo della terapia.⁸

TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE

Procedura

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) è una procedura medica che consiste nell'infusione di cellule staminali dopo un breve ciclo di chemioterapia, o radioterapia, o entrambe. Può essere usata come trattamento di vari tumori, come anche per alcune condizioni benigne. La procedura può eradicare il tumore residuo attraverso lo sfruttamento dell'effetto delle cellule donate verso il tumore (Graft-versus-Tumor Effect). Un trapianto di cellule staminali ematopoietiche non può essere eseguito senza un donatore e senza che il ricevente sia adatto e "fit". L'obiettivo primario della maggior parte dei trapianti è quello di curare la patologia tumorale sottostante o la patologia ematologica.

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche può essere classificato in base alla fonte delle cellule ed in base alla relazione tra donatore e ricevente. Le cellule staminali possono essere ottenute da sangue periferico, midollo osseo o da cordone ombelicale. Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche può essere inoltre autologo (che significa che le cellule staminali sono state raccolte dal ricevente) o allogenico (che significa che le cellule provengono da un altro individuo o da sangue di uno o più cordoni ombelicali).

Prima dell'introduzione del granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), le cellule staminali venivano estratte direttamente dal midollo osseo del donatore in sala operatoria. Attualmente viene utilizzato più frequentemente il sangue periferico come fonte di cellule staminali, sia per il trapianto autologo che per quello allogenico. Per raccogliere dal sangue periferico le cellule staminali mobilizzate dal G-CSF (utilizzato da solo o in combinazione con farmaci che stimolano la proliferazione o la migrazione delle cellule dal compartimento midollare) viene utilizzata l'aferesi. Rispetto al trapianto di cellule staminali ottenute da midollo osseo, il trapianto effettuato utilizzando cellule da sangue periferico ha il vantaggio di avere una ripresa più rapida dei globuli bianchi e del sistema immunitario nel ricevente ed un minor tasso di fallimento del trapianto; questi benefici sono controbilanciati dal fatto che tale tipo di trapianto presenta una maggior incidenza di Graft-versus-Host Disease (GVHD). Il trapianto allogenico richiede che venga trovato un donatore sano, imparentato o non, che abbia una compatibilità accettabile per quanto riguarda gli antigeni leucocitari umani. Nel caso in cui mancasse il donatore possono essere utilizzati sangue da cordone ombelicale o un donatore aploidentico (familiare con antigeni parzialmente compatibili).

Nel trapianto di cellule staminali autologo le cellule staminali vengono ricavate dal ricevente e crioconservate per essere successivamente re-infuse nello stesso individuo dopo alte dosi di radioterapia o chemioterapia. Questa forma di HSCT porta il ricevente ad essere ricoverato per l'aplasia midollare che segue inevitabilmente la terapia ad alte dosi.¹⁸

Ricostituzione immunologica dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche

La ricostituzione del sistema immunitario dopo un trapianto di cellule staminali ematopoietiche avviene in tempi diversi a seconda delle cellule che prendiamo in considerazione. La ricostituzione dell'immunità innata avviene rapidamente (20-30 giorni dopo il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche), mentre la ricostituzione dell'immunità adattativa può avvenire anche un anno dopo. In particolare, avremo una conta di neutrofili >500/microlitro a partire da circa 14 giorni successivamente ad un trapianto in cui le cellule staminali sono state ricavate da sangue periferico, circa 21 giorni per cellule staminali ricavate da midollo osseo e circa 30 giorni per cellule staminali ricavate da sangue di cordone ombelicale; queste differenze sono dovute alla diversa dose di cellule CD34+ all'interno della fonte utilizzata. Per quanto riguarda le altre categorie di cellule dell'immunità, le cellule "natural killer" (NK) si ricostituiscono tra i 30 e i 100 giorni dal trapianto e le cellule T a partire dai 100 giorni.¹⁹

Complicanze del trapianto di cellule staminali ematopoietiche

Le complicanze del trapianto di cellule staminali ematopoietiche possono essere divise in tre categorie: quelle che si verificano durante il periodo pre-attecchimento (dall'inizio del regime di condizionamento al recupero dei neutrofili), quelle precoci nel periodo post-attecchimento (dalla ripresa dei neutrofili ai 100 giorni dopo il trapianto) e quelle tardive nel periodo post-attecchimento (a partire dal centesimo giorno dopo il trapianto).

Le complicanze nel periodo pre-attecchimento sono tipicamente il risultato delle tossicità del regime di condizionamento. Il ricevente può sviluppare pancitopenia, tossicità gastrointestinale, infezioni e disfunzione d'organo. Le infezioni sviluppate durante questo periodo sono spesso correlate alla neutropenia e consistono in infezioni da batteri Gram-positivi e Gram-negativi, da Herpes Simplex virus, candidiasi ed aspergillosi invasive. In genere sono necessari farmaci anti-infettivi, trasfusioni e terapie di supporto (incluse idratazione e nutrizione parenterale o enterale) di vario grado. La disfunzione d'organo richiede il ricovero in unità di terapia intensiva e può essere che sopraggiunga anche la morte. Il rischio varia a seconda del tipo di procedura di trapianto, dal regime di condizionamento, dalla patologia sottostante e dalle comorbilità del ricevente.

Nel periodo precoce post-attecchimento può comparire la GvHD acuta. La GvHD può svilupparsi solamente nel trapianto allogenico. Essa si sviluppa quando le cellule immunitarie trapiantate riconoscono il ricevente come estraneo e iniziano una reazione immune, causando patologia. La GvHD acuta in genere coinvolge la cute (rash), il sistema gastrointestinale (diarrea acquosa, nausea persistente, vomito, anoressia, ittero colestatico) ed il fegato. La terapia principale è costituita da corticosteroidi sistemici. La GvHD acuta severa è associata a basso tasso di sopravvivenza.

Durante il periodo precoce post-attecchimento vi è ancora rischio di complicanze infettive, soprattutto per infezioni opportunistiche (P. Jirovecii e Citomegalovirus) e c'è maggiore suscettibilità ad infezioni respiratorie comuni (influenza, virus respiratorio sinciziale ed adenovirus).

Nel periodo tardivo post-attecchimento, può comparire GvHD cronica, che può coinvolgere molti organi, tra cui la cute, le ghiandole salivari (sindrome secca), i polmoni (patologia cronica ostruttiva e/o restrittiva), il tratto gastrointestinale e il fegato. Il trattamento può essere effettuato con immunosoppressori e la prima linea è costituita da corticosteroidi.¹⁸

Trapianto di cellule staminali ematopoietiche e rischio infettivo

La neutropenia è senza dubbio uno dei maggiori fattori di rischio per infezione nei pazienti che hanno subito trapianto di cellule staminali ematopoietiche.²⁰ Le infezioni del torrente circolatorio sono una delle cause principali delle complicanze infettive dopo il trapianto di cellule staminali ematopoietiche e si verificano approssimativamente nel 5-10% dei casi di trapianto di cellule staminali ematopoietiche autologo e nel 20-30% per il trapianto allogenico.⁶

È stato notato che circa i due terzi (68%) degli episodi infettivi consta di infezioni del torrente circolatorio e di polmoniti. Queste infezioni sono di grande importanza, perché sono associate con alta morbilità e mortalità.²⁰

PCT IN NEUTROPENIA FEBBRILE

Studi riguardanti il valore della procalcitonina in pazienti ematologici con neutropenia febbrile

Più studi prospettici e retrospettivi hanno analizzato il ruolo della PCT nel procedimento diagnostico di pazienti ematologici con neutropenia febbrile.

M. von Lilienfeld-Toal et al.²¹ hanno valutato 31 pazienti con neutropenia febbrile, per un totale di 53 episodi, di cui 18 associati ad emocolture positive. In particolare durante questi episodi hanno valutato i valori plasmatici di proteina C reattiva (PCR), procalcitonina (PCT) e interleuchina 6 (IL6). I valori di PCT sono stati misurati al secondo giorno dall'inizio della febbre, considerando come range di normalità 0-0,2 ng/mL. Il valore medio era di 1,8 ng/mL per pazienti con batteriemia, di 0,22 ng/mL per pazienti con FUO e di 0,2 ng/mL per pazienti con febbre non microbica. Quindi per quanto riguarda la PCT è stata trovata una significativa differenza tra gli episodi batteriemici e quelli non batteriemici con un livello di cut-off di 0,62 ng/ml che ha mostrato una buona sensibilità e specificità nel predire la batteriemia. Non è stato possibile però trovare una differenza significativa tra batteriemia dovuta ad agenti Gram-positivi da quella dovuta a Gram-negativi.

In uno studio pubblicato successivamente, M. von Lilienfeld-Toal et al.²² hanno valutato la procalcitonina come marker dopo la risoluzione della febbre anziché durante l'episodio febbrile, per valutare la possibilità di una stratificazione dei pazienti che sono a basso rischio di complicanze dopo la risoluzione della febbre e che possono beneficiare di un accorciamento della terapia antibiotica. Lo studio è stato effettuato su 102 episodi febbrili di 43 pazienti con neoplasia (42 neoplasie ematologiche e 1 tumore solido), alcuni dei quali avevano neutropenia. Tra questi pazienti, 8 sono morti durante lo studio e i loro dati sono stati analizzati separatamente rispetto ai 94 episodi febbrili che si sono invece risolti. All'inizio dell'episodio febbrile, il valore medio di procalcitonina era 0,4 ng/ml per la batteriemia, 0,6 ng/ml per la polmonite, 0,3 ng/ml per la FUO e 0,2 ng/ml per infezioni localizzate o febbre non microbica. La PCT era aumentata, con valori > 0,2 ng/ml in 67 episodi febbrili. Non c'era correlazione tra il valore di PCT all'inizio della febbre e la durata dell'episodio o la durata del periodo afebrile seguente. Lo studio ha dato come evidenza che una riduzione del livello di PCT minore del 70% era associato con una reale risoluzione della febbre. Questo potrebbe portare alla possibilità di diminuire i giorni di terapia antibiotica nei pazienti con queste caratteristiche.

Lima et al.²³ hanno effettuato uno studio randomizzato su 62 pazienti con neutropenia febbrile e patologia ematologica, che non avessero però subito trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche. Questi pazienti sono stati divisi in due gruppi per investigare l'uso della procalcitonina come guida della antibiotico-terapia durante gli episodi di neutropenia febbrile. Hanno visto come, aggiungendo la procalcitonina alle raccomandazioni standard, non si è ridotto l'uso degli antibiotici durante la neutropenia febbrile. In particolare è stata usata come criterio di sospensione dell'antibiotico-terapia una diminuzione della procalcitonina dell'80-90% o due dosaggi di procalcitonina inferiori a 0,5 ng/mL. Tuttavia in questo studio, come in altri, la procalcitonina ha dato prova di essere un marker di batteriemia, in particolare una procalcitonina superiore a 0,5 ng/mL presenta un'accuratezza nell'anticipare la diagnosi di batteriemia del 70%, con una sensibilità del 51,9% ed una specificità del 76,5%. Il valore normale in questo studio era di 0,05 ng/mL.

H. Haddad et al.²⁴ hanno valutato 121 episodi di neutropenia febbrile o infezione che avevano ricevuto terapia antibiotica. Questi pazienti sono stati divisi in due gruppi in base alla durata della terapia inferiore o uguale a 7 giorni (gruppo A), o superiore a 7 giorni (gruppo B). Gli outcomes erano simili tra i due gruppi sia per la risoluzione dell'infezione, sia per il tasso di recidiva, sia per la mortalità correlata all'infezione e la mortalità a 30 giorni. I pazienti erano inoltre assimilabili per quanto riguarda l'eradicazione microbiologica e il tempo per la defervescenza. Lo studio ha dimostrato che un gruppo selezionato di pazienti febbrili con cancro, particolarmente quello con PCT bassa di base (PCT < 0,25 ng/ml) o PCT che diminuisce dell'80% al giorno 4-7 con una terapia appropriata, non richiede una terapia antibiotica prolungata oltre i 7 giorni.

Liu et al.²⁵, studiando 212 episodi di neutropenia febbrile in pazienti con linfoma non Hodgkin, hanno evidenziato come la procalcitonina iniziale fosse più alta in pazienti con infezione documentata microbiologicamente (MDI) o clinicamente documentata, rispetto quelli con febbre di origine sconosciuta. In particolare i pazienti con valori iniziali di PCT \geq 0,50 ng/mL erano ad alto rischio di MDI (sensibilità 83,5%, specificità 77,2%). Inoltre un valore di procalcitonina significativamente elevato era correlato con la mortalità del paziente e con il ricovero in unità di terapia intensiva.

I. Stoma et al.⁶, in uno studio prospettico su 52 pazienti, hanno esaminato il valore diagnostico per infezioni delle concentrazioni plasmatiche di presepsina, PCT e PCR negli episodi di neutropenia febbrile nel periodo pre-attecchimento dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche, in condizioni epidemiologiche di alta prevalenza di batteri Gram-negativi resistenti. Il valore ottimale di cut-off per la PCT come biomarker di BSI da Gram-negativi in pazienti dopo HSCT si è mostrato

essere 1,5 ng/mL, con sensibilità di 62%, che porta ad avere una fetta di falsi negativi abbastanza ampia, e specificità dell'88%. I limiti di questo studio sono costituiti dal fatto che tiene conto solamente delle infezioni del torrente circolatorio, quindi potrebbe essere che vengano perse infezioni attive senza batteriemia (polmoniti o infezioni del tratto urinario, che in soggetti neutropenici potrebbero non dare manifestazioni evidenti), e tiene conto solamente delle infezioni da Gram-negativi, mentre in alcune regioni del Mondo le infezioni da Gram-positivi rimangono la causa principale di sepsi nei soggetti immunocompromessi.

Una review del 2017, stilata da Bruno et al.¹⁴, riporta che la PCT è potenzialmente utilizzabile per diagnosticare infezioni batteriche in pazienti ematologici con neutropenia febbrile. Il monitoraggio della PCT può essere particolarmente utile quando PCR e PCT di base sono elevate e vi sono emocolture positive per infezioni batteriche all'inizio della neutropenia febbrile. Al contrario, livelli bassi di PCT suggeriscono una febbre non di origine batterica, quindi è d'obbligo escludere le cause non infettive di neutropenia febbrile. In questo contesto, l'utilizzo della PCT può essere costo-efficace, perché può evitare l'utilizzo di terapie antibiotiche costose e i loro effetti collaterali. Per quanto riguarda le infezioni fungine invasive, il ruolo della PCT come strumento di diagnosi è controverso per la presenza di altri validi markers diagnostici, in particolare la combinazione delle tecniche di imaging e del test dell'antigene galattomannano. In ogni caso non sono stati ancora validati algoritmi decisionali che includano la PCT per monitorare la scelta dell'antibiotico e la durata del trattamento. Ovviamente per poter stabilire degli algoritmi bisognerebbe anche stare attenti all'interferenza che possono avere sulla PCT farmaci come siero antilinfocitario (o immunoglobuline anti-timocitiche o ATG) o scenari clinici come la engraftment syndrome dopo il trapianto di cellule staminali. Perciò è necessario effettuare studi prospettici per definire linee guida/raccomandazioni riguardo al ruolo della procalcitonina nella neutropenia febbrile.

