



1506  
UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI URBINO  
CARLO BO

---

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI URBINO "CARLO BO"

Dipartimento di Scienze Biomolecolari

*Corso di Laurea Magistrale in  
Biologia Molecolare, Sanitaria e della Nutrizione (LM-6)*

**VALUTAZIONE DEI LIVELLI DI PROCALCITONINA SIERICA  
IN PAZIENTI AFFETTI DA INFEZIONI URINARIE BATTERICHE**

Tesi di Laureadi BIANCA RANOCCHI

Relatore: Chiar.ma Prof.: LUIGIA ROSSI

Co-relatore: Chiar.ma Dott.ssa CINZIA MEI

---

Anno accademico 2019 – 2020

# **INDICE**

## **1. INTRODUZIONE**

### **1.1 LA PROCALCITONINA**

#### 1.1.1 USO DIAGNOSTICO DELLA PCT

##### 1.1.1.2 PCT E SEPSI

#### 1.1.2 USO DELLA PCT COME GUIDA ALLA TERAPIA ANTIBIOTICA

## **1.2 INFEZIONI BATTERICHE URINARIE**

#### 1.2.1 DIAGNOSI DELLE IVU

##### 1.2.1.1 URINOCOLTURA

#### 1.2.2 UROSEPSI

#### 1.2.3 TERAPIA ANTIBIOTICA e RESISTENZA ANTIBIOTICA

## **2. SCOPO DELLA TESI**

## **3. MATERIALI E METODI**

### **3.1 CAMPIONI**

#### 3.1.1 CAMPIONI POSITIVI ALL'URINOCOLTURA

#### 3.1.2 CAMPIONI NEGATIVI ALL'URINOCOLTURA

### **3.2 FASE PREANALITICA**

### **3.3 FASE ANALITICA**

#### **3.3.1 MINI VIDAS®**

#### **3.3.2 KIT VIDAS® B.R.A.H.M.S PCT™**

##### **3.3.2.1 PRINCIPIO DEL DOSAGGIO**

##### **3.3.2.2 REATTIVI**

#### **3.3.3 PROCEDIMENTO**

#### **3.3.4 RISULTATI ED INTERPRETAZIONE**

### **4. RISULTATI E DISCUSSIONE**

#### **4.1 RISULTATI**

#### **4.2 DISCUSSIONE**

#### **4.3 CONCLUSIONI**

### **5. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA**

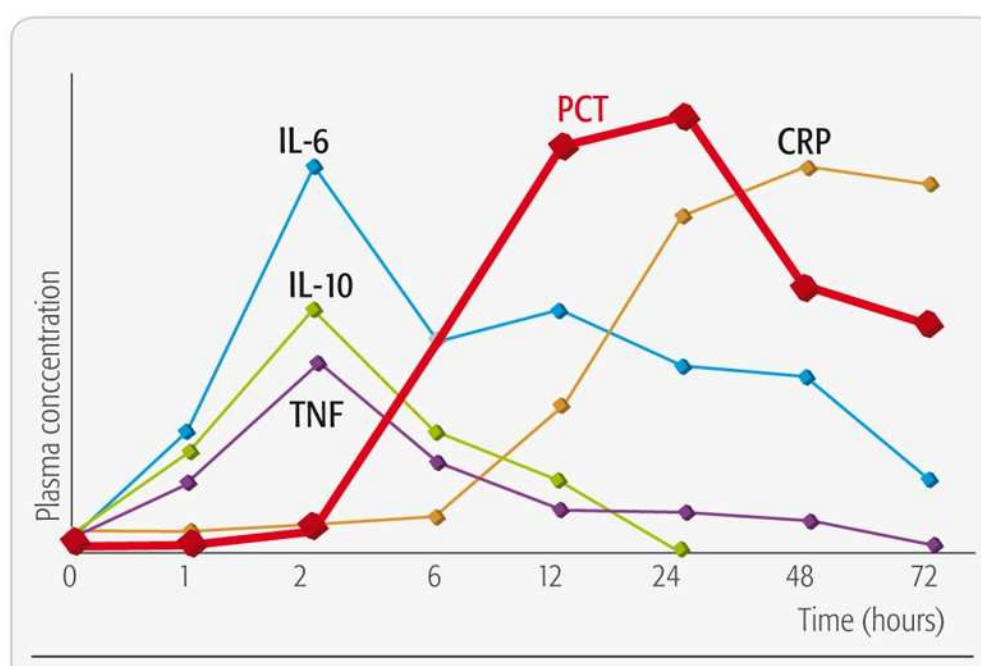
### **6. RINGRAZIAMENTI**





Il gene che codifica per la PCT è il gene CALC-1 che si trova sul cromosoma 11, la cui trascrizione porta prima alla produzione del peptide precursore pre-PCT di 141 amminoacidi. La pre-PCT è costituita dalla sequenza segnale (AA 1-25), dalla regione N-terminale della PCT (N-PCT) (AA 26-82), dalla sequenza centrale calcitonina (AA 85-116) e dalla regione C-terminale della PCT detta catacalcina (AA 121-141). Dall'mRNA tradotto, si libera la PCT grazie a un'endopeptidasi, che realizza l'azione di proteolisi sul pre-pro-ormone tagliando la sequenza segnale. La PCT in condizioni fisiologiche è immagazzinata nell'apparato di Golgi, quindi in circolo è presente solo in tracce (<0,05 ng/mL), perché l'espressione del gene CALC-1 è operata soltanto dalle cellule neuroendocrine della tiroide (3). Una sovraespressione del gene CALC-1 si verifica in risposta ad una stimolazione di origine pro-infiammatoria da differenti tipi di cellule che derivano da tessuti extratiroidei come milza, polmone, fegato, surrene, rene, testicoli e anche da leucociti, monociti e macrofagi: di fatto si verifica questa up-regulation anche nei soggetti tiroidectomizzati(4). I livelli di PCT aumentano bruscamente entro poche ore dalla somministrazione di endotossine nei soggetti umani, fino a concentrazioni di 100 ng/mL, nonché nelle infezioni batteriche sistemiche gravi (sepsi, shock settico e meningite), per questo motivo viene utilizzato come biomarcatore di infezione batterica e sepsi grave (5). Endotossine batteriche, esotossine, ed alcune citochine come IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  stimolano infatti la produzione di PCT (6). Nelle infezioni di tipo virale invece non vi è un'iper-espressione della PCT, al contrario, viene attenuata dall'interferone IFN $\gamma$ , per cui diventa biomarcatore più specifico per le infezioni batteriche, differenziandole da quelle virali (7). Negli adulti la PCT aumenta prontamente entro 4-6 ore dallo stimolo e diminuisce ogni giorno di circa il 50% se l'infezione batterica è controllata dal sistema immunitario supportato da un'efficace

terapia antibiotica. Questo profilo cinetico rende la PCT un interessante marcatore per il monitoraggio dei pazienti con infezioni sistemiche e sepsi e per decidere in maniera più dettagliata sulla prescrizione e durata della terapia antibiotica. Rispetto alla PCT gli altri marcatori di sepsi attualmente utilizzati come l'interleuchina 6 (IL-6) e il tumor necrosis factor (TNF) mostrano un picco nella fase iniziale di infezione con, tuttavia, una immediata down-regulation (8) (*FIGURA 2*).



***FIGURA 2: PROFILI CINETICI DEI DIVERSI BIOMARCATORI DELLE INFEZIONI BATTERICHE***

*Meisner M. Procalcitonin: Experience with a new diagnostic tool for bacterial infection and systemic inflammation. J Lab Med 1999;23:263-272*

Mueller et al. hanno definito la PCT come “omochina”, indice del comportamento citochinico che assume durante l’infiammazione e l’infezione (9). Inoltre è stato anche visto che può essere inattivata dalla dipeptidina-peptidasi IV, proteina che inattiva varie citochine (10).L’induzione di PCT circolante è legata all’attivazione e all’aderenza delle

cellule monocitiche che si verifica durante la sepsi così come in altre condizioni come dopo un trauma tissutale (11). Si osserva infatti che l'incremento di PCT può avere luogo anche in seguito a colpi di calore, ustioni gravi, traumi multipli e interventi chirurgici (8). Di conseguenza si considera la PCT come indicatore della risposta sistemica dell'organismo in presenza dell'infezione e non la manifestazione diretta dell'infezione (8). Durante l'induzione della PCT è stato dimostrato anche il ruolo del fegato, attraverso un esperimento in cui si è indotto lo shock da endotossina in un modello di scimmia: la risposta della PCT è stata attenuata in modo significativo dopo l'espianto di fegato (12). Questa differenza nella regolazione dell'induzione può essere una delle ragioni per cui il PCT ha un profilo diverso rispetto ad altri marcatori di sepsi. Per quanto riguarda le funzioni biologiche della PCT, ne sono state descritte diverse. Queste includono la modulazione delle funzioni immunologiche e la vasomotilità. Alcuni effetti dipendono dal tempo e sono diversi nelle cellule normali e pre-stimate. Per esempio, la risposta migratoria delle cellule monocitiche è aumentata dalla PCT, ma viene inibita dopo alcune ore di incubazione con la PCT (13). Allo stesso modo, l'espressione dell'ossido nitrico sintasi inducibile (iNOS) nelle cellule muscolari lisce vascolari è inibita dalla PCT nelle cellule native, ma viene aumentata nelle cellule pre-stimate (14) (15). Inoltre, la PCT ha dimostrato di influenzare l'espressione delle citochine. Nei modelli di shock sperimentali, la neutralizzazione o l'iniezione di PCT ha avuto un impatto sulla sopravvivenza e sulla disfunzione degli organi nel criceto e nei suini, ma l'iniezione di PCT in animali fittizi non ha avuto alcun effetto. Ipoteticamente, questi effetti di PCT possono contribuire alla diversa risposta locale e sistemica della perfusione e dell'infiammazione dei tessuti osservata nei pazienti con sepsi. I processi per l'eliminazione della procalcitonina non sono stati ancora del tutto chiariti: l'ipotesi



più valida sembra sia quella della degradazione attraverso proteolisi e dell'eliminazione per via renale (8).

### **1.1.1 USO DIAGNOSTICO DELLA PCT**

La misura della procalcitonina è esercitata per diverse funzioni come la diagnosi dell'infezione batterica e della sepsi, valutazione del rischio di sepsi e/o shock settico, valutazione del decorso della sepsi e per il processo decisionale sulla terapia antibiotica (16).

#### **1.1.1.2 PCT E SEPSI**

La sepsi è una sindrome clinica che rappresenta una risposta disregolata, in modo eccessivo, del sistema immunitario e del sistema coagulativo ad un'infezione (17). È caratterizzata da un rilascio massivo di mediatori pro-infiammatori che causano danni tissutali diffusi (18). Ogni anno si stimano circa 20-30 milioni di casi di sepsi in tutto il mondo e ancora oggi il tasso di mortalità per sepsi rimane elevato, in quanto tra il 30% e il 60% dei pazienti va incontro a morte (19). Nei paesi più sviluppati l'invecchiamento della popolazione, lo sviluppo di nuovi patogeni resistenti agli antibiotici e, nei paesi in via di sviluppo la scarsa igiene, malnutrizione, mancanza di accesso alle cure, hanno causato un aumento del tasso annuale di sepsi dell'8-13% rispetto il decennio passato (20).

La diagnosi di sepsi viene posta in seguito al riscontro di almeno due dei seguenti criteri che identificano la SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome), purché accompagnati da un focolaio infettivo, intravascolare (come endocarditi, endoarteriti,

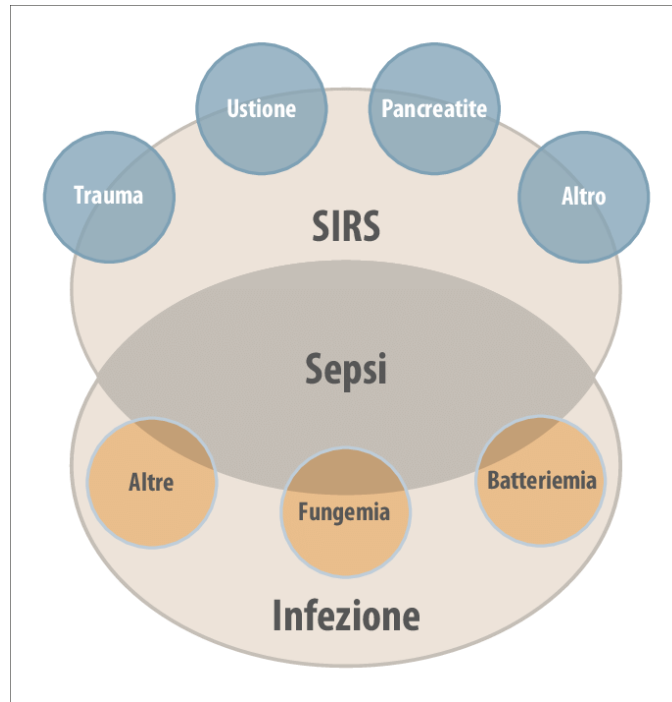
infezioni di shunt artero-venosi) o extravascolare (ascessi, ferite ecc.), che ne sia il determinante. La SIRS è caratterizzata dalla presenza di almeno 2 dei seguenti criteri clinici o ematochimici (21):

- alterazione della temperatura corporea (ipertermia  $> 38^{\circ}\text{C}$  o ipotermia  $< 36^{\circ}\text{C}$ )
- $> 90$  battiti/min o di 2 deviazioni standard superiore al valore normale per l'età
- tachicardia: frequenza cardiaca  $> 90$  battiti/min o di 2 deviazioni standard superiore al valore normale per l'età
- tachipnea: frequenza respiratoria  $> 20$  atti/min o iperventilazione dimostrata da una  $\text{PaCO}_2$
- alterazione della conta leucocitaria:  $> 12000$  cellule  $\mu\text{L}^{-1}$  (leucocitosi) o  $< 4000$   $\mu\text{L}^{-1}$

1

La SIRS è condizione essenziale per la diagnosi, ma non patognomonica di sepsi, in quanto essa è presente anche in altre condizioni (22)(*FIGURA3*). Quando alla diagnosi appena descritta si aggiunge almeno uno dei seguenti segni, correlati a un'insufficienza d'organo, si parla di "sepsi severa":

- oliguria, diuresi  $< 0,5$  ml/kg/h
- dispnea con ipossiemia
- alterazione dell'attività cardiaca
- brusco cambiamento dello stato mentale
- trombocitopenia
- comparsa di esantema cutaneo/eritema o iperemia generalizzata



***FIGURA 3: CORRELAZIONE SIRS-INFEZIONI-SEPSI***

*Gattuso G, Benanzi D, Ceruti R, Chiarelli C, La gestione precoce della sepsi: utilizzo di linee-guida ospedaliere. Esperienza dell’Azienda Ospedaliera “C. Poma” di Mantova. The early management of the sepsis: use of a guidelines document in hospital. Experience at “Carlo Poma” hospital in Mantova. Recenti progressi in Med. 2015: 106:250*

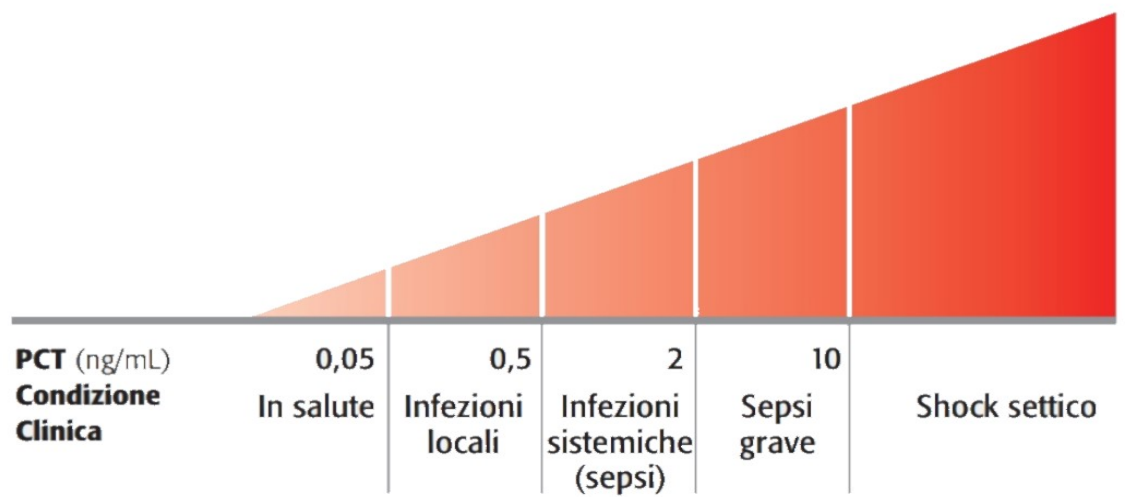
Nello stadio di “shock settico”, che sarebbe quello più severo, i segni e i sintomi caratteristici della sepsi severa si sommano a una diminuzione marcata della pressione arteriosa (ipotensione severa), che si realizza anche in presenza di una volemia adeguata, nonostante il sostegno terapeutico mediante fluidoterapia.

Per il trattamento di sepsi è fondamentale il suo riconoscimento precoce e l’avvio immediato della terapia antibiotica appropriata, così come il recupero dei liquidi biologici. Circa il 70% dei pazienti con sepsi severa o shock settico necessita di cure intensive precoci. Studi clinici hanno dimostrato che la tempestiva identificazione dei

pazienti con sepsi, e di conseguenza l'immediato inizio di un trattamento adeguato, hanno un significativo impatto sulla sopravvivenza e sulla morbilità associata (23).

I segni clinici, così come i criteri della sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS), mancano sia di sensibilità che di specificità. Quindi i biomarcatori come la PCT, che riflettono la gravità delle infezioni batteriche, migliorano la diagnosi precoce della sepsi (24) (25). È stato dimostrato che la PCT è clinicamente più utile e superiore ai più comuni parametri clinici e test di laboratorio nella diagnosi precoce della sepsi (20).

I valori di PCT sierica e plasmatica in condizioni fisiologiche sono al di sotto di 0,5 ng/ml. Diversi studi hanno messo a punto la correlazione del rischio di infezione batterica e l'aumento della PCT sierica. Inoltre è stato anche considerato come seconda dei valori di PCT, e quindi del rischio di infezione, ci sia una progressione verso una sepsi grave ed uno shock settico (25) (26) (27)(FIGURA 4).



**FIGURA 4: LIVELLI DI PCT E PROGRESSIONE DELLA CONDIZIONE DI SALUTE**  
Meisner M, Rotgeri A, Brunkhorst F.M. A semi-quantitative point-of-care test for the measurement of procalcitonin. *J Lab Med* 2000; 24:076-085

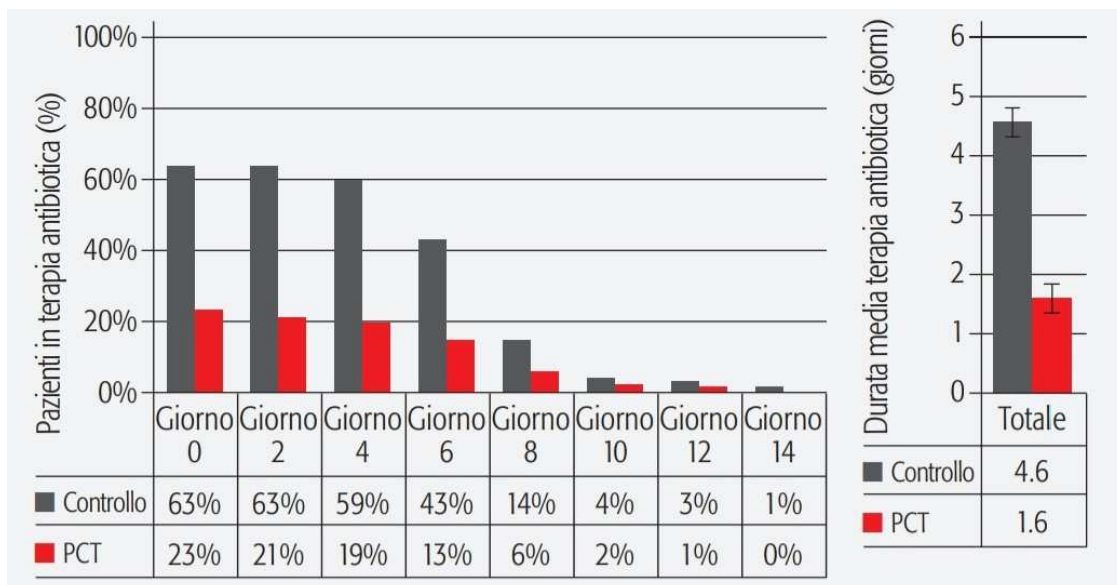
Quindi una concentrazione di procalcitonina minore di 0,5 ng/ml rappresenta un debole rischio di sepsi grave e/o di shock settico. Tuttavia più alti sono i livelli di PCT, più alto è il rischio che il paziente sviluppi sepsi a causa di un'infezione batterica; più alti sono i livelli di PCT, più grave è l'infezione; più bassi sono i livelli di PCT, più basso è il rischio di un'infezione batterica severa e più alta è la probabilità che questi pazienti possano piuttosto avere un'infezione virale moderata. Quindi vengono distinti dei livelli di cut-off che indicano il livello di rischio/gravità del paziente: un valore di cut-off di PCT di 0,25 ng/ml o 0,01 ng/ml nei pazienti tipicamente con infezioni delle vie respiratorie che si presentano al pronto soccorso o al medico curante (pazienti a basso rischio) esclude un'infezione batterica severa, ma può corrispondere alla diagnosi di infezioni virali come la bronchiolite o un'esacerbazione indotta da un virus della malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD). Mentre nei pazienti trasferiti alle unità di terapia intensiva (pazienti ad alto rischio), i valori di cut-off della PCT diventano di 0,5 ng/ml o 0,25 ng/ml. Di conseguenza se la procalcitonina presenta in questi pazienti concentrazioni al di sotto di 0,5 ng/ml il rischio di sepsi è basso. La sepsi è da considerare probabile con  $PCT > 0,5$  ng/ml e molto probabile con valori di  $> 1,0$  ng/ml (28).