H. T. van der Galien et al.²⁶ hanno effettuato uno studio, pubblicato nel 2018, che aveva come scopo quello di valutare il ruolo dell'interleuchina 6 (IL-6) e della procalcitonina nella diagnosi di infezione batterica in bambini con cancro e neutropenia febbrile. Sono stati inclusi nello studio 55 bambini per un totale di 77 episodi di neutropenia febbrile. In 18 di questi 77 episodi è stata documentata un'infezione batterica. Nei pazienti arruolati sono state valutate IL-6 e PCT al momento dell'ospedalizzazione per neutropenia febbrile (T0) e dopo 12-24 ore (T1). Per lo studio sono stati scelti valori di cut-off di 60ng/L per IL-6 e di 0,25 ng/mL per la PCT. Lo studio ha dimostrato che i livelli di IL-6 e PCT erano significativamente più elevati nei pazienti con infezione batterica rispetto a quelli dei pazienti senza infezione batterica, sia a T0 che a T1. Le AUC hanno dimostrato che i cut-off utilizzati avevano una sensibilità del 100% a T0 e T1 per quanto riguarda

IL-6 e, per quanto riguarda la PCT, di 93,3% e 90% rispettivamente per T0 e T1. Questi biomarker potrebbero essere studiati e combinati con altri criteri in un modello di stratificazione di rischio atto a ridurre terapie antibiotiche e ospedalizzazioni non necessarie.

Risultati analoghi erano stati ottenuti anche negli studi analizzati nella review di Sbrana et al.²⁷: infatti era stato ricavato che pazienti con un'infezione confermata avevano un valore di procalcitonina sierica più alto di pazienti che non avevano chiari segni di infezione²⁸. Tali valori tendono a essere più alti in pazienti con episodi infettivi di impatto clinico più importante, come infezioni del torrente circolatorio (es. batteriemia), SIRS, sepsi e shock settico²⁹⁻³⁰⁻³¹. Gli episodi di infezioni febbrili sembrano essere associati a valori più alti di procalcitonina rispetto a quelli di episodi di infezione non febbrile³¹. Inoltre, pazienti con un'infezione documentata da coltura cellulare mostrano valori più alti rispetto a pazienti con infezioni sospettate clinicamente di febbre di origine sconosciuta³². In particolare Jimeno et al.³² hanno analizzato i dati di 104 pazienti trattati con chemioterapia che avevano sviluppato neutropenia febbrile. Considerando sia i valori medi che la mediana della procalcitonina, c'era una differenza statisticamente significativa tra i pazienti che avevano infezioni microbiologicamente documentate e i pazienti con infezioni diagnosticate clinicamente o febbre di origine sconosciuta. Schuttrumpf et al.²⁸ hanno valutato 111 pazienti con patologie emato-oncologiche con una PCR >8 mg/L, in tali pazienti la concentrazione di PCT mediana era più alta nei pazienti con infezione che in quelli senza infezione (0,5 ng/mL vs 0,1 ng/mL in pazienti con leucopenia e 1,0 ng/mL vs 0,1 ng/mL in pazienti senza leucopenia). Meidani et al.³³ hanno analizzato 64 pazienti oncologici con neutropenia febbrile ed hanno osservato valori di procalcitonina particolarmente alti in pazienti con sepsi rispetto a quelli senza (valori medi di PCT 28.63 vs 2.48, p=,000).

Sempre nella review svolta da Sbrana et al.²⁷ si analizzano evidenze che suggeriscono che i livelli di procalcitonina sierica possano essere usati nel predire la mortalità a breve termine in pazienti oncologici che sviluppano emergenze e complicanze infettive severe. Questo potrebbe essere utile per capire precocemente la severità degli episodi infettivi e aiutare nel processo decisionale con la possibilità di ridurre la mortalità.

Wu et al.³⁴ nella loro metanalisi hanno valutato la possibilità di usare biomarkers come PCR, PCT e interleuchina 6, per una diagnosi precoce di infezione severa in pazienti con neutropenia febbrile. La procalcitonina è stata quella che ha mostrato un maggiore rapporto di verosimiglianza per infezioni batteriche, ma l'evidenza è troppo debole e dovrebbero essere fatti altri studi "ad hoc" per definire meglio il suo ruolo nella pratica clinica.

X. Luo et al.³⁵ hanno effettuato uno studio retrospettivo con l'obiettivo di valutare il valore della PCT sierica nel predire la presenza di BSI da Gram-negativi in pazienti ematologici con neutropenia febbrile. Lo studio includeva pazienti con neutropenia febbrile, affetti da patologie ematologiche e con età maggiore di 14 anni e nei quali erano stati raccolti simultaneamente campioni di sangue per le colture cellulari e per la PCT. In questo studio sono stati inseriti 1466 campioni di sangue ottenuti da pazienti ematologici con neutropenia febbrile. I livelli medi di procalcitonina erano significativamente più alti per le emocolture positive (0,55 ng/mL; IQR: 0,20-2,91) rispetto a quelle negative (0,21 ng/mL; IQR: 0,10-0,48; $p < 0,0001$) o contaminate (0,26 ng/mL; IQR: 0,13-0,62; $p < 0,05$) o positive per funghi. Sempre nello stesso studio inoltre è stato mostrato come i livelli di PCT fossero significativamente più alti in infezioni del torrente circolatorio da Gram-negativi MDR (Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa e Acinetobacter baumannii) rispetto a quelle da non-MDR e che la PCT può discriminare BSI causate da bastoncini Gram-negativi MDR, da BSI causate da germi non MDR, con miglior cut-off di 0,45ng/mL, con una sensibilità di 72,6% e una specificità del 51,1%.

Sono presenti inoltre in letteratura anche studi effettuati su popolazione pediatrica con neutropenia febbrile.

Lo studio di Hemming et al.³⁶ considera 48 episodi di neutropenia febbrile in 27 pazienti con un'età compresa tra 1 anno e 3 mesi e 18 anni e 3 mesi. In tale studio è stato valutato che un valore alto di PCT (>2 ng/dL) era fortemente associato ad un alto rischio di infezione, mentre non c'era una chiara associazione se il valore di PCT era intermedio o basso. Quindi anche questo studio, come altri, indica che il valore di PCT misurato all'inizio di un ricovero per neutropenia febbrile aiuta a indentificare i bambini che svilupperanno infezioni severe.

Sempre su una popolazione pediatrica sono stati effettuati gli studi raccolti dalla meta-analisi effettuata da Lin et al.³⁷, che hanno analizzato 10 studi riguardanti la procalcitonina e 8 studi riguardanti la proteina C reattiva e sono giunti alla conclusione che la procalcitonina ha sensibilità minore rispetto alla PCR e specificità maggiore, con accuratezza diagnostica comparabile per la diagnosi di sepsi batterica in bambini con febbre e neutropenia.

Considerati quindi gli input dati dagli studi riguardanti la procalcitonina in soggetti con neutropenia febbrile e soprattutto gli aspetti di tale tema non analizzati in essi, il nostro studio cerca di valutare se è possibile stabilire un cut-off di procalcitonina che possa discriminare con buona sensibilità e specificità infezioni del torrente ematico portate avanti da batteri Gram-positivi e infezioni del torrente ematico causate da batteri Gram-negativi. Ciò permetterebbe infatti di avere un dato che altrimenti ci potrebbe dare solamente l'emocoltura, di cui possiamo avere i risultati solamente dopo

3 giorni dal prelievo, al contrario della procalcitonina, che può essere dosata in poche ore. Le informazioni ricavate potrebbero essere utili per indirizzare la terapia verso una copertura più massiccia di alcuni ceppi rispetto che altri, con vantaggi dal punto di vista delle tempistiche di guarigione e di degenza dei pazienti, una diminuzione dello sviluppo delle resistenze e, in alcuni casi, anche una riduzione degli effetti collaterali grazie all'utilizzo di una terapia più mirata.

MATERIALI E METODI

DISEGNO E SETTING DELLO STUDIO

Questo studio retrospettivo è stato effettuato su pazienti reclutati negli anni 2016-2019 nell'Ospedale Policlinico San Martino. Questo studio è stato realizzato usando dati laboratoristici e clinici raccolti al centro trapianti di midollo dell'Ospedale Policlinico San Martino di Genova. I prelievi effettuati per la ricerca della procalcitonina nel sangue e per la realizzazione delle emocolture sono stati analizzati presso la Sezione di Microbiologia dell'Università di Genova.

Tutti i pazienti inseriti nello studio hanno firmato il consenso per raccolta ed elaborazione dati a scopo scientifico a livello nazionale ed internazionale. Essendo questo uno studio retrospettivo, non sono stati effettuati accertamenti in più rispetto a quelli indicati dalle linee guida, ma sono stati utilizzati prelievi e analisi laboratoristiche che vengono effettuate normalmente secondo i protocolli ospedalieri.

Questo studio è finalizzato a migliorare la pratica clinica quotidiana in accordo con la “good medical practice”.

Criteri di inclusione

In questo studio sono stati inclusi tutti i pazienti sottoposti ad allo-HSCT presso il centro trapianti di midollo dell'Ospedale Policlinico San Martino, negli anni 2016-2019.

Sono stati inclusi nello studio i pazienti che avevano una patologia ematologica e che avevano subito trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche. Il periodo preso in considerazione dallo studio è stato quello a partire dall'induzione, che avviene 7 giorni prima del trapianto di cellule staminali ematopoietiche, fino ad arrivare al momento dell'attecchimento delle cellule trapiantate, considerando come limite massimo di attecchimento quello di 30 giorni dal trapianto.

Ai pazienti con tali caratteristiche, nel caso in cui avessero sviluppato neutropenia febbrile, venivano effettuati dei prelievi per eseguire delle emocolture e, nelle ore successive, dei prelievi atti a dosare i valori di procalcitonina sierica, per valutare il rapporto tra infezioni del torrente circolatorio e rispettivi valori di procalcitonina.

Per i pazienti che nel periodo considerato non presentavano emocolture positive è stato preso in considerazione il livello di procalcitonina più alto durante il periodo di pre-attecchimento.

I pazienti ai quali non è stato mai fatto il prelievo ematico per l'analisi della PCT sono stati considerati separatamente.

Definizioni

Un episodio di infezione del torrente circolatorio è stato definito come un periodo di tempo associato ad una o più emocolture positive per lo stesso microorganismo o per la stessa associazione di microorganismi.

Non è stata fatta distinzione per set di emocolture prese da vena periferica o da catetere venoso centrale. I prelievi destinati alle emocolture sono stati tutti effettuati prima di iniziare la terapia antibiotica.

RACCOLTA DATI

Sono stati raccolti i seguenti dati demografici e clinici: età, genere, malattia di base, tipo di donatore di midollo osseo, data dei prelievi atti al dosaggio della procalcitonina e all'effettuazione di emocolture successive ad episodi di neutropenia febbrile.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLA PROCALCITONINA

I livelli di PCT sono stati dosati presso il laboratorio dell'ospedale Policlinico San Martino. I valori di normalità di PCT presso tale laboratorio sono tra 0 e 0,25ng/mL.

EMOCOLTURE

Per ogni emocoltura sono stati inviati al laboratorio 2 flaconi, uno per aerobi e uno per anareobi, ciascuno inoculato al momento del prelievo con circa 10 ml di sangue.

La positività dei campioni è stata valutata con il sistema automatico Batec (Becton Dickinson) che provvedeva all'incubazione (a 37°) per un massimo di 7 giorni e all'agitazione costante dei flaconi.

I campioni sono stati lasciati in incubazione per almeno 5 giorni. Sono stati presi dei campioni da tutti i flaconi positivi e sono stati usati per la colorazione Gram diretta e per le subcolture su terreni di coltura solidi per l'analisi successiva.

IDENTIFICAZIONE DEI PATOGENI

I microorganismi trovati nelle emocolture sono stati considerati come patogeni rilevanti se era presente una emocoltura positiva. Batteri come Micrococcus, Propionibacterium e Stafilococchi coagulasi negativi (*Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. lugdunensis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*), quindi escluso lo *Staphylococcus aureus*, sono stati considerati come contaminanti se rilevabili solamente in un set di emocolture, mentre sono stati considerati come patogeni se rilevabili in due emocolture.

ANALISI STATISTICA

Le caratteristiche dei pazienti sono state presentate mediante frequenza assoluta e percentuale per le variabili categoriche e con media e mediana per le variabili continue. Le variabili categoriche sono analizzate con il test di Chi Quadrato, e test esatto di Fisher se appropriato. Le variabili continue sono state analizzate con il test di Mann-Whitney.

Tutte le variabili categoriche e continue sono state confrontate tra il gruppo di pazienti nei quali era stata rilevata la presenza di BSI e quello dei pazienti che non avevano avuto BSI.