### **1.1.2 USO DELLA PCT COME GUIDA PER LA TERAPIA ANTIBIOTICA**

Negli ultimi anni l'incremento del fenomeno della farmacoresistenza da parte degli agenti patogeni e la mancanza di nuovi antibiotici ha posto l'attenzione sulle criticità del trattamento antibiotico in pazienti interessati da infezioni batteriche. Il nuovo approccio

alla terapia antibiotica mira a un utilizzo ridotto degli antibiotici se non necessari e meno prolungato, per preservarne l'efficacia. Diversi studi clini hanno dimostrato esser utile a questo scopo la misura di biomarcatori sierici come la procalcitonina per guidare l'avvio e anche la durata del trattamento antibiotico in pazienti con infezioni batteriche (29) (30) (31). I vantaggi dell'utilizzo di questi criteri sono diversi: la massima efficacia del trattamento, riduzione della farmacoresistenza, diagnosi rapida e corretta con conseguente utilizzo degli antibiotici solo quando necessari, possibilità di scalare gli antibiotici, terapia di durata adeguata (32).

In modo particolare, nella medicina di base, la misura della procalcitonina ottimizza l'orientamento alla terapia antibiotica in quanto aiuta il clinico ad escludere o confermare le infezioni batteriche e a determinare l'uso necessario o meno degli antibiotici. La differenziazione tra l'origine virale e quella batterica delle infezioni in pazienti a basso rischio/gravità che presentano sintomi di infezioni delle basse o delle alte vie respiratorie in medicina di base, rimane un compito difficile. Sono stati condotti trials randomizzati in pazienti con LRTI (infezioni delle basse vie respiratorie) nei contesti di assistenza primaria (33) e Pronto Soccorso (34), in cui è stata utilizzata la concentrazione del cut-off di PCT a 0,25 ng/ml per decidere di non somministrare o interrompere gli antibiotici (35). Questi studi hanno dimostrato una riduzione dell'assunzione di antibiotici di più del 60% quando la PCT viene utilizzata per guidare l'avvio o meno della terapia antibiotica in medicina di base (35). Con la guida della PCT, solo al 23% dei pazienti sono stati somministrati gli antibiotici contro il 63% del gruppo di controllo. La durata media del trattamento è stata di 1,6 giorni nel gruppo PCT contro i 4,6 giorni del gruppo di controllo, indicando una riduzione dell'assunzione di antibiotici di oltre il 60% (35) (*FIGURA 5*).



**FIGURA 5: USO DEGLI ANTIBIOTICI IN MEDICINA DI BASE CON (in rosso) E SENZA (in grigio) GUIDA DELLA PCT.**

*Schuetz P, Briel M, Christ-Crain M, et al. Procalcitonin to Guide Initiation and Duration of Antibiotic Treatment in Acute Respiratory Infections: An Individual Patient Data MetaAnalysis. Clin Infect Dis 2012;55(5):651-62*

Inoltre la riduzione del consumo di antibiotici è risultata clinicamente sicura in questi contesti, poiché con una terapia antibiotica basata sulla PCT non sono stati associati tassi di mortalità o fallimento del trattamento più elevati (36). Anche studi su pazienti con bronchite ed esacerbazione da COPD hanno mostrato che con livelli di PCT < 0,25 ng/ml possa esser sconsigliata ed evitata l'antibioticoterapia (35). La bronchite o l'esacerbazione della COPD è, nella maggior parte dei casi, un'infezione virale. Nonostante ciò, i pazienti sono spesso trattati con antibiotici perché è difficile escludere un'eziologia batterica solo su base clinica. L'algoritmo proposto per l'uso dei valori di PCT per valutare l'avvio o meno della terapia antibiotica, poi prevede di considerare diagnosi alternative o avvio terapia antibiotica se il paziente è clinicamente instabile o se è ad alto rischio o se ci sono forti evidenze di un'eziologia batterica (37).

Anche in trials randomizzati su pazienti (più di 2000) con polmonite comunitaria è stato evidenziato come la gestione degli antibiotici derivi dall'uso clinico della PCT come guida (35). Un livello di PCT > 0,25 ng/mL suggerisce fortemente che un'infezione batterica è probabile e una terapia antibiotica dovrebbe essere incominciata rapidamente. Se il test per la PCT è disponibile entro 1-2 ore dalla richiesta, la decisione di avviare la terapia antibiotica può essere presa valutando il livello iniziale di PCT. In altri contesti, dove il test della PCT può essere ritardato, l'inizio della terapia dovrebbe basarsi sul sospetto clinico decidendo l'eventuale interruzione della somministrazione di antibiotici in funzione del livello di PCT. In pazienti nei quali la terapia è stata avviata, la PCT dovrebbe essere rivalutata ogni due giorni per monitorare l'efficacia del trattamento. La terapia antibiotica si può interrompere in sicurezza se un paziente mostra un recupero clinico e se la concentrazione della PCT è < 0,25 ng/ml (35). Con la guida della PCT, i pazienti sono stati trattati per una media di 7 giorni contro gli 11,1 giorni nel gruppo di controllo, con una riduzione della somministrazione di antibiotici di circa il 40% (35).

Per l'utilizzo della PCT come guida nell'antibioticoterapia in pazienti con sepsi in terapia intensiva/rianimazione, è stato pubblicato nel 2016 il SAPS (Stop Antibiotics on Procalcitonin guidance Study), il più grande studio multicentrico randomizzato di interventistica condotto finora per valutare l'utilità della PCT per la gestione dei pazienti critici. Lo studio ha dimostrato che basse concentrazioni di PCT aiutano i medici a fermare gli antibiotici prima nei pazienti con sospetto iniziale di infezione, sostenendo così una diagnosi ed un trattamento più adeguato. È importante notare che la guida PCT ha portato a una diminuzione della mortalità dal 27% al 21% al giorno 28,



che è rimasta robusta nel follow-up a lungo termine dopo un anno (38). Una recente review di Carr et al. ha evidenziato i vantaggi dell'uso della PCT in diverse unità di terapia intensiva come guida per un'adeguata terminazione degli antibiotici e un risparmio sui costi (39). La review ha rilevato che un livello di PCT  $\geq 2,0$  ng/ml è più sensibile e specifico per la sepsi e che un livello di PCT  $< 0,5$  ng/ml è sicuro per fermare gli antibiotici nei pazienti settici in terapia intensiva. La review supporta anche l'uso di protocolli basati su PCT come quelli raccomandati da Schuetz et al. (28). Un paziente con una risposta infiammatoria e un livello iniziale di PCT  $< 0,5$  ng/ml è molto improbabile che abbia un'eziologia infettiva della risposta SIRS, e gli antibiotici possono essere fermati prima (39). In questo caso devono essere prese in considerazione altre diagnosi, comprese le eziologie virali. Nei pazienti in condizioni critiche, un forte sospetto di infezione batterica grave con una concentrazione di PCT superiore a 2,0 ng/ml è diagnostico di sepsi con un'alta specificità e un alto Valore Predittivo Positivo (PPV) e la terapia antibiotica dovrebbe essere iniziata immediatamente (39). Un'attenta valutazione clinica e monitoraggio periodico (1-2 giorni) dei livelli di PCT dopo l'inizio dell'antibiotico è un'appropriata strategia in questi pazienti (28). Un calo della PCT fino a valori minori di 0,5 ng/ml (o di almeno l'80-90% rispetto ai valori di picco) sembra esser una soglia accettabile e sicura per interrompere gli antibiotici, supponendo che i pazienti mostrino anche una risposta clinica favorevole (39). Se i livelli di PCT non diminuiscono di circa il 50% ogni 1-2 giorni, si dovrebbe considerare il fallimento del trattamento e si raccomanda una nuova valutazione del paziente (28). L'uso della PCT per decidere quando interrompere la somministrazione di antibiotici sulla base di un livello  $< 0,5$  ng/ml nei pazienti con infezioni polmonari e/o sepsi, ha dimostrato di ridurre l'uso totale di antibiotici e di diminuire la durata degli antibiotici (39). In studi

clinici che includono più di 500 pazienti in terapia intensiva medica e chirurgica, tali protocolli hanno dimostrato di ridurre la durata della terapia antibiotica da una mediana di 12 a una mediana di 18 giorni, con risultati simili nei pazienti e, in alcuni studi, una riduzione della durata della permanenza in terapia intensiva (35).