RISULTATI

CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI

Caratteristiche demografiche

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti

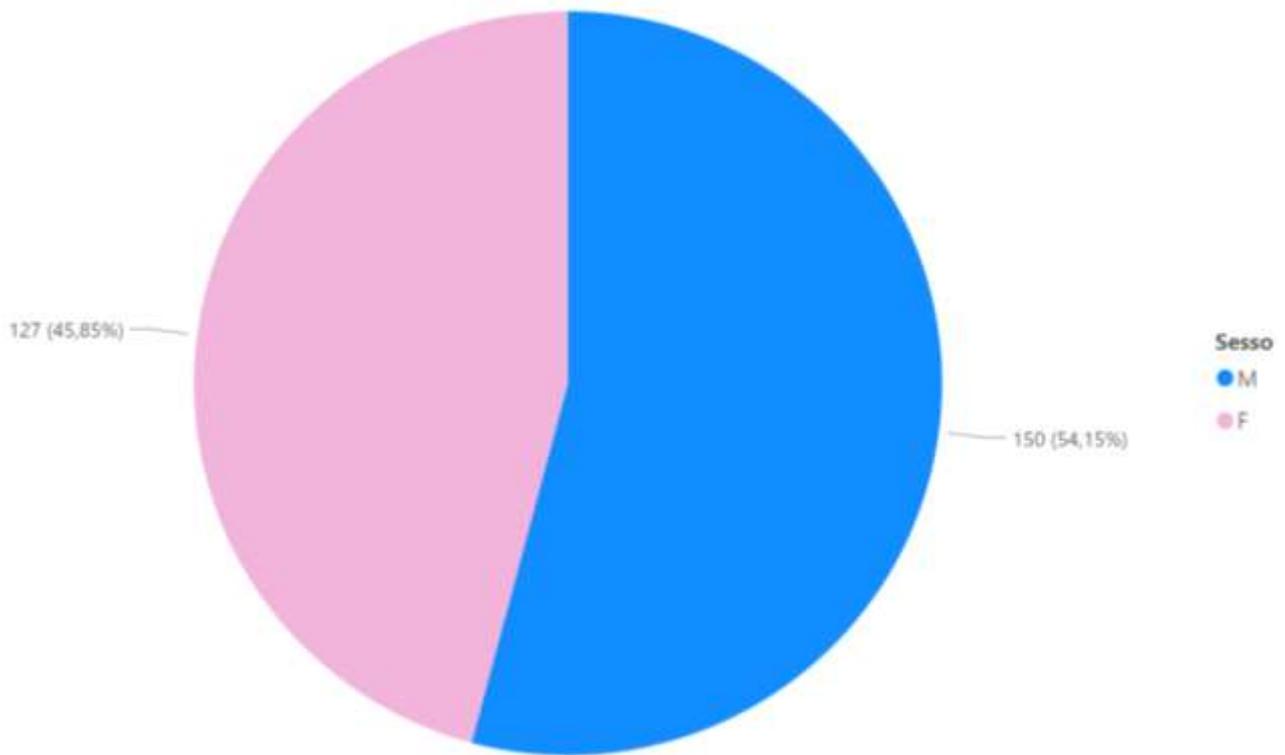
	Totale, n= 277
Genere	
M	150 (54.2%)
F	127 (45.8%)
Età	
Media	50
Mediana (range)	52 (18-73)
Malattia di base	
LMA/MDS	150 (54.2)
Linfoproliferative acute (LLA)	58 (20.9%)
Linfoproliferative croniche (LNH, HD, MM, CLL)	34 (12.3%)
MF	32 (11.6%)

SAA	3 (1.1%)
Donatore	
HLA-id	44 (15.9%)
MUD	29 (10.5%)
CBT	1 (0.4%)
Haplo	203 (73.3%)
PCT disponibile	244 (88.1%)
PCT max	
Media	15
Mediana (range)	2.1 (0.1-375)
BSI	111 (40.1%)
Giorno BSI, mediana (range)	9 (-7, 28)

I pazienti inseriti nello studio sono in totale 273. Tra questi, una donna ha subito 3 trapianti di cellule staminali ematopoietiche durante il periodo dello studio, mentre un uomo ed un'altra donna ne hanno subiti 2, per un totale di 277 trapianti di cellule staminali ematopoietiche. I pazienti che hanno subito più di un trapianto di cellule staminali ematopoietiche nel periodo 2016-2019 sono stati considerati come pazienti diversi per ogni trapianto.

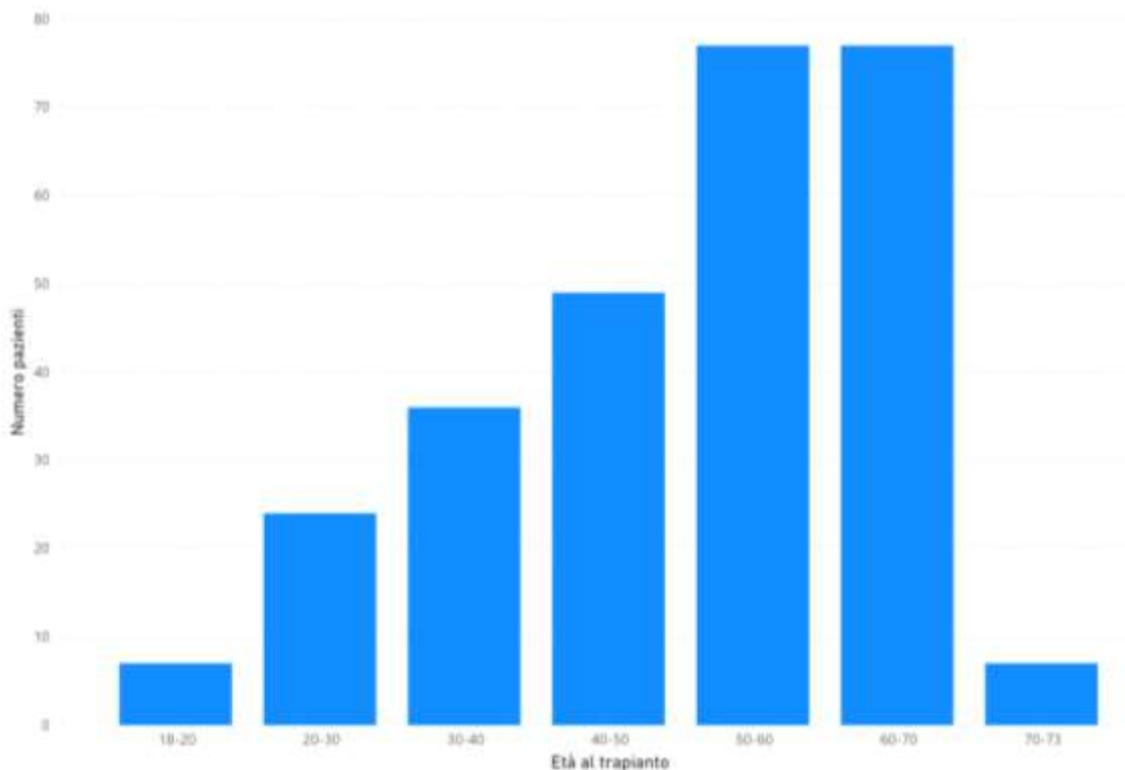
Erano presenti pazienti per la maggior parte di sesso maschile.

Figura 1. Suddivisione dei pazienti per sesso



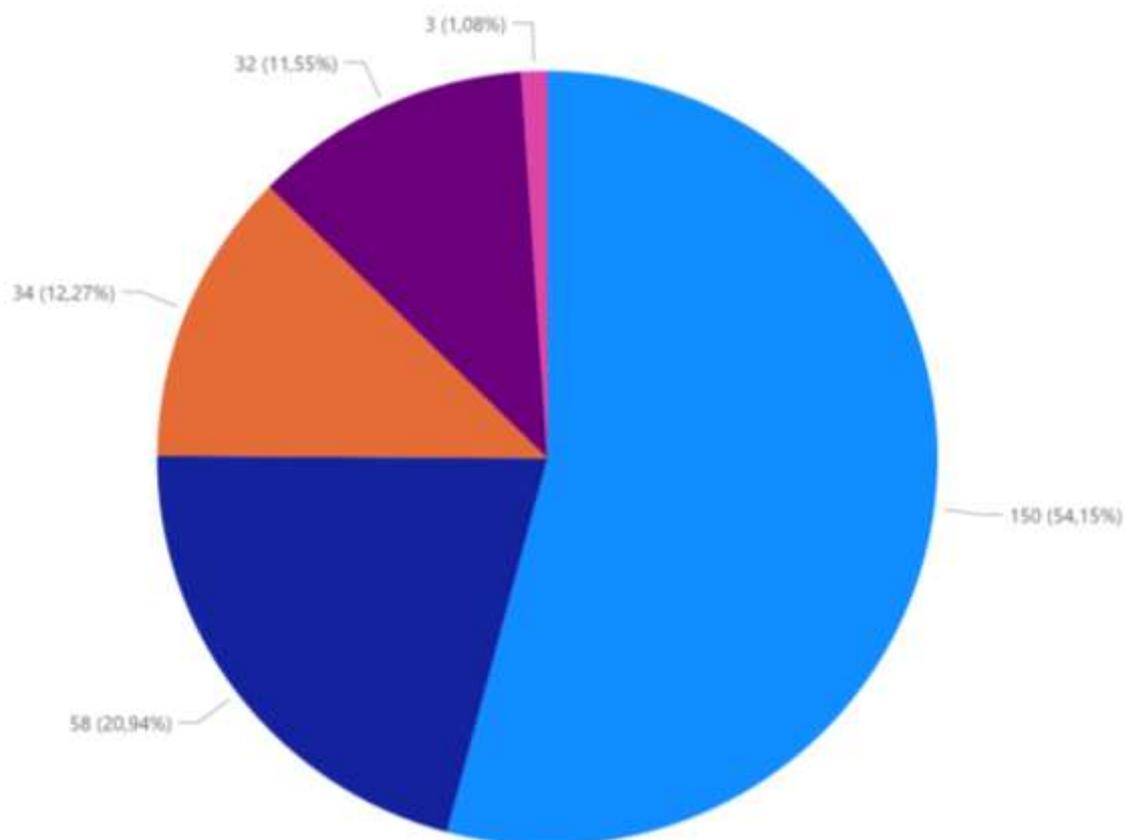
I pazienti considerati nello studio avevano un'età compresa tra i 18 (paziente più giovane) e i 73 anni (paziente più anziano) e, per fasce d'età, erano suddivisi come riportato nel figura 2.

Figura 2. Pazienti suddivisi per fasce d'età



I pazienti inclusi nello studio hanno subito un trapianto di cellule staminali ematopoietiche per trattare una patologia ematologica, la maggior parte di essi presentava leucemia mieloide acuta o sindrome mielodisplastica (54.2%), la restante parte dei pazienti poteva presentare una patologia linfoproliferativa acuta (LLA) (20.9%), oppure una patologia linfoproliferativa cronica (12.3%) tra cui linfoma non Hodgkin, malattia di Hodgkin, mieloma multiplo e leucemia linfoide cronica, oppure mielofibrosi (11.6%), ed una minima parte dei pazienti presentava anemia aplastica severa (1.1%).

Figura 3. Malattia di base

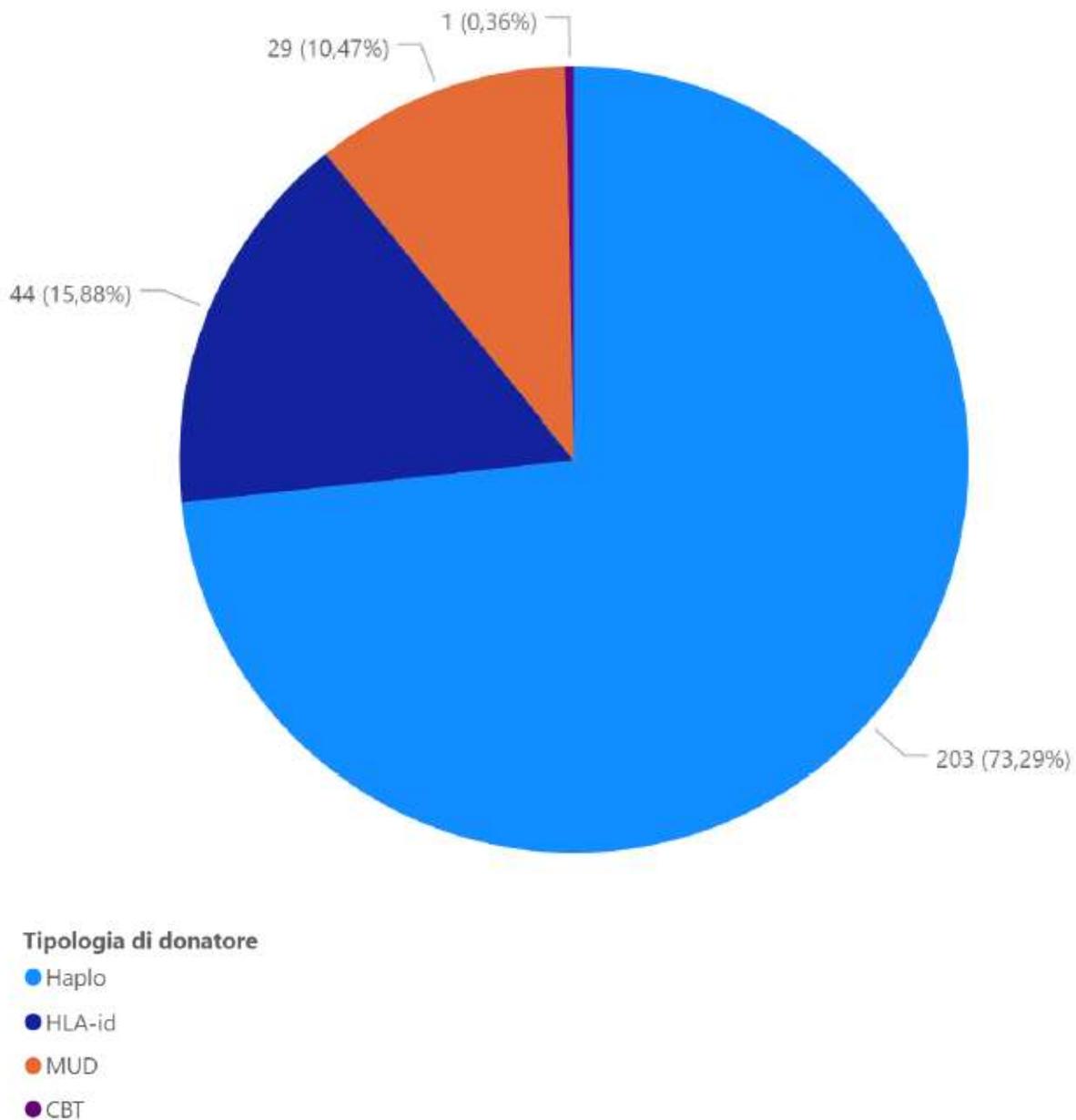


Malattia di base

- LMA/MDS
- Linfoproliferative acute (LLA)
- Linfoproliferative croniche (LNH, HD, MM, CLL)
- MF
- SAA