## **1.2 LE INFEZIONI URINARIE**

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) sono uno stato di flogosi acuta causato dalla presenza di patogeni in attiva moltiplicazione all'interno delle vie urinarie stesse, normalmente sterili. La patogenesi di queste infezioni è caratterizzata anche dall'aderenza batterica all'uroepitelio, determinando infiammazione e persistenza del batterio nelle vie urinarie (40). A livello anatomico si classificano in infezioni delle "basse" vie (cistiti, uretriti, prostatiti) ed infezioni delle "alte" vie (pielonefriti). L'associazione Europea del sistema di classificazione di urologia delle IVU distingue queste infezioni in:

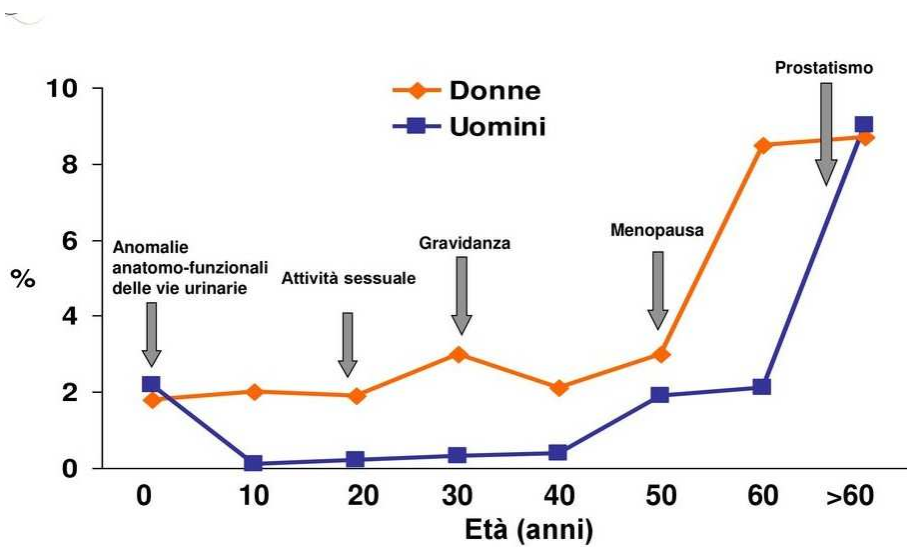
- "non complicate": insorgono in soggetti senza alcuna anomalia anatomica o funzionale a carico dell'apparato in questione
- "complicate": dipendenti da anomalie anatomiche, cause neurologiche, immunocompromissione, presenza di calcoli, o cateterizzazione
- "ricorrenti": reinfezione con lo stesso o con un altro microrganismo, che compare entro 60 giorni dal primo episodio, indipendente da anomalie anatomiche, funzionali o da danno renale (infezioni comunitarie) (41)
- "nosocomiali": acquisite in ospedale, che compaiono 72 ore dopo il ricovero e sono spesso correlate alla cateterizzazione (42)

- “infezioni correlate alle pratiche assistenziali”: infezioni che insorgono nei pazienti che siano stati ricoverati in ospedale per almeno 48 ore negli ultimi 30 giorni, o che siano in residenze/ricoveri in lungo degenza o in altre strutture residenziali, o che abbiano ricevuto trattamento antibiotico della durata di almeno cinque giorni negli ultimi 30 giorni, oppure che abbiano effettuato accessi abituali e frequenti presso strutture sanitarie.

In base al decorso clinico vengono invece classificate come infezioni “acute” quelle che presentano un singolo episodio spesso sintomatico, ma con prognosi favorevole e infezioni “croniche” quando sono caratterizzate da uno stato di malattia persistente nel tempo. Uno studio tedesco di Picolli et al. ha verificato l’epidemiologia diversa tra uomini e donne delle infezioni urinarie, e i diversi fattori che contribuiscono all’insorgenza delle IVU (43) (FIGURA 6). Le IVU interessano in modo maggiore le donne rispetto gli uomini, con una frequenza che è in rapporto di 4 a 1, dovuto alla diversa conformazione anatomica dell’apparato urinario che comporta maggior capacità dei batteri di risalire in quello femminile, rispetto a quello maschile. Gli uomini sono soggetti alle IVU associate alle anomalie del tratto urinario, come il restringimento del canale uretrale, l’ingrossamento della prostata o la presenza di calcoli vescicali. La fascia di età maschile maggiormente colpita è quella superiore a 45 anni e sono rare negli adolescenti. Invece il 40-45% delle donne è infettata almeno una volta nel corso della propria vita e di esse circa il 20% è interessata a infezioni ricorrenti (44). Oltre al genere, la prevalenza delle infezioni delle vie urinarie dipende anche dall’età, lo stile di vita, le condizioni socioeconomiche e igieniche e anche da fattori di predisposizione come il cateterismo uretrale, la gravidanza, il diabete (43). In Italia l’epidemiologia sulle IVU rivela che hanno un’incidenza annuale di 6 milioni e risulta essere la seconda

infezione più frequente dopo quella respiratoria (46).

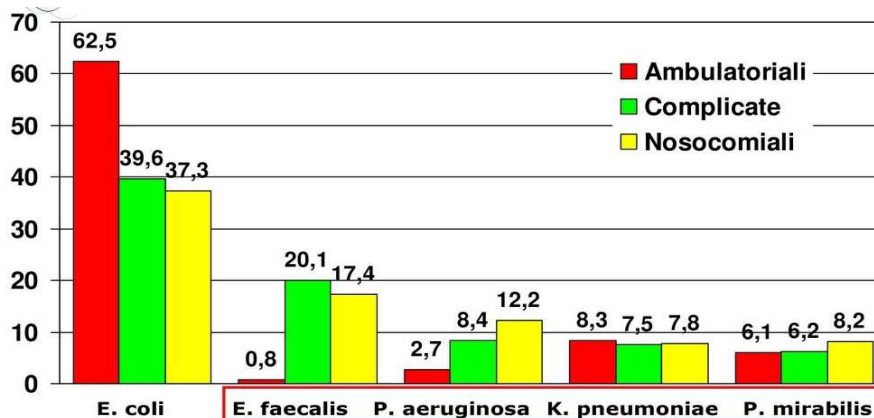
La maggior parte dell'insorgenza delle IVU è derivata da eziologia batterica, soprattutto da batteri della flora intestinale come *Escherichia coli*, seguite in termini di frequenza da *Enterococcus faecalis* da altri ceppi batterici quali *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* (47).



**FIGURA 6: PREVALENZA IN FUNZIONE DELL'ETA' E SESSO NELLE IVU**

Piccolo R, Nils Brion V, Gualano L, Mille'rioux M, Marchetti M T, Rosignoli P D. *Pharmacokinetics and Tolerability of Prulifloxacin after Single Oral Administration. Arzneimittelforschung 2003; 53(3): 201-205*

Il germe *Escherichia coli* si conferma essere il principale patogeno delle infezioni sia ambulatoriali, sia complicate che nosocomiali, mentre la prevalenza delle infezioni da *Enterococcus faecalis* è alta nelle infezioni complicate e nosocomiali e interessa pochi casi nelle infezioni ambulatoriali (46) (FIGURA 7).



*FIGURA 7: PATOGENI CAUSALI IVU AMBULATORIALI, COMPLICATE E NOCOSOMIALI Nicoletti G. Piccinocchi G et al Survey Multicentrico Italiano. S.I.M. GIMMOC IX Q2, 2005*

Le infezioni urinarie differiscono anche per la patogenesi. Infatti i microrganismi possono raggiungere l'apparato urinario per via:

- Ascendente
- Discendente
- Ematogena
- Linfatica
- Per contiguità

La via ascendente è la patogenesi più comune che avviene attraverso l'uretra da parte dei germi provenienti da tessuti periuretrali e perineali. I batteri che si propagano nelle basse vie urinarie attraverso gli ureteri prendono la via discendente. L'infezione per via ematogena avviene in corso di sepsi, ascessi corticali del rene e nefropatie vascolari. La patogenesi per via linfatica è quella che avviene attraverso le vie linfatiche che si trovano nella sottomucosa uretrale (41). Le IVU per via contigua sono più rare ed avvengono in caso di gravi infezioni a livello del colon, come per esempio tumori intestinali, dei genitali femminili e della prostata..

### **1.2.1 DIAGNOSI DELLE IVU**

Dal punto di vista clinico, le infezioni urinarie delle basse vie (cistiti/uretriti) sono caratterizzate da pollachiuria (minzione frequente), urgenza a urinare, minzione

dolorosa, ematuria, febbre. Le infezioni delle alte vie urinarie comprendono come sintomi gli stessi delle basse vie ma con febbre più elevate, nausea, vomito, dolori nella zona pelvica, lombare e toracica. La sintomatologia clinica, tuttavia, non è sufficiente come diagnosi di queste infezioni, per cui si rendono necessarie le indagini di laboratorio. Le prime indagini a cui i pazienti solitamente vengono sottoposti sono l'esame chimico-fisico delle urine e l'urinocoltura (47).

### 1.2.1.1 URINOCOLTURA

L'urinocoltura rappresenta il golden standard diagnostico, utilizzato soprattutto per le infezioni più complicate (41). Il metodo più frequentemente utilizzato per eseguire la raccolta del campione è quello del mitto intermedio privo di contaminanti, oppure può essere raccolta tramite catetere soprattutto in pazienti ospedalizzati e raramente tramite aspirazione diretta dalla vescica con l'utilizzo di un ago. Le urine da esaminare devono essere appena emesse, mentre non sono idonee né le urine della sacca, né la coltura della punta del catetere rimosso. Il campione va rapidamente trasportato in laboratorio per essere sottoposto all'esame microscopico e alla coltura quantitativa. Nel caso in cui non sia possibile ritardare l'inizio della terapia antibiotica e le urine non possano essere immediatamente sottoposte ad analisi microbiologica, il campione va conservato a + 4 °C per 12-24 h per mantenere inalterata la conta batterica. Per effettuare la coltura si deve stendere una piccola quantità di urina su una piastra di agar (FIGURA 8)(48) e incubare a temperatura ambiente. Le piastre più utilizzate sono quelle aspecifiche come l'agar Mac Conkey, selettivo per i Gran Negativi (come *Escherichia coli*), per la variabilità eziologica dei batteri responsabili delle infezioni del tratto urinario. Si utilizza la tecnica della “semina a perdere” attraverso un'ansa sterile calibrata a un microlitro, utile ad aver il giusto distanziamento dei diversi microrganismi se

l'infezione risultasse positiva. Una volta effettuata la semina, le piastre vengono poste in incubatrice a 35°C per 24 ore.

I risultati si rendono visibili infatti dopo 24-48 ore, il tempo necessario alla crescita microbica (49).



***FIGURA 8: SEMINA SU PIASTRA***

*<https://www.salutarmente.it/analisi-delle-urine/urinocoltura>*

Il laboratorista per poter effettuare il referto deve osservare le colonie sulle piastre, poi farne la conta e determinare il tipo di microrganismo cresciuto, attraverso la distinzione della forma, del tipo e del colore delle colonie. Se la crescita è minima o assente si considera una coltura negativa, quindi assenza di infezione urinaria. Si considerano urinocolture positive quando si supera la soglia delle 100.000 Unità Formanti Colonie/ml (CFU/ml) (49). Nel caso del paziente asintomatico è necessaria la positività per lo stesso microrganismo di due campioni consecutivi a distanza di almeno 24 ore (50). Nel caso di cistiti/uretriti l'esecuzione dell'urinocoltura permette l'identificazione del batterio responsabile e la successiva terapia antibiotica mirata (51). Nelle donne viene considerato come cut-off di presenza d'infezione  $10^5$  CFU/ml, mentre nell'uomo è ridotto a  $10^4$  CFU/ml. Bisogna però considerare anche lo stato di idratazione del

paziente, l'eventuale recente trattamento antibiotico e presenza di pollachiuria perché spesso non permettono il raggiungimento delle concentrazioni batteriche significative nell'urina (52). Nelle pielonefriti acute si assumono positivi i valori superiori a  $10^4$  CFU/ml e per il completamento della diagnosi è utile l'ecografia dei reni e/o radiografia diretta addominale al fine di escludere presenza di calcoli o elementi ostruttivi (53). La batteriuria asintomatica deve essere considerata un'entità autonoma e può essere pertinente al basso o all'alto apparato urinario. L'infezione asintomatica è possibile evidenziarla soltanto con l'esame microbiologico, a tal proposito si considera importante il monitoraggio di donne in gravidanza, anziani, soggetti diabetici e soggetti che sono stati sottoposti a procedure invasive del tratto urinario in cui la batteriuria può evolvere in batteriemia, in quanto sono categorie a rischio di infezioni delle vie urinarie (51). I fattori di rischio per le IVU sono stati classificati in sei gruppi a seconda di alcune variabili quali sesso, tipo di patogeno, carica batterica, possibilità di trattamento, stato di salute e sintomatologia, secondo la classificazione ORENUC elaborata dall'European Section of Infections in Urology, ESIU (FIGURA 9) (51):

- O: nessun fattore
- R: IVU ricorrenti
- E: extra-genitali
- N: nefropatie
- U: fattori urologici
- C: fattori legati al catetere



Fenotipo	Categoria di rischio	Esempi di fattori di rischio
<b>O</b>	Assenza di Fattori di Rischio conosciuti	Donne in premenopausa in salute
<b>R</b>	Fattori di Rischio per IVU ricorrenti, in assenza di rischio di prognosi severa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comportamento sessuale (spermicidi, frequenza)</li> <li>• Deficit ormonali in postmenopausa</li> <li>• Diabete mellito ben controllato</li> </ul>
<b>E</b>	Fattori di rischio Extra-genitourinari, con rischio di prognosi più severa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gravidanza</li> <li>• Sesso maschile</li> <li>• Diabete mellito mal controllato</li> <li>• Immunosoppressione rilevante</li> <li>• Connettivopatie</li> <li>• Nascita prematura, neonati</li> </ul>
<b>N</b>	Nefropatia, con rischio di prognosi più severa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insufficienza renale rilevante</li> <li>• Nefropatia policistica</li> </ul>
<b>U</b>	Fattori di rischio Urologici, con rischio di prognosi più severa che possono essere risolti durante la terapia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ostruzione ureterale (i.e. calcolosi, stenosi)</li> <li>• Posizionamento di catetere vescicale transitorio e per un breve periodo</li> <li>• Batteriuria asintomatica</li> <li>• Vescica neurologica, controllata</li> <li>• Chirurgia urologica</li> </ul>
<b>C</b>	Catetere urinario a permanenza e fattori di rischio urologici non risolvibili, con rischio di prognosi più severa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Catetere vescicale a permanenza</li> <li>• Ostruzione urinaria non risolvibile</li> <li>• Vescica neurologica non controllata</li> </ul>

**FIGURA 9: FATTORI DI RISCHIO NELLE INFEZIONI DELLE VIE URINARIE**

Battaglia M, Concia E, Mazzei T, Pea F, Salonia A. Raccomandazioni in tema di diagnosi, trattamento e profilassi delle infezioni delle vie urinarie. Raccomandazioni SIU – UTI. 2015

## 1.2.2 UROSEPSI

Nella pratica clinica continua a prevalere la divisione in IVU in “complicate”, “non complicate” e “urosepsi” (54). Si può parlare di sepsi urinaria, definita anche come urosepsi, quando vengono identificati i seguenti criteri clinici:

- Infezione: presenza di un microrganismo in un sito sterile che può attivare una

risposta immunitaria;

- Batteriemia: presenza di batteri nel sangue, evidenziati da emocolture (può essere temporanea);
- SIRS

La mortalità per urosepsi si attesta intorno al 5% ed è inferiore alla mortalità delle sepsi di altra origine che varia tra il 20-42% (55). Le infezioni che portano maggiormente (30-80%) all'urosepsi sono quelle derivate dai batteri Gram-negativi, di cui *Escherichia coli* ne rappresenta il ceppo più frequente. La seconda famiglia coinvolta nella patogenesi di urosepsi è quella delle *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* in circa il 20% dei casi, mentre *Pseudomonas*, *Proteus*, *Providencia* e le specie anaerobiche sono coinvolte ciascuna nel 10% dei casi di sepsi (56). La maggior parte di urosepsi nosocomiale può essere evitata con misure utilizzate per prevenire l'infezione nosocomiale, ad esempio la riduzione della degenza in ospedale, rimozione precoce dei cateteri uretrali interni, evitare l'inutile cateterismo uretrale, l'uso corretto dei sistemi a catetere chiuso, e serve fare attenzione alle semplici tecniche di asepsi quotidiana per evitare l'infezione incrociata (54). I pazienti che hanno maggiori probabilità di sviluppare l'urosepsi includono: pazienti anziani, diabetici, immunosoppressi, destinatari di trapianti, pazienti che eseguono chemioterapia, pazienti con l'AIDS (54). Tuttavia tutti i pazienti possono essere affetti da specie batteriche in grado di indurre risposta infiammatoria all'interno del tratto urinario. È ormai riconosciuto che la SIRS può essere presente senza infezione (ad esempio nelle pancreatiti, ustioni, shock non settico) (57). Per i fini terapeutici i criteri diagnostici della sepsi dovrebbero essere identificati in una fase precoce della sindrome, così che urologi e specialisti della terapia intensiva possano cercare di trattare l'infezione e monitorare l'insufficienza degli

organi e altre complicazioni.

### **1.2.3 TERAPIA ANTIBIOTICA e RESISTENZA ANTIBIOTICA**

La terapia delle IVU si basa soprattutto sull'utilizzo degli antibiotici per eliminare i segni della sintomatologia batterica e riducendo il rischio di formazione dei danni renali.

L'antibioticoterapia si può distinguere in terapia mirata, cioè scelta sulla base della conoscenza della sensibilità in vitro del patogeno agli antibiotici oppure ragionata, cioè scelta in base ad un ragionamento logico basandosi sui dati epidemiologici. La strategia terapeutica dovrà tenere conto dell'anamnesi ed esame obiettivo del paziente, dati di resistenza agli antibiotici nella zona geografica, ed l'antibiogramma. L'antibiogramma è il metodo di valutazione in vitro dell'interazione tra il microorganismo isolato e gli antibiotici più appropriati per il trattamento in vivo. Infatti dall'antibiogramma si ottiene la valutazione del batterio come Resistente, Sensibile o Intermedio. Inoltre dall'antibiogramma deriva anche un'analisi quantitativa: valuta la MIC, minima concentrazione inibente, cioè la più bassa concentrazione del farmaco in grado di inibire la crescita del microorganismo in vitro, e la MBC, minima concentrazione battericida, cioè la minima concentrazione di antibiotico in grado di portare a morte le cellule batteriche.

Il trattamento delle infezioni del tratto urinario è raccomandato esclusivamente per i pazienti sintomatici, iniziando con molecole ad ampio spettro da sostituire eventualmente sulla base dell'antibiogramma del germe/i isolato/i. Negli ultimi anni il problema della resistenza agli antibiotici pone l'attenzione su strategie per ridurre l'utilizzo degli antibiotici. Le infezioni che vengono determinate da batteri antibiotico-resistenti vengono classificate come IVU complicate, in quanto sono a maggior rischio

di infezioni recidive e complicazioni (51). Il maggior problema è rappresentato dai ceppi produttori di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL), ovvero resistenti alle aminopenicilline, cefalosporine di I, II e III generazione, aztreonam e, a seconda del tipo di enzima prodotto, anche alle cefalosporine di IV generazione (cefepime), ampicillina-sulbactam e piperacillina-tazobactam (58). Pertanto si raccomanda di utilizzare i farmaci quando l'indicazione clinica è chiara o fortemente sospettabile e la scelta della molecola dovrà basarsi sulla situazione epidemiologica e sullo spettro di suscettibilità dei patogeni, ricordando che in caso di IVU ci si confronta non solo con E. coli, ma anche con altri microrganismi come Proteus, Klebsiella e Pseudomonas (59). La scelta del tipo di farmaco si basa sulla conoscenza delle sue proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche. Nel corso degli anni, parallelamente al riscontro di un aumento delle resistenze batteriche, ci ritroviamo con una riduzione della disponibilità di nuove molecole antibiotiche. È necessario dunque usare al meglio i presidi terapeutici di cui disponiamo, adottando il migliore approccio razionale nella scelta. Per la corretta scelta terapeutica risulta quindi necessario fare riferimento alle linee guida, le quali forniscono indicazioni sull'utilizzo ragionato ed appropriato della terapia antibiotica nelle IVU, relativamente all'indicazione terapeutica, alla scelta della molecola, al dosaggio, alla via di somministrazione e alla durata del trattamento (60). Ulteriore criterio adottabile ai fini di un'appropriata terapia viene fornito dall'adeguatezza dei dosaggi somministrati, non solo in termini quantitativi ma anche temporali, vale a dire l'intervallo tra le dosi e la durata totale della terapia. Per quanto riguarda quest'ultima, ricordiamo come ormai tutte le linee guida concordano nell'indicare in tre giorni la durata ottimale del trattamento nelle IVU non complicate, perlomeno utilizzando farmaci di prima scelta (cotrimoxazolo e ciprofloxacina).