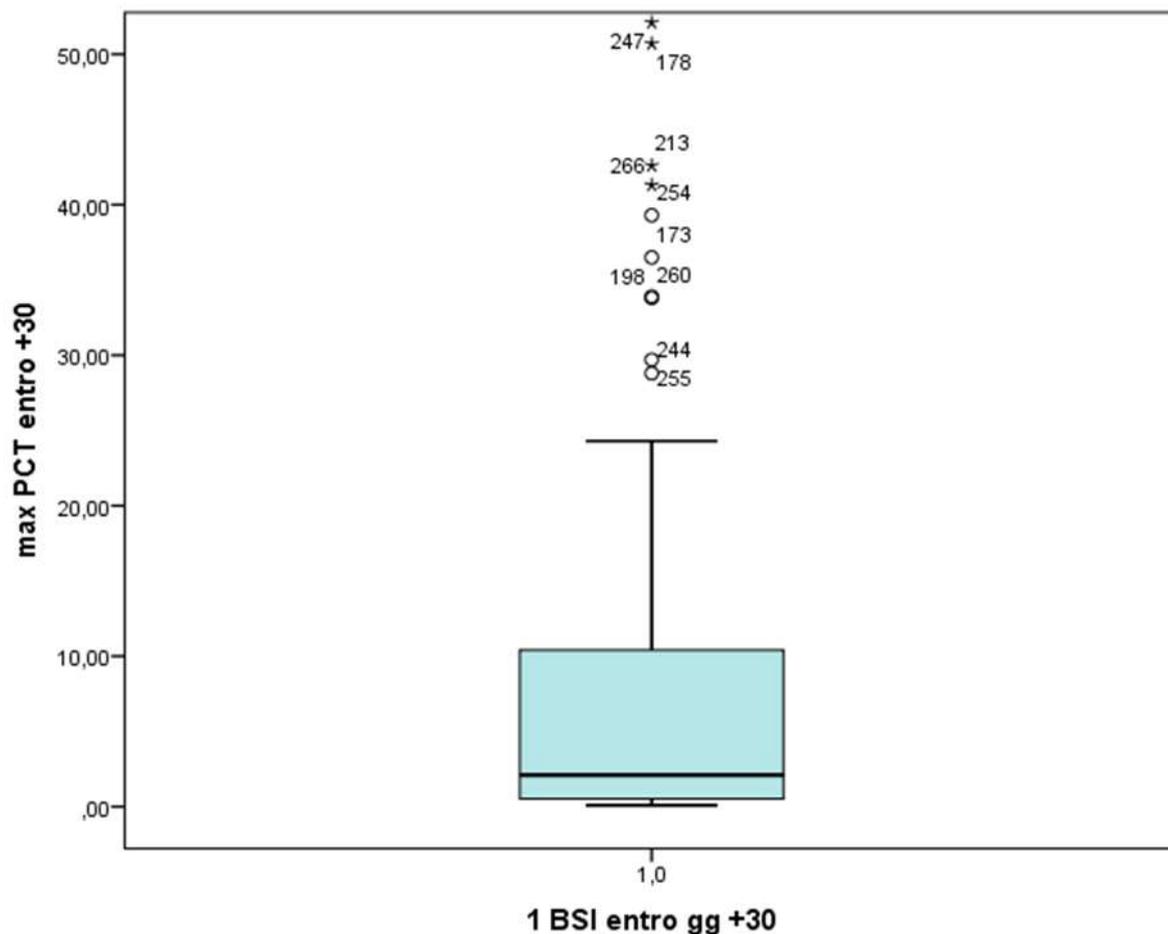
Per quanto riguarda la tipologia di donatore, il 73.3% dei pazienti ha subito un trapianto di cellule da donatore aploidentico (trapianto da donatore familiare solo parzialmente compatibile), il 15.9% da donatore HLA identico, il 10.5% da donatore compatibile non familiare (Matched Unrelated Donor) ed un solo paziente ha subito un trapianto di cellule ricavate da sangue di cordone ombelicale non correlato.

Figura 4. Tipologia di donatore di midollo osseo



Livelli di procalcitonina massima nei pazienti inclusi nello studio

Figura 5. Boxplot livelli di PCT massima dal giorno -7 al +30 dal trapianto.



I valori di procalcitonina rappresentati nel boxplot sono 244 e sono i livelli di procalcitonina massima per ogni paziente ricavati dai prelievi effettuati da 7 giorni prima del trapianto a 30 giorni dopo (periodo pre-attecchiamento). Il valore mediano è di 2.1 ng/ml e, come è possibile valutare dalla rappresentazione grafica, i valori di PCT massima spaziano da valori molto bassi (0.1 ng/ml) a valori molto alti (375 ng/ml).

Emocolture e batteri rilevati

Su 277 trapianti di cellule staminali ematopoietiche, nel periodo a partire da 7 giorni prima del trapianto di cellule staminali ematopoietiche (ovvero il giorno in cui viene effettuato il condizionamento) fino ad arrivare a 30 giorni dopo il trapianto (quando dovrebbe essere avvenuto l'attecchimento delle cellule staminali ematopoietiche del donatore), in 111 casi i pazienti hanno avuto un primo episodio di neutropenia febbrile con infezione del torrente ematico (definita secondo i criteri illustrati nel capitolo "Materiali e metodi"), ovvero c'è stata una prima infezione del torrente ematico nel 40% dei casi di trapianto di cellule staminali considerati. Tali infezioni del torrente ematico possono essere suddivise a seconda dei germi responsabili, raggruppati a loro volta in germi positivi alla colorazione di Gram e negativi alla colorazione di Gram. In particolare circa il 36% dei soggetti con BSI hanno avuto una BSI da Gram-negativi, ciò corrisponde ai dati presenti in letteratura che indicano sempre una percentuale variabile tra il 30 ed il 40% di infezioni dovute a Gram-negativi.

Tabella 2. Distribuzione dei tipi di germe presente nelle prime emocolture positive

62 emocolture positive per ceppi batterici Gram +	41 (36% del totale dei pazienti) emocolture positive per ceppi batterici Gram-	7 Infezioni polimicrobiche	1 Emocoltura positive per funghi
30 Stafilococchi coagulasi negativi (8 S Haemolyticus, 16 S. Epidermidis, 1 polimicrobica Haemolyticus + Epidemidis + Mitis/Oralis), 1 Hominis, 4 Hominis spp Novobiosepticus	23 E. Coli	2 Streptococcus mitis/oralis, Escherichia Coli	1 Candida Albicans e Miceti lievitiiformi
13 Enterococcus (11 Faecium e 2 Faecalis)	7 Klebsiella Pneumoniae	1 Klebsiella Pneumoniae e Burkholderia Cepacia group	
5 Streptococcus Mitis/Oralis	5 Pseudomonas Aeruginosa	1 Streptococcus mitis/oralis, Escherichia Coli e Enterococcus Faecalis	
4 Streptococcus mitis	1 Pseudomonas Pseudoalcaligenis	1 Klebsiella Pneumoniae e Staphylococcus Epidermidis	
3 Staphylococcus Aureus (forse uno da togliere!!!)	1 Stenotrophomonas Maltophilia	1 Lactobacillus Rhamnosus E Acinetobacter Lwofii	
3 Corynebacterium	1 Campylobacter Jejuni	1 Staphylococcus	

Patogeno 1 BSI

- ESCHERICHIA COLI
- STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS
- ENTEROCOCCUS FAECIUM
- STREPTOCOCCUS MITIS
- STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS
- KLEBSIELLA PNEUMONIAE
- PSEUDOMONAS AERUGINOSA
- STAPHYLOCOCCUS HOMINIS
- STAPHYLOCOCCUS AUREUS
- ENTEROCOCCUS FAECALIS
- STREPTOCOCCUS MITIS/STREPTOCOCCUS ORALIS ed ESC...
- ENTEROCOCCUS FAECIUM
- CAMPYLOBACTER JEJUNI
- CANDIDA ALBICANS e MICETI LIEVITIFORMI
- CORYNEBACTERIUM JEIKEIUM (GRUPPO JK)
- CORYNEBACTERIUM SPECIES
- COYNEBACTERIUM PSEUDODIPHATHERITICUM
- GEMELLA SANGUINIS
- HAEMOPHILUS PARAINFLUENZAE
- KLEBSIELLA PNEUMONIAE e BURKHOLDERIA CEPACIA GR...
- KLEBSIELLA PNEUMONIAE e STAPHYLOCOCCUS EPIDERMI...
- LACTOBACILLUS RHAMNOSUS e ACINETOBACTER LWOFII
- MICROCOCCUS LUTEUS
- PSEUDOMONAS PSEUDOALCALIGENES
- RALSTONIA PICKETTII

- ROSEOMONAS GILARDII
- ROTHIA MUCILAGINOSA
- STAPHYLOCOCCUS AUREUS e E. coli
- STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS, STREPTOCOCCUS MI...
- STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA
- STREPTOCOCCUS MITIS/STREPTOCOCCUS ORALIS, ESCHE...
- STREPTOCOCCUS PORCINUS

Di questi pazienti, 24 hanno poi avuto anche una seconda infezione del torrente ematico, per la quale possiamo applicare la stessa suddivisione dei germi responsabili della prima infezione del torrente ematico.

Tabella 3. Distribuzione dei tipi di germe presente nelle seconde emocolture positive

13 emocolture positive per batteri Gram +	7 emocolture positive per batteri Gram-	3 Infezioni polimicrobiche	1 emocoltura positiva per funghi
7 Staphylococchi coagulasi negativi	4 Escherichia Coli	1 Enterococcus Faecium e Stenotrophomonas Maltophilia	1 caso di Candida Krusei e miceti lievitriformi
3 Enterococcus Faecium	2 Klebsiella Pneumoniae	1 Enterococcus Faecium e Staphylococcus Hominis ssp Novobiosepticus	
1 Rothia Mucilaginosa	1 Stenotrophomonas Maltophilia	1 Staphylococcus Epidermidis e Enterococcus Faecalis	
1 Corynebacterium Jeikeium (gruppo JK)			
1 Lactobacillus Species			

Figure 10 e 11. Tipi di germe responsabili della seconda infezione del torrente circolatorio.

Figura 10.



Figura 11.



Tra i pazienti che hanno avuto una seconda BSI durante lo studio troviamo 15 uomini e 9 donne. I patogeni che hanno causato infezione negli uomini e nelle donne possono essere suddivisi come nelle figure 12 e 13 rispettivamente.

Figura 12. Patogeni coinvolti nella seconda BSI negli uomini

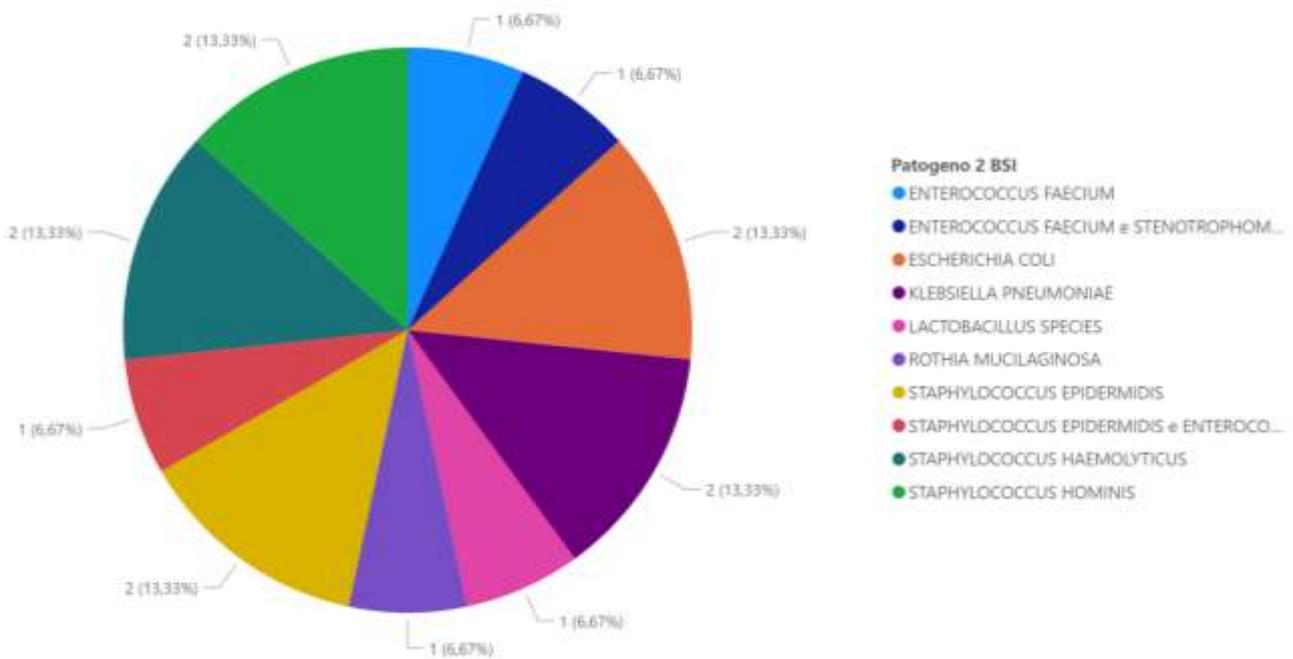
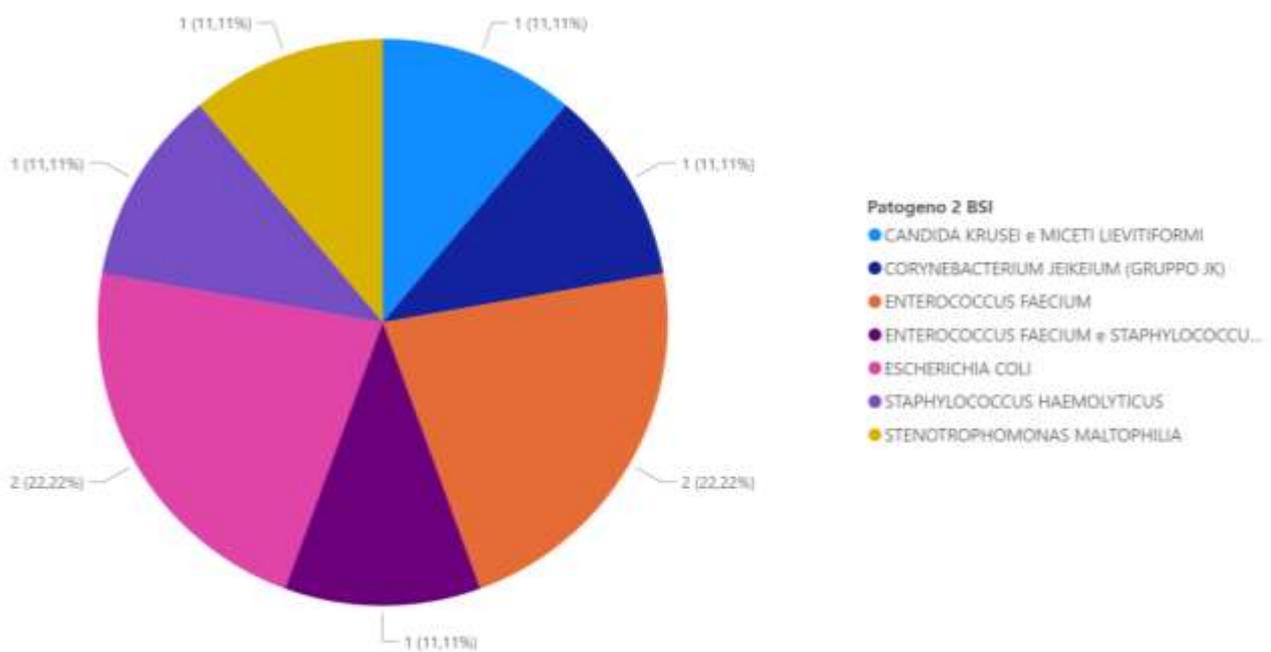


Figura 13. Patogeni coinvolti nella seconda BSI negli uomini

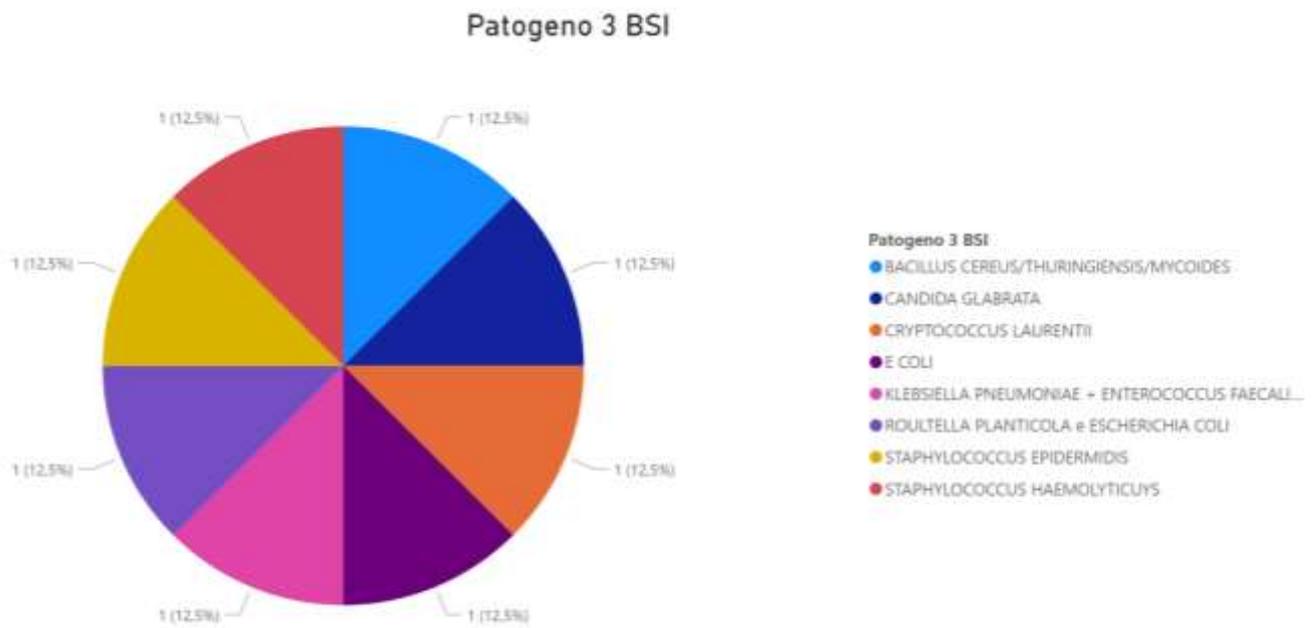


Tra i 24 pazienti precedentemente presi in considerazione, 8 hanno avuto una terza infezione del torrente ematico.

Tabella 4. Distribuzione dei tipi di germe presente nelle terze emocolture positive

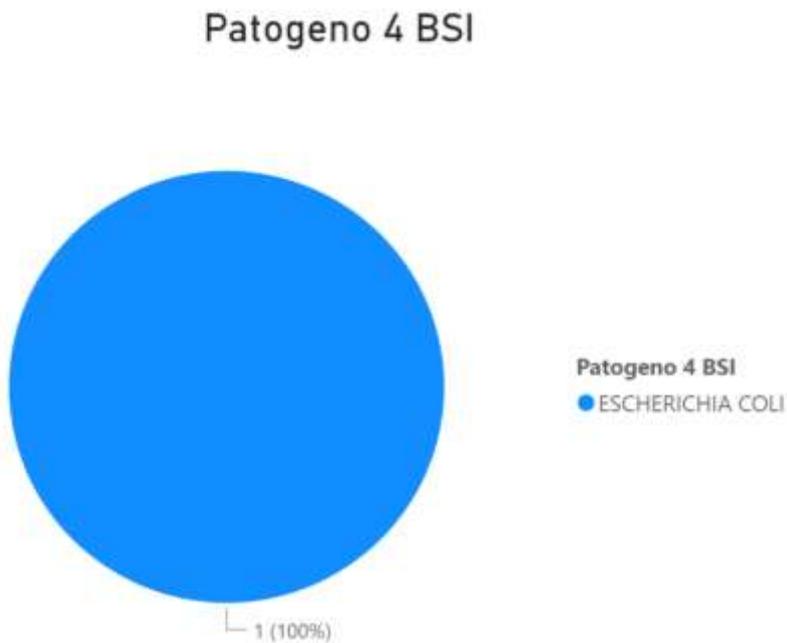
3 casi di BSI da Gram +	1 emocoltura positiva per Gram -	2 infezioni polimicrobiche	1 emocoltura positive per funghi	1 emocoltura positiva per un germe Gram variabile
2 Stafilococchi coagulasi negativi (1 Staphilococcus Haemolyticus e 1 Staphylococcus Epidermidis)	1 E coli	1 Roulotella Planticola E Escherichia Coli	1 Candida glabrata	1 caso di Bacillus Cereus/Thuringiensis/Mycoides
1 Cryptococcus Laurentii		1 Klebsiella Pneumoniae + Enterococcus Faecalis + Candida Sphaerica + Candida Krusei E Miceti Lievitiformi		

Figura 14. Tipi di germe responsabili della terza infezione del torrente circolatorio.



Un paziente ha inoltre avuto una quarta BSI, sostenuta da E. Coli (Gram-negativo).

Figura 15. Tipi di germe responsabili della quarta infezione del torrente circolatorio.



Il totale degli episodi di BSI nel periodo post-induzione e pre-attecchimento è stato di 144 episodi.

Caratteristiche dei pazienti che hanno sviluppato la batteriemia rispetto ai pazienti che non hanno avuto nessuna BSI

Tabella 5. Caratteristiche dei pazienti che hanno sviluppato batteriemia versus caratteristiche dei pazienti che non hanno sviluppato batteriemia

	BSI	No BSI	p
Genere			0.229
M	65 (43.3%)	85 (56.7%)	
F	46 (36.2%)	81 (63.8%)	
Età, mediana	52 (19-72)	53 (18-73)	0.404
Diagnosi			0.043
LMA/MDS/LLA	88 (42.3)	120 (57.7%)	
Linfoproliferative croniche	7 (20.6%)	27 (79.4%)	
MFI/SAA	16 (45.7%)	19 (54.3%)	
Data di HSCT			0,207
PCT disponibile	97 (87.4)	147 (88.6%)	0.769

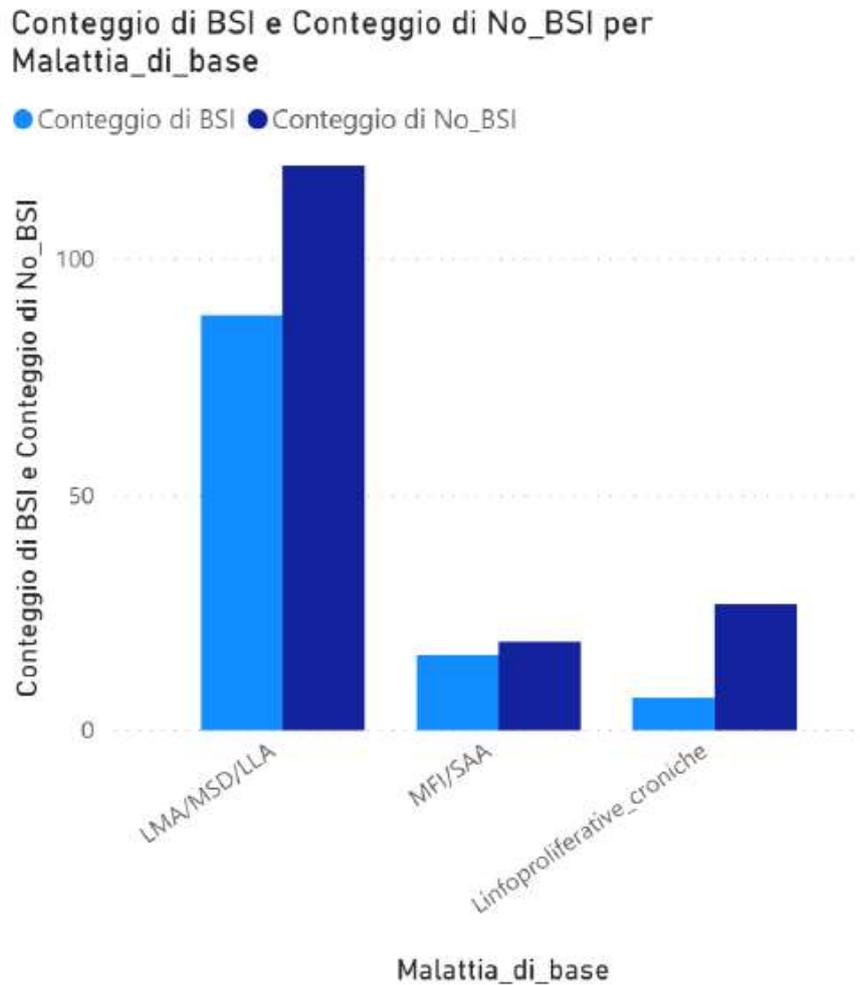
PCT > 5			<0.0001
No	72 (35.3%)	132 (64.7%)	
Si	37 (72.5%)	14 (27.5%)	
PCT > 10			<0.0001
No	83 (37.7%)	137 (62.3%)	
Si	26 (74.3)	9 (25.7)	
PCT al momento BSI o max			<0.0001
Media (95% IC)	8,02 (4.12-11.9)	2.27 (1.3-3.2)	
Mediana	0,78 (0,3-122)	0.5 (0.03-42)	

All'incirca il 40% dei pazienti considerati ha presentato almeno una BSI durante il periodo di studio.

Non vi è una differenza significativa di età mediana tra pazienti che hanno sviluppato BSI e quelli che non l'hanno sviluppata.

Per quanto riguarda la patologia di base dei pazienti inseriti nello studio, si può notare come ci sia una distribuzione abbastanza omogenea per quanto riguarda leucemia mieloide acuta, sindromi mielodisplastiche, leucemia linfocitica acuta, mielofibrosi e anemia aplastica severa, mentre non si può dire lo stesso per pazienti che avevano patologie linfoproliferative croniche, tra i quali troviamo una percentuale di BSI molto più bassa (20.6%) rispetto ai pazienti con altre patologie (p=0.043).

Figura 16. Suddivisione per malattia di base dei pazienti che sviluppato avuto BSI e di quelli che non l'hanno sviluppata



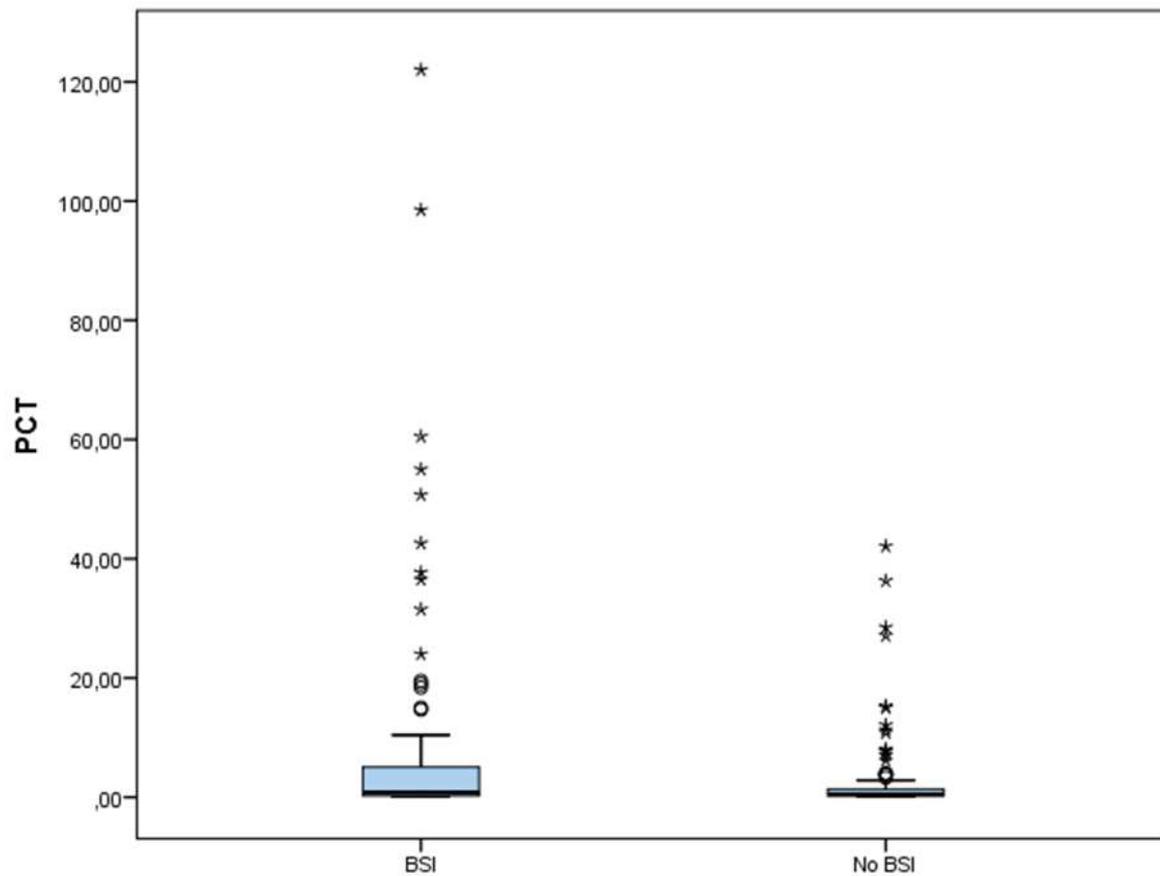
I valori di PCT rilevati tra i pazienti con BSI sono significativamente più alti rispetto a quelli senza BSI. In particolare, tra i pazienti che avevano PCT >5, quelli con BSI sono in maniera statisticamente significativa ($p < 0.0001$) molti di più (72.5%) rispetto a quelli senza BSI (27.5%). E questo divario si acuisce leggermente se si consideravano i pazienti con PCT >10. Viceversa, tra i pazienti con PCT <10 e ancora di più tra quelli con PCT <5, troviamo che risultano prevalenti i pazienti che non hanno presentato BSI (rispettivamente 62.3% e 64.7%) rispetto a quelli che hanno avuto BSI (rispettivamente 37.7% e 35.3%) ($p < 0.0001$).