Trattamenti di durata superiore non offrono significativi vantaggi (61). Per esempio nelle linee guida SIU 2015 si indica di iniziare la terapia empirica con uno dei seguenti schemi terapeutici (61):

- Nitrofurantoina 50-100 mg 4 volte al dì per 5 gg (100 mg se peso >80 kg)
- Fosfomicina trometamolo 3 g in singola dose
- Ciprofloxacina RM 1000 mg 1 volta al dì per 3 giorni ciprofloxacina 500 mg 2 volte al dì
- Cotrimossazolo (160/800 mg due volte al dì per 3 giorni)
- Levofloxacina 500 mg 1 volta al dì per 3 giorni

Cicli brevi di antibiotici (terapia short term) si sono dimostrati molto efficaci nel trattamento delle cistiti acute non complicate e sono da preferire per la migliore compliance, il loro basso costo e la bassa frequenza di effetti indesiderati (61). Le aminopenicilline, oppure le cefalosporine, non dovrebbero essere utilizzate nel trattamento a breve termine (62). La strategia terapeutica per le pielonefriti viene impostata in base al quadro clinico e gravità. Se è presente un quadro clinico lieve o moderato si preferisce la somministrazione orale di fluorochinolone per 7-10 giorni se nella comunità in questione è riportata una bassa frequenza di resistenza di *Escherichia coli*. Se il quadro clinico invece è grave si prediligono fluorochinoloni per via endovenosa (51). In caso di urosepsi (*Escherichia coli*), si suggeriscono Cefalosporine di terza o quarta generazione, fluorochinolone anti-*Pseudomonas*, acilaminopenicilline/BLI, carbapenemici. La terapia deve protrarsi 3-5 giorni dopo lo sfebbramento e la rimozione o il controllo dei fattori complicanti della sepsi (62).

## **2. SCOPO DELLA TESI**

La PCT è un marcatore specifico di gravi infezioni batteriche e sepsi, utilizzato in laboratorio soprattutto per le situazioni di urgenza. La gestione ottimizzata delle metodiche, dei pazienti e delle diagnosi è un obiettivo sempre rincorso nella biochimica clinica. Come dimostrato dalla letteratura, la procalcitonina si è resa utile per valutare la gravità delle infezioni batteriche e per distinguerle da quelle virali. Inoltre di particolare importanza è l'applicazione di algoritmi di intervento per approcciare la terapia antibiotica dall'avvio, alla prosecuzione e all'interruzione guidati dalle concentrazioni di PCT sierica. L'utilizzo della procalcitonina per il processo decisionale dell'antibioticoterapia ha migliorato le cure fornite ai pazienti e ridotto l'uso scorretto di antibiotici e lo sviluppo di resistenza ai farmaci. Oggi l'antibiotico – resistenza è uno dei principali problemi di sanità pubblica a livello mondiale, tanto che l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha stipulato delle raccomandazioni e strategie con il fine di contenere il fenomeno. Nelle infezioni urinarie la terapia antibiotica è generalmente iniziata empiricamente e la scelta del farmaco richiede una corretta conoscenza dei microrganismi coinvolti nelle infezioni del tratto urinario e anche dei modelli di resistenza. Il lavoro di questa tesi ha valutato la possibilità di individuare la presenza di un'infezione delle vie urinarie, attraverso la determinazione della PCT sierica. Le osservazioni fatte dalle numerose ricerche sono relative prevalentemente al ruolo predittivo della PCT nelle infezioni polmonari e/o sepsi. La diagnosi positiva delle IVU è oggi affidata agli esami delle urine e dell'urinocoltura. Quest'ultima è determinante per la terapia, in quanto identifica il microrganismo responsabile dell'infezione e se seguita dall'antibiogramma può rivelarsi utile per la scelta della terapia antibiotica. Di conseguenza è stato valutato di misurare le concentrazioni di PCT nei sieri di pazienti

con urinocolture positive e quindi identificare il ruolo predittivo o meno delle infezioni urinarie attraverso questo marcatore. L'andamento della procalcitonina è stato anche valutato in caso di diagnosi negativa delle infezioni delle vie urinarie per poter confrontare i valori anche in urinocolture negative.

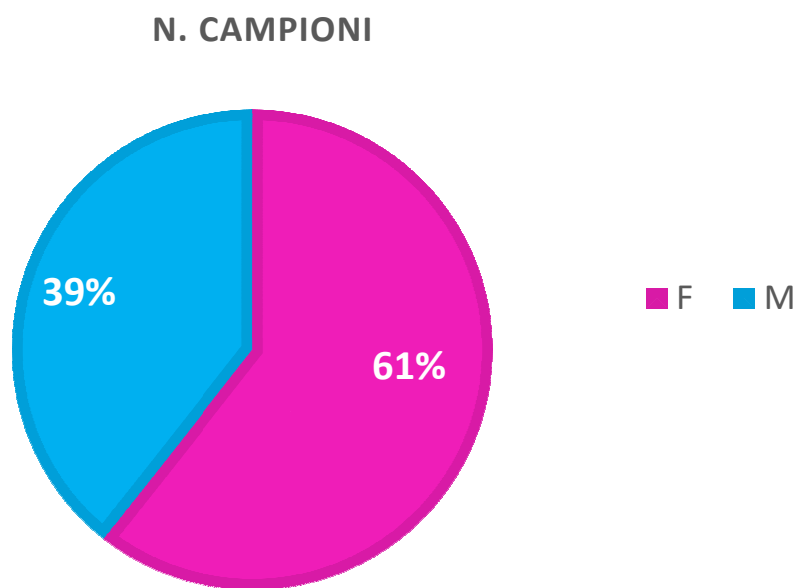
### **3. MATERIALI E METODI**

Nel periodo compreso tra giugno 2019 e febbraio 2020 è stata valutata una popolazione eterogenea di 94 campioni di età compresa tra i 23 e i 97 anni, le cui urinocolture eseguite presso il *laboratorio di analisi cliniche Biolab* sono risultate positive. Su questi campioni è stata verificata la presenza in laboratorio anche del siero di sangue e su di esso è stato poi eseguito il dosaggio della procalcitonina.

#### **3.1 CAMPIONI**

### 3.1.1 CAMPIONI POSITIVI ALL'URINOCOLTURA

I campioni che sono stati inclusi in questo studio sono 94. Nel periodo di presenza in laboratorio sono stati reclutati i pazienti le cui urinocolture sono risultate positive, previa presenza anche del siero. Di 94 campioni, 63 derivano da pazienti di genere



femminile e 31 da pazienti maschi(*FIGURA10*).

*FIGURA10: PREVALENZA DEL GENERE FEMMINILE E MASCHILE*

In base all'età:

- 8 campioni appartengono alla fascia 21-30 anni,
- 18 campioni alla fascia 31-40 anni,
- 9 campioni alla fascia 41-50 anni,
- 12 campioni alla fascia 51-60 anni,
- 11 campioni alla fascia 61-70 anni,
- 18 campioni alla fascia 71-80 anni,



- 18 campioni alla fascia > 80 anni.

I campioni sono eterogenei anche in base alla positività a diversi tipi di microrganismi:

- 45 campioni positivi ad *Escherichia coli*
- 20 campioni positivi ad *Enterococcus faecalis*
- 10 campioni positivi a *Klebsiella pneumoniae*
- 8 campioni positivi a *Proteus mirabilis*
- 3 campioni positivi a *Streptococcus agalctiae*
- 2 campioni positivi a *Staphylococcus aureus*
- 2 campioni positivi a *Staphylococcus Epidermidis*
- 2 campioni positivi a *Sfingomonas Paucimobilis*
- 1 campione positivo a *Pseudomonas Aeruginosa*
- 1 campione positivo a *Citrobacter Freundi*

### 3.1.2 CAMPIONI NEGATIVI ALL'URINOCOLTURA

Dal database del laboratorio Biolab è stato possibile estrapolare anche un gruppo di pazienti che dal 1° gennaio 2019 al 1° novembre 2019 avevano fatto le analisi sia di urinocoltura che di PCT. In questo gruppo si è riusciti a verificare la presenza di urinocolture negative e dosaggio della procalcitonina per 39 campioni.

## 3.2 FASE PREANALITICA

La fase preanalitica, che include la preparazione dei campioni di sangue, rappresenta una prima fase essenziale per lo svolgimento delle analisi mediche. Le provette di sangue appena prelevate devono essere inizialmente lasciate a temperatura ambiente per

almeno 30 minuti per far sì che avvenga la coagulazione. Alcuni campioni, specialmente quelli dei pazienti sottoposti a terapia trombolitica o anticoagulante, possono mostrare tempi di coagulazione aumentati. Un tempo di coagulazione insufficiente può portare alla formazione di fibrina con micro-coaguli che sono invisibili a occhio nudo. La presenza di fibrina o particelle sospese può provocare risultati errati(63). Atteso il tempo di coagulazione, si procede con la centrifugazione del campione di sangue, a 3600 rpm per 10 minuti a 22°C. A seguito della centrifugazione nei campioni avremo la separazione del coagulo dal siero(FIGURA 11) (64).



***FIGURA 11: CAMPIONI DI SIERI CENTRIFUGATI***

*<https://www.vivodibenessere.it/prp-il-trattamento-che-ringiovanisce-pelle-e-capelli/>*

Raccogliere il siero facendo un aliquota di 500 µl in provette da congelamento. I campioni possono essere conservati per un massimo di 48 ore a 2-8°C nelle provette tappate, oppure possono essere congelati a temperature di  $-25 \pm 6$  ° C. Il congelamento dei campioni per 6 mesi non ha mostrato alcuna influenza sulla qualità dei risultati. Sono stati validati 3 cicli di congelamento/scongelo.