Allo stesso modo, confrontando i valori medio e mediano di PCT, si nota che sono più elevati in soggetti con BSI (8,02 ng/mL e 0,78 ng/mL) rispetto che in soggetti che non hanno avuto BSI (2,27 ng/mL vs 0,5 ng/mL) ($p < 0.0001$).

ANALISI STATISTICA DI CONFRONTO TRA PAZIENTI CON BSI DA GRAM-NEGATIVI, DA GRAM-POSITIVI E SENZA BSI

I livelli basali di PCT sono stati comparati tra pazienti con BSI e quelli che non avessero infezione documentata da emocoltura.

Figura 17. Boxplot di confronto tra valori di PCT in pazienti con BSI e in pazienti senza BSI



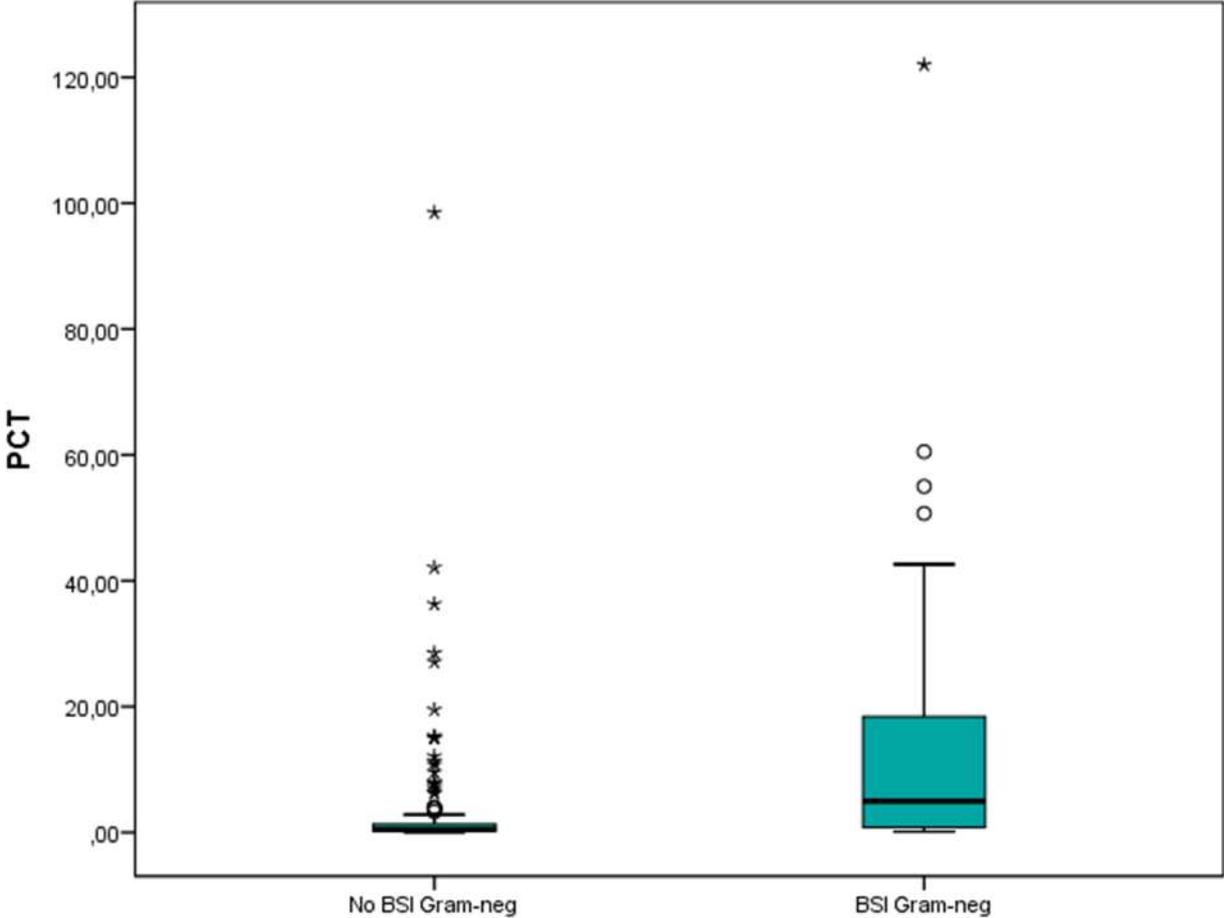
P=0.017

È stata fatta poi una comparazione tra pazienti con BSI sostenuta da batteri Gram-negativi e pazienti che non avevano avuto BSI o avevano avuto BSI da Gram-positivi. I pazienti con BSI da Gram-negativi avevano valori medio e mediano di PCT superiori rispetto ai pazienti senza BSI o con BSI da patogeni Gram-positivi come riportato in tabella 6.

Tabella 6. Gram-negativi versus assenza di BSI o Gram-positivi

	Gram-negativi	No BSI o Gram-positivi	p
Media	14.6, 95%IC 7.0-22.2	2.5, 95%IC 1.3-3.7	
Mediana	4.96 (0.11-122)	0.45 (0.03-98)	
			<0.0001

Figura 18. Boxplot di confronto tra valori di PCT in pazienti senza BSI, con BSI da Gram-negativi e BSI da Gram-positivi



$p < 0.0001$

Successivamente sono stati confrontati i valori di PCT di vari gruppi di pazienti, in particolare sono stati analizzati i valori di mediana di soggetti che non avevano subito BSI, di pazienti che avevano avuto BSI da Gram-negativi e di quelli che avevano avuto BSI da Gram-positivi.

Figura 19. Boxplot di confronto tra valori di PCT in pazienti senza BSI vs Gram-positivi vs Gram-negativi

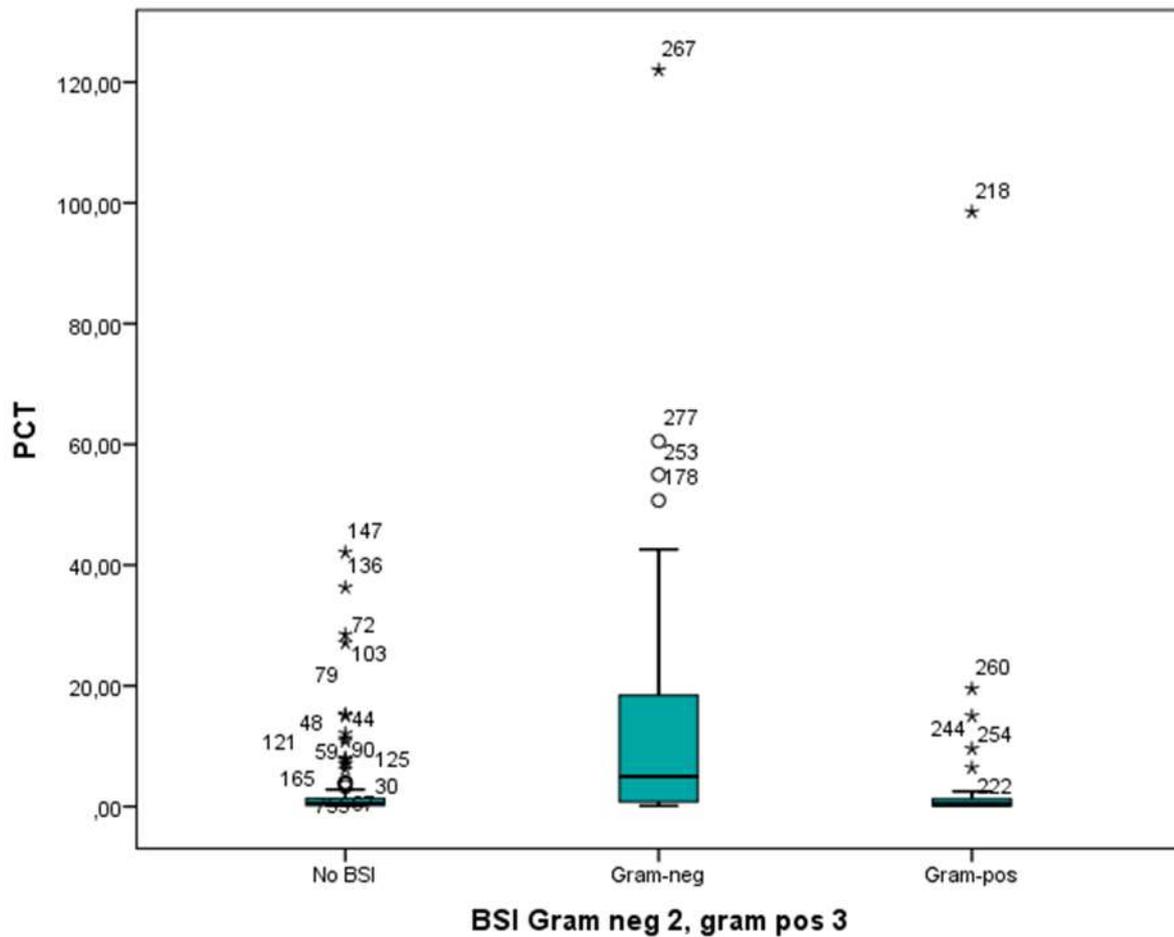
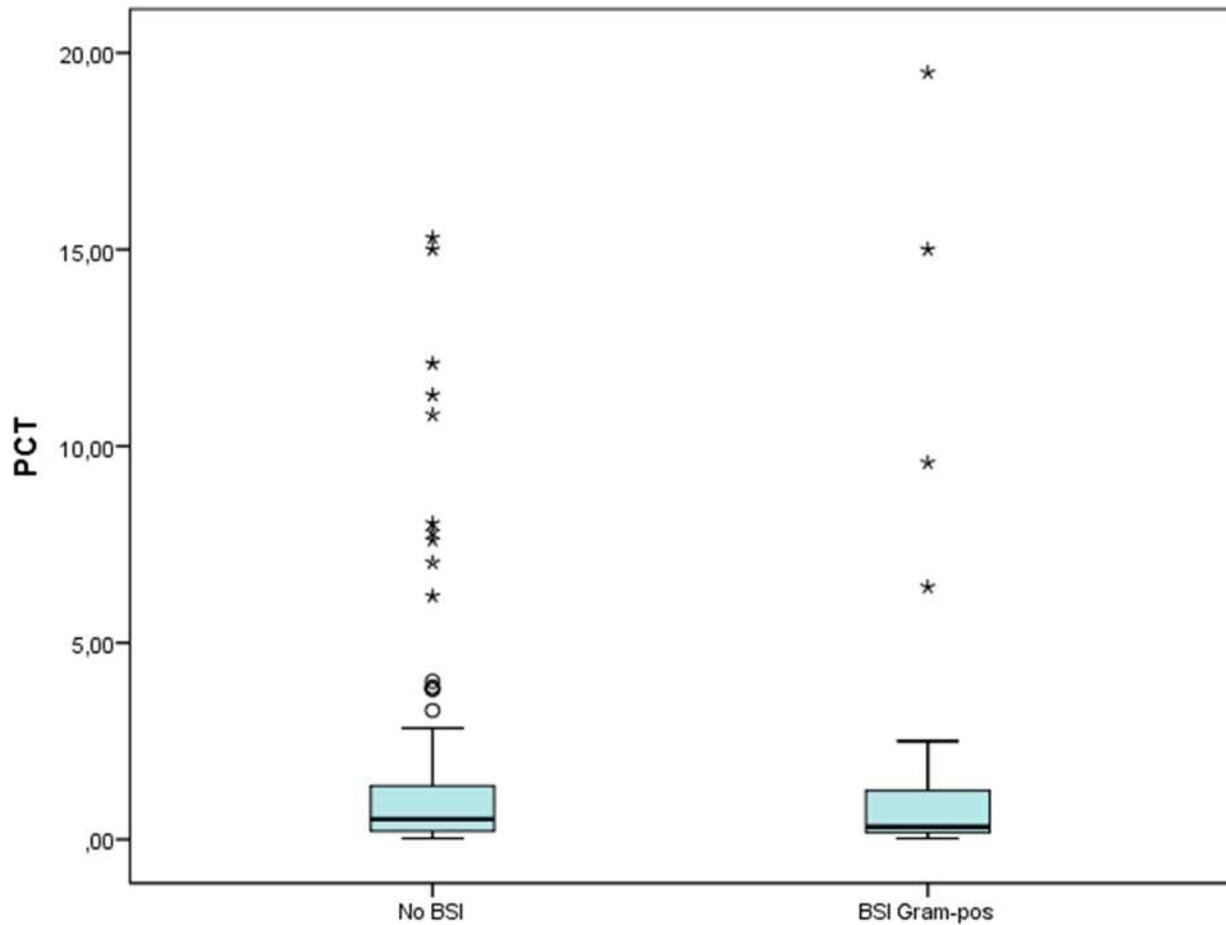