### **3.3 FASE ANALITICA**

Per il dosaggio di PCT i materiali utilizzati sono stati:

- Pipetta con puntale monouso con capacità di 2 ml e 200 µl
- Strumento della famiglia VIDAS®
- Kit VIDAS® B.R.A.H.M.S. PCT™

### 3.3.1 MINI VIDAS®

Lo strumento utilizzato è stato il mini VIDAS®(FIGURA 12), strumento compatto da banco e automatizzato per diagnosi clinica. Il mini VIDAS® è un analizzatore automatico multiparametrico compatto basato sui principi della tecnologia ELFA(Enzyme Linked Fluorescent Assay). Questo strumento è in grado di processare campioni singoli e lotti per tutti i tipi di analisi: sierologiche, immunoistochimiche e rilevamento di antigeni. È possibile utilizzare in contemporanea 10 diversi analiti. Tutte le fasi dei test immunoenzimatici (pipettaggio, incubazione, lavaggio e lettura) vengono eseguite in automatico in uno spazio minimo, e i risultati vengono inviati immediatamente alla stampante integrata. L'unità di cui è formato è completamente indipendente: modulo analitico con 12 posizioni / 2 sezioni indipendenti ciascuna da 6 posizioni. È composto anche dal monitor, stampante e tastiera che sono integrati allo strumento. Ha un peso di circa 40 kg ed è di piccole dimensioni: alto circa 58 cm, profondo 55 cm e largo 45 cm (65).



*FIGURA 12: MINI VIDAS® <https://www.biomerieux-diagnostics.com/mini-vidasr>*

### 3.3.2 KIT VIDAS® B.R.A.H.M.S PCT™

Il Kit VIDAS® B.R.A.H.M.S PCT™ è un test automatico per la determinazione dei livelli di procalcitonina (PCT) nel siero o nel plasma umano.

#### 3.3.2.1 PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il principio del dosaggio associa un metodo sandwich immuno-enzimatico a una fase ad una rivelazione di fluorescenza (ELFA). Il cono SPR®, monouso, serve sia da fase solida che da sistema di pipettamento. Gli altri reagenti della reazione immunologica sono pronti per l'uso e predistribuiti nelle cartucce. Tutte le fasi del test vengono eseguite automaticamente dallo strumento. Il campione viene prelevato e trasferito nel pozzetto contenente gli anticorpi anti-procalcitonina umana marcati con fosfatasi alcalina (coniugato). La miscela campione/coniugato viene aspirata/rilasciata parecchie volte dal cono. Questa operazione consente all'antigene di legarsi da una parte alle immunoglobuline fissate sul cono e, dall'altra parte, al coniugato, formando così un sandwich. I componenti non legati vengono eliminati nelle fasi di lavaggio. Vengono quindi eseguite in successione due fasi di rivelazione. In ogni fase, il substrato (4-Metilumbelliferilfosfato) viene aspirato/rilasciato dal cono. L'enzima del coniugato catalizza la reazione di idrolisi di questo substrato in un prodotto (4-Metilumbelliferone), la cui

fluorescenza viene misurata a 450 nm. Il valore del segnale di fluorescenza è proporzionale alla concentrazione dell'antigene presente nel campione. Al termine del test i risultati vengono calcolati automaticamente dallo strumento in rapporto a due curve di calibrazione memorizzate, corrispondenti alle due fasi di rivelazione. Un valore soglia di fluorescenza determina la scelta della curva di calibrazione da utilizzare per ogni campione. I risultati vengono poi stampati.

### 3.3.2.2 I REATTIVI

#### - CARTUCCE PCT:

La cartuccia è composta da 10 pozzetti ricoperti da un foglio di alluminio sigillato ed etichettato (TABELLA 1). Sull'etichetta è riportato un codice a barre che corrisponde al codice del test, al numero di lotto utilizzato ed alla data di scadenza della confezione. L'etichetta, in corrispondenza del primo pozzetto, è ritagliata per facilitare l'introduzione del campione. L'ultimo pozzetto di ogni cartuccia è una cuvetta che consente la lettura in fluorimetria. I pozzetti intermedi contengono i diversi reagenti necessari al test.

<b>Posizione del pozzetto</b>	<b>Reagenti</b>
1	Pozzetto del campione
2 -3 - 4	Pozzetti vuoti
5	Coniugato: immunoglobuline monoclonali di topo anti-procalcitonina umana coniugate con fosfatasi alcalina + conservante (400 µl)
6 -7 - 8	TRIS NaCl Tween (pH 7,3) + conservante (600 µl)
9	Pozzetto vuoto

10	Cuvetta di lettura contenente il substrato: 4-Metil-umbelliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina DEA (0,62 mol/l o 6,6%, Ph 9,2) + 1 g/l di sodio azide (300 µl)
----	--

TABELLA 1: COMPOSIZIONE DELLA CARTUCCIA

- CONI PCT SPR®

Durante la produzione, il cono viene sensibilizzato con immunoglobuline monoclonali di topo anti-procalcitonina umana. Ogni cono è identificato con il codice PCT. Devono essere prelevati soltanto il numero di coni necessari dal sacchetto e poi questo dovrà essere richiuso accuratamente dopo l'apertura.

- CONTROLLO C1 e C2 LIOFILIZZATI

I controlli devono essere utilizzati all'apertura di ogni nuova confezione per verificare che i reattivi non siano alterati. Anche ogni calibrazione deve essere verificata tramite questi controlli. Affinchè lo strumento possa verificare il valore dei controlli, occorre identificare con C1 e C2. Se i valori del controllo risultano al di fuori dei valori attesi, i risultati non possono essere validati.

Ricostituire con 2 ml di acqua distillata. Attendere 5-10 minuti, quindi agitare. Stabile dopo la ricostituzione per 8 ore a 2-8°C o fino a data di scadenza indicata sulla confezione a -25±6°C. Sono possibili 5 cicli di congelamento/scongelo. Tampone TRIS NaCl (pH 7,3) + PCT umana ricombinante + conservanti.

- CALIBRATORE PCT S1 e S2 LIOFILIZZATI

La calibrazione, mediante questi due calibratori, deve essere effettuata all'apertura di ogni nuovo lotto, dopo aver memorizzato le specifiche del lotto stesso, e deve essere ripetuta ogni 28 giorni. Questa operazione fornisce allo strumento curve di calibrazione specifiche e compensa le possibili variazioni minori nel segnale del test per tutta la durata del kit. I calibratori S1 e S2 devono essere utilizzati in doppio nella stessa serie. I valori del calibratore devono essere compresi nei limiti del valore di fluorescenza relativa fissati. In caso contrario si dovrà eseguire una nuova calibrazione con S1 e S2.

Ricostituire con 2 ml di acqua distillata. Attendere 5-10 minuti, quindi agitare. Stabile dopo la ricostituzione per 8 ore a 2-8°C o fino a data di scadenza indicata sulla confezione a  $-25\pm 6^{\circ}\text{C}$ . Sono possibili 5 cicli di congelamento/scongelo. Tampone TRIS NaCl (pH 7,3) + PCT umana.

### 3.3.3 PROCEDIMENTO

1. prelevare dal frigorifero i reattivi necessari
2. Utilizzare la cartuccia PCT ed un cono PCT per ogni campione da analizzare.  
Dopo aver prelevato i coni necessari, verificare di aver richiuso correttamente il sacchetto.
3. Il test è identificato sullo strumento con il codice "PCT". I calibratori, identificati obbligatoriamente con S1 e S2 devono essere inseriti in doppio.
4. Omogenizzare i calibratori e i controlli con un agitatore
5. Verificare che i campioni, i calibratori e i controlli siano privi di bolle.
6. Inserire nello strumento i coni e le cartucce. Verificare la concordanza dei codici

(colori e lettere) dei coni e delle cartucce(*FIGURA 13*)



*FIGURA 13: CARICAMENTO DEI CONI E AVVIO ANALISI*

<https://www.biomerieux-diagnostics.com/mini-vidasr>

7. Acquisire l'ID del paziente mediante la pistola per codici a barre nello strumento miniVIDAS
8. Agitare il campione di siero prima di prelevarlo.
9. Impostare la misura della pipetta di 200  $\mu$ l.
10. Prelevare 200  $\mu$ l di siero mediante la pipetta
11. Inserire nel pozzetto in posizione 1 della cartuccia il campione di siero
12. Ripetere tali operazioni sopra descritte per il numero delle posizioni disponibili
13. Avviare l'analisi mediante il tasto "Start"
14. Richiudere i contenitori dei calibratori e dei controlli e riposizionarli alla temperatura richiesta.
15. Attendere 20 minuti per i risultati
16. Al termine dell'analisi estrarre dallo strumento coni e cartucce ed eliminarli in un recipiente idoneo.

### 3.3.4 RISULTATI ED INTERPRETAZIONE

Il sistema informatico integrato allo strumento analizza i risultati in automatico in



rapporto a due curve di calibrazione memorizzate e sono espressi in ng/ml. In assenza di uno standard internazionale, VIDAS® B.R.A.H.M.S PCT™ è stato calibrato in rapporto ad un pannello interno di sieri umani con concentrazioni note di procalcitonina. Nel

<b>Concentrazione di PCT</b>	<b>Analisi</b>	<b>Raccomandazione</b>	<b>Nota</b>
------------------------------	----------------	------------------------	-------------

caso di monitoraggio di pazienti, si raccomanda di utilizzare una stessa tecnica di dosaggio della PCT. Negli studi eseguiti con il VIDAS® B.R.A.H.M.S. PCT™ l'intervallo di misura della procalcitonina è 0.05-200 ng/ml. Quindi il limite di quantificazione (LoQ), cioè la concentrazione di PCT più bassa misurata con una precisione inter-centro con coefficiente di variazione del 20%, è di 0,05 ng/ml. In accordo con i dati in letteratura (9) (25):

- la concentrazione di PCT < 0,5 ng/ml rappresenta un debole rischio di sepsi grave e/o shock settico.
- La concentrazione di PCT > 2,0 ng/ml rappresenta un rischio elevato di sepsi grave e/o shock settico.