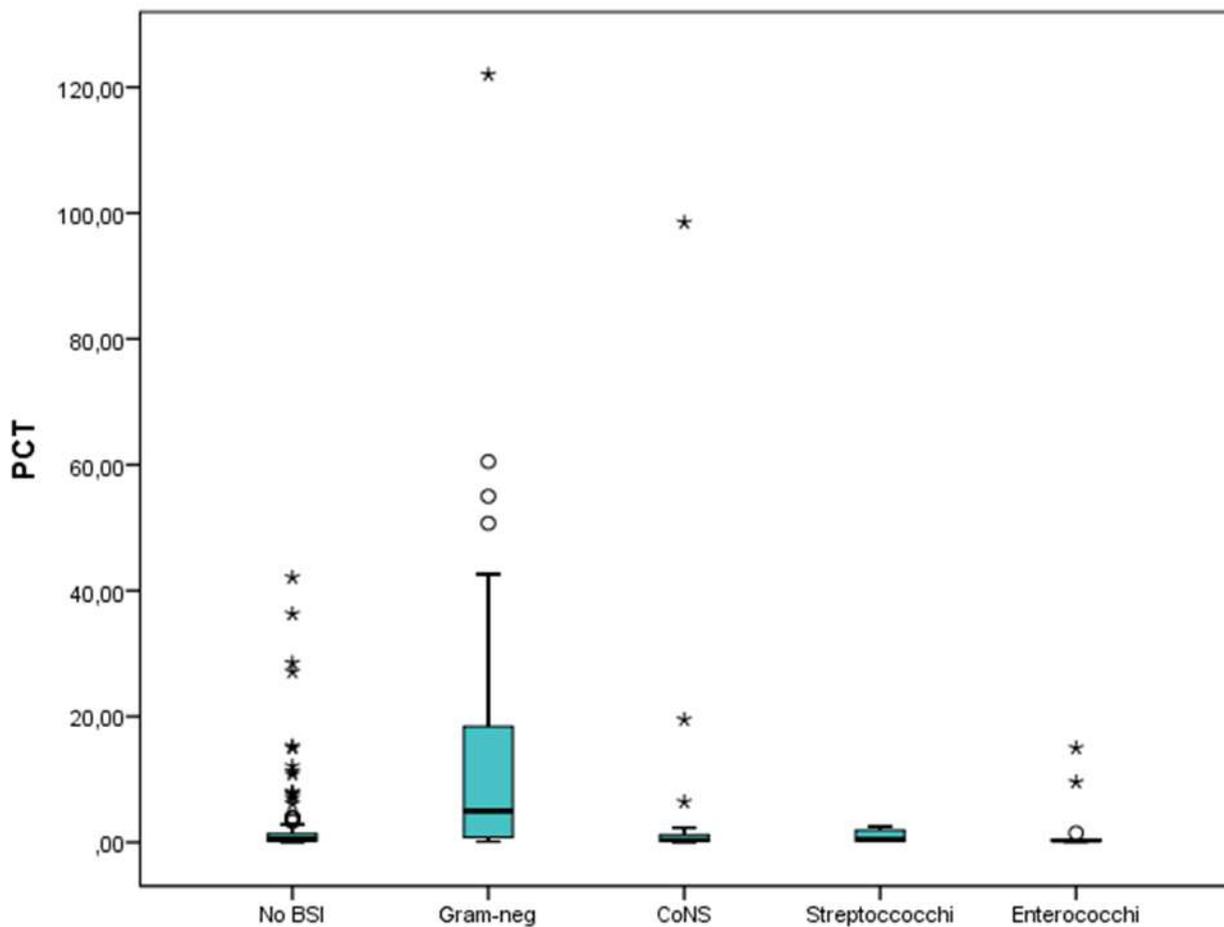
Figura 20. Boxplot di confronto dei valori di PCT tra pazienti che non hanno avuto BSI e pazienti che hanno avuto BSI



La differenza dei valori di PCT di chi non ha avuto BSI e chi ha avuto BSI da Gram-positivi ha $p=0.255$, ovvero non è statisticamente significativa.

Poi sono stati analizzati gruppi di pazienti che non avevano avuto alcuna BSI, o che avevano avuto infezioni da Gram-negativi, o da Stafilococchi Coagulasi Negativi, o Streptococchi, o Enterococchi. Questa analisi ha mostrato che c'era una differenza statisticamente significativa tra i valori di PCT in soggetti con BSI da batteri Gram-negativi e i restanti gruppi di pazienti, anche presi singolarmente, come mostrato nel figura 21.

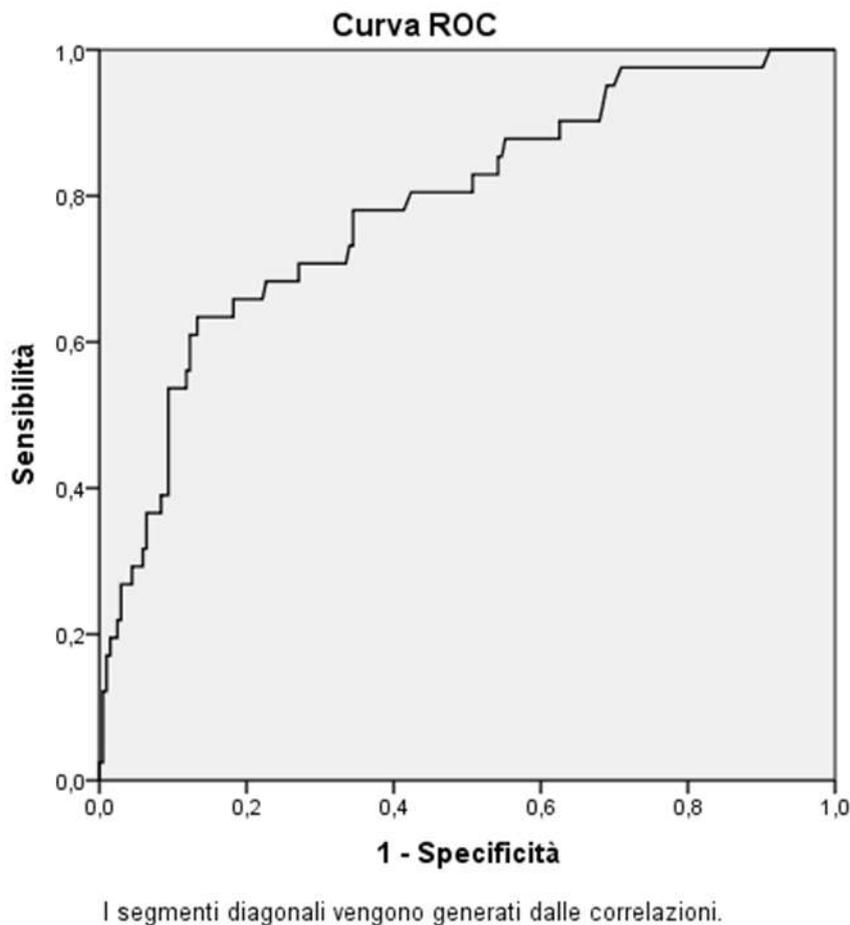
Figura 21. Boxplot di confronto tra pazienti che non avevano avuto alcuna BSI, o che avevano avuto infezioni da Gram-negativi, o da Stafilococchi Coagulasi Negativi, o Streptococchi, o Enterococchi



$p < 0.0001$

Successivamente abbiamo valutato la performance dei valori della PCT come metodo diagnostico per un'infezione del torrente circolatorio. Sulla base della curva ROC (receiver operating characteristic) in figura 22 sono stati valutati vari cut-off di PCT nella popolazione di studio. In particolare sono stati valutati i valori 1, 2, 3, 5, 10, e 20, che presentano rispettivamente una sensibilità di 70.7%, 63.4%, 53.7%, 48.8%, 29.3% e 22% ed una specificità di 70.4%, 82.8%, 88.2%, 90.6%, 94.1%, 97.5%. L'area sotto la curva era di 0,784.

Figura 22. Curva ROC per PCT nella popolazione dello studio per BSI da Gram-negativi



Area sotto la curva

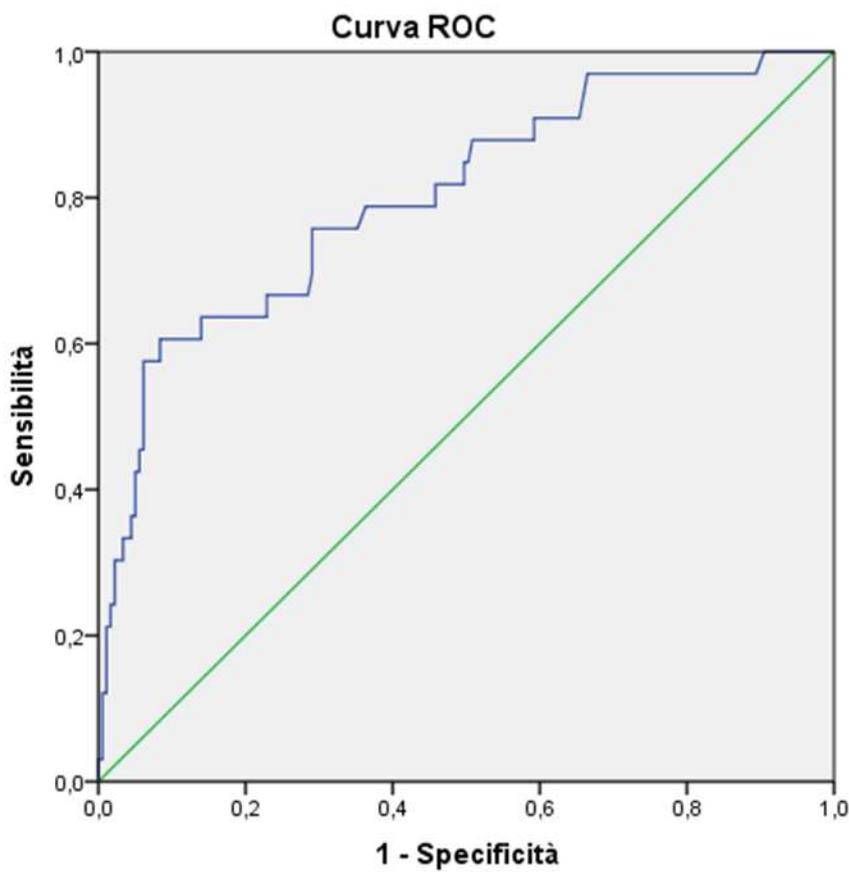
Variabile/i del risultato del test: PCT_EP1

			Intervallo di confidenza asintotica 95%	
Ad area	Errore std ^a	Sign. asintotica ^b	Limite inferiore	Limite superiore

,784	,041	,000	,704	,864
------	------	------	------	------

Successivamente sono stati analizzati separatamente i pazienti che avevano subito BSI, ma non erano stati sottoposti a terapia con siero antilinfocitario (ATG o immunoglobuline anti-timocitiche), perché è noto che tale terapia è correlata ad un aumento dei livelli di PCT nel sangue.

Figura 23. Curva ROC per PCT nella popolazione dello studio, esclusi i pazienti che erano stati sottoposti a terapia con siero antilinfocitario (ATG)



I segmenti diagonali vengono generati dalle correlazioni.

Area sotto la curva

Variabile/i del risultato del test: PCT_EP1

Ad area
,802

Popolazione	Cut-off PCT	Sensibilità	Specificità
Totale			
	1	70.7%	70.4%
	2	63.4%	82.8%
	3	53.7	88.2
	5	48.8	90.6
	10	29.3	94.1
	20	22%	97.5
Esclusi pazienti che hanno ricevuto ATG			
	1	66.7%	76%
	2	60.6%	87.6%
	3	57.6%	92.2%
	5	51.5	93.9
	10	36.4	95.5
	20	24.2%	97.8

Tabella. Performance dei diversi livelli di PCT per la diagnosi di BSI da Gram-negativi

Coorte	Prevalenza (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	PPV (%)	NPV (%)	Accuracy (%)
Tutti i pazienti con PCT > 10	16,33	31,71 (18-08-48,09)	93,33 (89,07-96,31)	48,15 (32,06-64,62)	87,50 (85-89,64)	83,27 (78,06-87,67)
Tutti i pazienti con PCT > 5	16,33	48,78 (32,88-64,87)	90,95 (86,23-94,46)	51,28 (38,23-64,17)	90,09 (87,06-92,48)	84,06 (78,94-88,36)
Tutti i pazienti con PCT > 2	16,33	63,41 (46,94-77,88)	82,38 (76,54-87,28)	41,27 (32,60-50,52)	92,28 (73,74-84,12)	79,28 (73,74-84,12)
Pazienti con BSI con PCT 2	42%	68 (53-81)	75 (63-85)	66 (55-76)	76 (67-83)	

Questa tabella è stata creata categorizzando i pazienti per sepsi da Gram-negativi con PCT >10, >5 e >2 durante sepsi o in qualsiasi momento.

I valori sono stati calcolati utilizzando i numeri crudi dei dati.

	PCT >10	PCT >5	PCT >2
Numeri crudi			
Veri positivi (TP)	13	20	26
Falsi negativi (FN)	28	21	15

Falsi positivi (FP)	14		19		37	
Veri negativi (TN)	196		191		173	
Risultati		95% IC		95% IC		95% IC
Sensibilità	31.71%	18.08% to 48.09%	48.78%	32.88% to 64.87%	63.41%	46.94% to 77.88%
Specificità	93.33%	89.07% to 96.31%	90.95%	86.23% to 94.46%	82.38%	76.54% to 87.28%
Rapporto di verosimiglianza positivo	4.76	2.42 to 9.36	5.39	3.17 to 9.17	3.60	2.48 to 5.23
Rapport di verosimiglianza negativo	0.73	0.59 to 0.90	0.56	0.42 to 0.76	0.44	0.30 to 0.67
Prevalenza	16.33%	11.98% to 21.50%	16.33%	11.98% to 21.50%	16.33%	11.98% to 21.50%
Valore predittivo positivo	48.15%	32.06% to 64.62%	51.28%	38.23% to 64.17%	41.27%	32.60% to 50.52%
Valore predittivo negativo	87.50%	85.00% to 89.64%	90.09%	87.06% to 92.48%	92.02%	88.47% to 94.55%
Accuratezza	83.27%	78.06% to 87.67%	84.06%	78.94% to 88.36%	79.28%	73.74% to 84.12%

Definizioni:

- Sensibilità = probabilità che il test sia positivo se il soggetto è malato = tasso di veri positivi = $\frac{\text{veri positivi}}{\text{veri positivi} + \text{falsi negativi}}$.
- Specificità = probabilità che il test sia negativo se il soggetto è sano = tasso dei veri negativi = $\frac{\text{veri negativi}}{\text{veri negativi} + \text{falsi positivi}}$.
- Rapporto di verosimiglianza positivo = rapporto tra la probabilità che un test sia positivo data la presenza di patologia e la probabilità che un test sia positivo data l'assenza di malattia = $\frac{\text{tasso dei veri positivi}}{\text{tasso dei falsi positivi}} = \frac{\text{sensibilità}}{(1-\text{specificità})}$.
- Rapporto di verosimiglianza negativo = rapporto tra la probabilità che un test sia negativo data la presenza di malattia e la probabilità che un test sia negativo data l'assenza di malattia = $\frac{\text{tasso dei falsi negativi}}{\text{tasso dei veri negativi}} = \frac{(1-\text{sensibilità})}{\text{specificità}}$.
- Valore predittivo positivo = probabilità che la patologia sia presente quando il test è positivo = $\text{PPV} = \frac{\text{sensibilità} \times \text{prevalenza}}{[\text{sensibilità} \times \text{prevalenza} + (1-\text{specificità}) \times (1-\text{prevalenza})]}$.
- Valore predittivo negativo = probabilità che la patologia non sia presente quando il test è negativo = $\text{NPV} = \frac{[\text{specificità} \times (1-\text{prevalenza})]}{[(1-\text{sensibilità}) \times \text{prevalenza} + \text{specificità} \times (1-\text{prevalenza})]}$.
- Accuratezza = probabilità che un paziente sia correttamente classificato = $\text{sensibilità} \times \text{prevalenza} + \text{specificità} \times (1-\text{prevalenza})$.

DISCUSSIONE

I pazienti considerati nello studio si presentavano nella fase di pre-attecchimento del trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche. In questa fase, la neutropenia accresce la vulnerabilità dell'ospite alle infezioni del torrente ematico, che sono una complicanza severa e una causa importante di mortalità in pazienti ematologici con neutropenia febbrile. Una rapida ed accurata identificazione batterica nel corso delle infezioni del torrente ematico è fondamentale nella gestione di questi pazienti. La terapia antibiotica empirica dovrebbe essere iniziata immediatamente quando insorge la febbre, prima di ottenere l'identificazione dei batteri e la diagnosi di infezione del torrente ematico. Perciò sono necessari biomarkers affidabili prontamente utilizzabili per predire o escludere un'infezione del torrente ematico.

In questo studio, i principali risultati indicano che i valori medio e mediano di PCT sono significativamente più elevati per infezioni del torrente circolatorio sostenute da Gram-negativi rispetto a quelle sostenute da batteri Gram-positivi e rispetto ai valori dei pazienti che avevano un'emocoltura positiva per batteri contaminanti o emocolture negative. Tuttavia nessuno dei valori di cut-off della PCT analizzati può aiutare nel predire le infezioni del torrente circolatorio sostenute da batteri Gram-negativi con sensibilità e specificità adeguate, nonostante vi sia una differenza statisticamente significativa dei valori medi di PCT durante BSI sostenute da batteri Gram-negativi e BSI sostenute da batteri Gram-positivi e assenza di BSI.

Si può valutare tuttavia che i livelli di cut-off di PCT >10 , >5 , >2 presentano specificità rispettivamente di 93,3%, 90,1% e 82,4%. Gli stessi valori però presentano sensibilità troppo bassa per essere utilizzati per effettuare una diagnosi precoce di infezione del torrente ematico da batteri Gram-negativi, anche tenendo conto del fatto che i pazienti considerati presentano una conta neutrofilica diminuita a causa del condizionamento che viene effettuato prima del trapianto e raggiungeranno una conta >500 /microlitro solamente a 20-30 giorni dal trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

CONCLUSIONI

In conclusione, il nostro studio ha confermato che valori di PCT elevati sono più spesso correlati alla presenza di un'infezione del torrente circolatorio sostenuta da batteri Gram-negativi, rispetto a quelle sostenute da Gram-positivi e rispetto ai casi di febbre in cui non è presente BSI. Questo ci permette di suggerire che la PCT possa essere un marker per le BSIs da Gram-negativi in pazienti ematologici trapiantati con neutropenia febbrile, sebbene questo studio dimostri che non possa essere utilizzato il primo valore di PCT dosato dopo l'inizio dell'episodio di febbre, poiché non può essere stabilito un cut-off sufficientemente sensibile e specifico per distinguere con precisione l'eziologia dell'infezione. Inoltre, i dati hanno dimostrato che la PCT presenta anche una correlazione con infezioni da funghi, da contaminanti e casi di febbre con emocoltura negativa in pazienti ematologici trapiantati con neutropenia febbrile.

La pratica clinica comune nella gestione della neutropenia febbrile è basata sulla ricerca immediata di foci infettivi e l'inizio di una terapia antibiotica ad ampio spettro subito dopo aver prelevato i campioni per le colture. Successivamente la decisione di modificare o terminare la terapia antibiotica dipende dall'inquadramento, che richiede molto tempo. Questo significa che i pazienti possono rimanere sotto terapia antibiotica ad ampio spettro per molto tempo prima che i risultati delle colture permettano di cambiare la terapia antibiotica, ciò ha portato alla catastrofe a livello mondiale delle resistenze antibiotiche. Oltretutto le colture possono dare risultato negativo nel 40% dei pazienti con infezione del torrente ematico. Perciò, c'è la necessità di un test rapido che possa aiutare nel gestire una causa infettiva rapidamente ed un biomarker potrebbe essere molto utile come test di screening (ad esempio sarebbe utile un valore che, se negativo, confermi l'assenza di un certo tipo di infezione). Un buon test di screening presenta una buona sensibilità, per questo motivo l'analisi fatta ci porta a constatare che non si possa ad ora modificare la stewardship dei pazienti a causa di una bassa sensibilità del test. Tuttavia potrebbero essere fatti altri studi che vadano a verificare un'eventuale correlazione tra alcuni agenti eziologici e specifici valori di cut-off della PCT, magari prelevata in tempi e condizioni differenti da quelle considerate nel nostro studio o tenendo conto anche di altre variabili da noi non considerate, oppure potrebbero essere trovati algoritmi diagnostici o score che includano oltre ad altri parametri anche la determinazione della PCT per valutare il rischio di BSI da Gram-negativi durante il periodo pre-attecchimento post-alloHSCT.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio la professoressa Mikulska Malgorzata Karolina per avermi premesso di prendere parte allo studio riguardante “l'utilità della procalcitonina nella diagnosi di infezione del torrente ematico in pazienti con neutropenia post-trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche” ed avermi guidato nell'inserimento dei dati nel database utilizzato per tale studio.

BIBLIOGRAFIA

1. Maruna P, Nedělníková K, Gürlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiological Research*. 2000.
2. Russwurm S, Wiederhold M, Oberhoffer M, Stonans I, Zipfel PF, Reinhart K. Molecular aspects and natural source of procalcitonin. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1999. doi:10.1515/CCLM.1999.119
3. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *BioMed Research International*. 2014. doi:10.1155/2014/547818
4. Lee H. Procalcitonin as a biomarker of infectious diseases. *Korean Journal of Internal Medicine*. 2013. doi:10.3904/kjim.2013.28.3.285
5. Reinhart K, Meisner M. Biomarkers in the Critically Ill Patient: Procalcitonin. *Critical Care Clinics*. 2011. doi:10.1016/j.ccc.2011.01.002
6. Stoma I, Karpov I, Uss A, Rummo O, Milanovich N, Iskrov I. Diagnostic value of sepsis biomarkers in hematopoietic stem cell transplant recipients in a condition of high prevalence of gram-negative pathogens. *Hematology/ Oncology and Stem Cell Therapy*. 2017. doi:10.1016/j.hemonc.2016.09.002
7. Viscoli C. Bloodstream Infections: The peak of the iceberg. *Virulence*. 2016. doi:10.1080/21505594.2016.1152440
8. Villafuerte-Gutierrez P, Villalon L, Losa JE, Henriquez-Camacho C. Treatment of febrile neutropenia and prophylaxis in hematologic malignancies: A critical review and update. *Advances in Hematology*. 2014. doi:10.1155/2014/986938
9. Gibson C, Berliner N. How we evaluate and treat neutropenia in adults. *Blood*. 2014. doi:10.1182/blood-2014-02-482612
10. Elio Castagnola, Malgorzata Mikulska and CV. Prophylaxis and Empirical Therapy of Infection in Cancer Patients. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practices of Infectious Disease*.
11. Patel K, West HJ. Febrile Neutropenia. *JAMA oncology*. 2017. doi:10.1001/jamaoncol.2017.1114
12. Gustinetti G, Mikulska M. Bloodstream infections in neutropenic cancer patients: A practical

- update. *Virulence*. 2016. doi:10.1080/21505594.2016.1156821
13. Klastersky J, de Naurois J, Rolston K, et al. Management of febrile neutropaenia: ESMO clinical practice guidelines. *Annals of Oncology*. 2016. doi:10.1093/annonc/mdw325
 14. Bruno B, Busca A, Vallero S, et al. Current use and potential role of procalcitonin in the diagnostic work up and follow up of febrile neutropenia in hematological patients. *Expert Review of Hematology*. 2017. doi:10.1080/17474086.2017.1326813
 15. Kuderer NM, Dale DC, Crawford J, Cosler LE, Lyman GH. Mortality, morbidity, and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer*. 2006. doi:10.1002/cncr.21847
 16. Taplitz RA, Kennedy EB, Bow EJ, et al. Outpatient management of fever and neutropenia in adults treated for malignancy: American Society of Clinical Oncology and Infectious Diseases Society of America Clinical practice guideline update. *Journal of Clinical Oncology*. 2018. doi:10.1200/JCO.2017.77.6211
 17. Zimmer AJ, Freifeld AG. Optimal Management of Neutropenic Fever in Patients With Cancer. *Journal of Oncology Practice*. 2019;15(1). doi:10.1200/jop.18.00269
 18. Bazinet A, Popradi G. A general practitioner's guide to hematopoietic stem-cell transplantation. *Current Oncology*. 2019;26(3):187-191. doi:10.3747/co.26.5033
 19. Ogonek J, Juric MK, Ghimire S, et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Frontiers in Immunology*. 2016;7(NOV). doi:10.3389/fimmu.2016.00507
 20. Dettenkofer M, Wenzler- Rottele S, Babikir R, Bertz H, Ebner W, Meyer E, Ruden H, Gastmeier P, Daschner F. Surveillance of Nosocomial Sepsis and Pneumonia in Patients with a Bone Marrow or Peripheral Blood Stem Cell Transplant: A Multicenter Project. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40(7):926-931.
 21. Von Lilienfeld-Toal M, Dietrich MP, Glasmacher A, et al. Markers of bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies: Procalcitonin and IL-6 are more reliable than C-reactive protein. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2004.
 22. Von Lilienfeld-Toal M, Schneider A, Orlopp K, Hahn-Ast C, Glasmacher A, Stüber F. Change of procalcitonin predicts clinical outcome of febrile episodes in patients with hematological malignancies. *Supportive Care in Cancer*. 2006. doi:10.1007/s00520-006-

23. Lima SSS, Nobre V, de Castro Romanelli RM, et al. Procalcitonin-guided protocol is not useful to manage antibiotic therapy in febrile neutropenia: a randomized controlled trial. *Annals of Hematology*. 2016;95(7):1169-1176. doi:10.1007/s00277-016-2639-5
24. Haddad H El, Chaftari AM, Hachem R, et al. Procalcitonin Guiding Antimicrobial Therapy Duration in Febrile Cancer Patients with Documented Infection or Neutropenia. *Scientific Reports*. 2018. doi:10.1038/s41598-018-19616-3
25. Liu X, Wang DF, Fang Y, Ye WF, Liu S, Lou N. Initial procalcitonin level predicts infection and its outcome in patients with non-Hodgkin lymphoma with febrile neutropenia. *Leukemia and Lymphoma*. 2015;56(1):85-91. doi:10.3109/10428194.2014.911864
26. van der Galiën HT, Loeffen EAH, Miedema KGE, Tissing WJE. Predictive value of PCT and IL-6 for bacterial infection in children with cancer and febrile neutropenia. *Supportive Care in Cancer*. 2018. doi:10.1007/s00520-018-4249-3
27. Sbrana A, Torchio M, Comolli G, Antonuzzo A, Danova M. Use of procalcitonin in clinical oncology: A literature review. *New Microbiologica*. 2016;39(3):174-180.
28. Schuttrumpf S, Binder L, Hagemann T, Berkovic D, Trumper L, Binder C. Utility of Procalcitonin Concentration in the Evaluation of Patients with Malignant Diseases and Elevated C-Reactive Protein Plasma Concentrations. *Clinical Infectious Diseases*. 2006. doi:10.1086/505394
29. Shomali W, Hachem R, Chaftari AM, et al. Can procalcitonin distinguish infectious fever from tumor-related fever in non-neutropenic cancer patients? *Cancer*. 2012. doi:10.1002/cncr.27602
30. Ahn S, Lee YS, Lim KS, Lee JL. Adding procalcitonin to the MASCC risk-index score could improve risk stratification of patients with febrile neutropenia. *Supportive Care in Cancer*. 2013. doi:10.1007/s00520-013-1787-6
31. Chaftari AM, Hachem R, Reitzel R, et al. Role of procalcitonin and interleukin-6 in predicting cancer, and its progression independent of infection. *PLoS ONE*. 2015. doi:10.1371/journal.pone.0130999
32. Jimeno A, García-Velasco A, Del Val O, et al. Assessment of procalcitonin as a diagnostic and prognostic marker in patients with solid tumors and febrile neutropenia. *Cancer*. 2004. doi:10.1002/cncr.20275

33. Jamali B, Khorvash F, Meidani M, Abolghasemi H. Procalcitonin and quantitative C-reactive protein role in the early diagnosis of sepsis in patients with febrile neutropenia. *South Asian Journal of Cancer*. 2013. doi:10.4103/2278-330x.119913
34. Wu CW, Wu JY, Chen CK, et al. Does procalcitonin, C-reactive protein, or interleukin-6 test have a role in the diagnosis of severe infection in patients with febrile neutropenia? A systematic review and meta-analysis. *Supportive Care in Cancer*. 2015;23(10). doi:10.1007/s00520-015-2650-8
35. Xiaofeng Luo, Shaozhen Chen, Jingxi Zhang, Jinhua Ren MC, Kangni Lin, Haojie Zhu, Rong Zheng, Zhihong Zheng, Zhizhe Chen JH, Yang & T. Procalcitonin as a marker of Gram-negative bloodstream infections in hematological patients with febrile neutropenia. 2019.
36. Hemming V, Jakes AD, Shenton G, Phillips B. Prospective cohort study of procalcitonin levels in children with cancer presenting with febrile neutropenia. *BMC Pediatrics*. 2017;17(1). doi:10.1186/s12887-016-0766-8
37. Lin SG, Hou TY, Huang DH, et al. Role of procalcitonin in the diagnosis of severe infection in pediatric patients with fever and neutropenia-a systemic review and meta-analysis. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2012;31(10). doi:10.1097/INF.0b013e31825da45d