Tuttavia le concentrazioni < 0,5 ng/ml non permettono di escludere un'infezione, dato che alcune infezioni localizzate (senza che ci siano sintomi sistemici) possono essere associate a queste basse concentrazioni, come pure nel caso di concentrazioni sistemiche nascenti (< 6 ore). Per quanto riguarda il processo decisionale sulla terapia antibiotica, utilizzando VIDAS® B.R.A.H.M.S. PCT™ sono stati convalidati i seguenti cut-off (63)(TABELLA 2)

< 0,10 ng/ml	Indica assenza di infezione batterica	Terapia antibiotica sconsigliata	<p>La terapia antibiotica dovrebbe essere considerata per:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Instabilità respiratoria o emodinamica, gravi comorbilità, ricovero in rianimazione</li> <li>• PCT &lt; 0,1 ng/ml: CAP con PSI V o CURB-65&gt;3, COPD con GOLD IV</li> <li>• PCT 0,1-0,25 ng/ml: CAP con PSI IV e V o curb-65 &gt;2, COPD con GOLD III e IV</li> </ul>
0,10 – 0,25 ng/ml	Infezione batterica improbabile	Terapia antibiotica sconsigliata	
0,26 – 0,50 ng/ml	Infezione batterica possibile	Terapia antibiotica consigliata	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I campioni di follow-up possono essere esaminati ad intervalli regolari e la terapia antibiotica può essere interrotta usando gli stessi valori di cut-off indicati in questa tabella</li> <li>• Se la PCT rimane elevata, considerare il fallimento del trattamento</li> </ul>
> 0,50 ng/ml	Indicativo di presenza di infezione batterica	Terapia antibiotica fortemente consigliata	

**TABELLA 2:** VALORI ATTESI CON VIDAS® B.R.A.H.M.S. PCT™

*Biomerieux. Ref 30 450. Vidas B.R.A.H.M.S PCT. 2016*

## 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

### 4.1 RISULTATI

Nei 94 campioni, appartenenti al gruppo sperimentale per valutare i livelli di procalcitonina sierica con urinocolture positive, sono stati rilevati i seguenti risultati(TABELLA 3)(FIGURA 14):

numero campioni	valori di PCT
90	< 0,10 ng/ml
2	0,10 – 0,25 ng/ml
1	0,26 – 0.5 ng/ml
1	> 0,25 ng/ml

TABELLA 3: VALORI DELLA PCT NEI CAMPIONI SPERIMENTALI

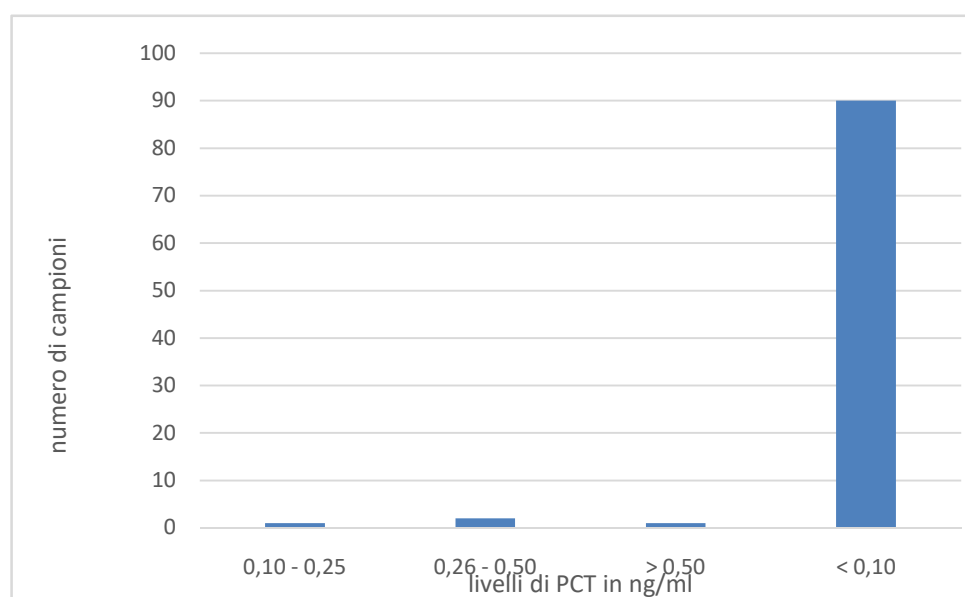


FIGURA 14: DISTRIBUZIONE DEI LIVELLI DI PCT NEI CAMPIONI  
SPERIMENTALI

Le infezioni delle vie urinarie che hanno interessato i campioni sono derivate da diversi microrganismi:

- Le infezioni da *Escherichia Coli* sono state rilevate in 45 campioni: di questi 45, 15 sono maschi (*TABELLA 5*) e 30 sono femmine(*TABELLA 4*). In un soggetto di 68 anni del sottogruppo maschile è stato dosato un valore di procalcitonina di 0,1 ng/ml, con valori di urinocoltura di  $10^6$  CFU/ml. Nel campione femminile associato alla positività ad E.coli, una paziente di 83 anni aveva PCT pari 0,05 ng/ml e un'altra paziente di 80 anni pari a 0,53 ng/ml, entrambe con  $10^6$  CFU/ml.

ETA'	CFU/ml	PCT in ng/ml
25	10 <sup>5</sup>	< 0,05
26	10 <sup>4</sup>	< 0,05
33	10 <sup>6</sup>	< 0,05
36	10 <sup>6</sup>	< 0,05
37	10 <sup>6</sup>	< 0,05
38	10 <sup>6</sup>	< 0,05
38	10 <sup>5</sup>	< 0,05
42	10 <sup>6</sup>	< 0,05
42	10 <sup>5</sup>	< 0,05
51	10 <sup>6</sup>	< 0,05
52	10 <sup>6</sup>	< 0,05
56	10 <sup>6</sup>	< 0,05
59	10 <sup>5</sup>	< 0,05
60	10 <sup>6</sup>	< 0,05
67	10 <sup>6</sup>	< 0,05
69	10 <sup>6</sup>	< 0,05
69	10 <sup>5</sup>	< 0,05
71	10 <sup>6</sup>	< 0,05
75	10 <sup>6</sup>	< 0,05
80	10 <sup>6</sup>	0,53
81	10 <sup>6</sup>	< 0,05
82	10 <sup>6</sup>	< 0,05
83	10 <sup>6</sup>	0,05
83	10 <sup>6</sup>	< 0,05
83	10 <sup>5</sup>	< 0,05
84	10 <sup>6</sup>	< 0,05
85	10 <sup>6</sup>	< 0,05
89	10 <sup>5</sup>	< 0,05
92	10 <sup>6</sup>	< 0,05
97	10 <sup>5</sup>	< 0,05

ETA'	CFU/ml	PCT in ng/ml
30	10 <sup>5</sup>	< 0,05
38	10 <sup>5</sup>	< 0,05
38	10 <sup>6</sup>	< 0,05
58	10 <sup>5</sup>	< 0,05
58	10 <sup>6</sup>	< 0,05
63	10 <sup>5</sup>	< 0,05
68	10 <sup>6</sup>	0,1
70	10 <sup>6</sup>	< 0,05
70	10 <sup>5</sup>	< 0,05
71	10 <sup>6</sup>	< 0,05
74	10 <sup>6</sup>	< 0,05
75	10 <sup>6</sup>	< 0,05
76	10 <sup>6</sup>	< 0,05
76	10 <sup>6</sup>	< 0,05
77	10 <sup>6</sup>	< 0,05

*TABELLA 5: VALORI DEI CAMPIONI DI SESSO MASCHILE POSITIVI A E.COLI*

*TABELLA 4: VALORI DEI CAMPIONI DI SESSO FEMMINILE POSITIVI A E.COLI*

- All'*Enterococcus faecalis* sono risultati positivi 20 pazienti(TABELLA 6): di questi soltanto 4 maschi. Tra le pazienti femmine è presente una paziente in gravidanza e una paziente di 34 anni con valore di PCT 0,07 ng/ml e 10<sup>5</sup> CFU/ml.

SESSO	ETA'	CFU/ml	PCT in ng/ml
F	29	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	29	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	31	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	34	10 <sup>6</sup>	< 0,05
F	34	10 <sup>5</sup>	0,07
F	35	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	35	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	38	10 <sup>6</sup>	< 0,05
F	44	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	46	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	46	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	46	10 <sup>4</sup>	< 0,05
F	48	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	56	10 <sup>5</sup>	< 0,05
F	65	10 <sup>6</sup>	< 0,05
F	86	10 <sup>5</sup>	< 0,05
M	81	10 <sup>6</sup>	< 0,05
M	84	10 <sup>6</sup>	< 0,05
M	78	10 <sup>5</sup>	< 0,05
M	80	10 <sup>5</sup>	< 0,05

➔ GRAVIDANZA

**TABELLA 6: VALORI DEI CAMPIONI POSITIVI A ENTEROCOCCUS FAECALIS**

- 10 tra i campioni di urinocoltura sono positivi al *Klebsiella pneumoniae* di questi la metà sono femmine e l'altra metà maschi (TABELLA 7), di cui un campione di 76 anni con PCT 0,06 ng/ml e un altro paziente di 77 anni con PCT 0,26 ng/ml, entrambi con valore di CFU/ml di 10<sup>6</sup>.
- Al batterio *Proteus mirabilis* sono risultati positivi 8 casmpioni (TABELLA 8). Tra questi un uomo di 87 anni aveva concentrazione di PCT di 0,08 ng/ml.
- 3 campioni sono risultati positivi allo *Streptococco agalactiae*, tutti e tre con valori di PCT < 0,05 ng/ml.
- 2 pazienti positivi al batterio *Staphylococcus aureus* con PCT < 0,05 ng/ml

F	36	10 <sup>5</sup>	< 0,05	-	ETA'	PCT in ng/ml
F	40	10 <sup>5</sup>	< 0,05		8	< 0,05
F	71	10 <sup>5</sup>	< 0,05		17	< 0,05
F	80	10 <sup>6</sup>	< 0,05			
...	...	...	...			
M	77	10 <sup>6</sup>	0,06		47	< 0,05
M	78	10 <sup>6</sup>	0,26		54	< 0,05
					55	< 0,05

- 2 campioni positivi a *Staphylococcus epidermidis* con PCT < 0,05 ng/ml
- 2 campioni positivi a *Sfingomonas paucimobilis* con PCT < 0,05 ng/ml
- 1 campione positivo a *Pseudomonas aeruginosa* con PCT < 0,05 ng/ml
- 1 campione positivo a *Citrobacter freundis* con PCT < 0,05 ng/ml

Il gruppo di controllo (pazienti con urinocolture negative) di 39 campioni è formato dal 64,7% di pazienti femmine (TABELLA 9) e il 35,3% di pazienti maschi (TABELLA 10). I valori della PCT dosata nel siero di questo gruppo sono < 0,05 ng/ml, ad eccezione di una donna di 51 anni in cui la concentrazione di procalcitonina è di 0,12 ng/ml.

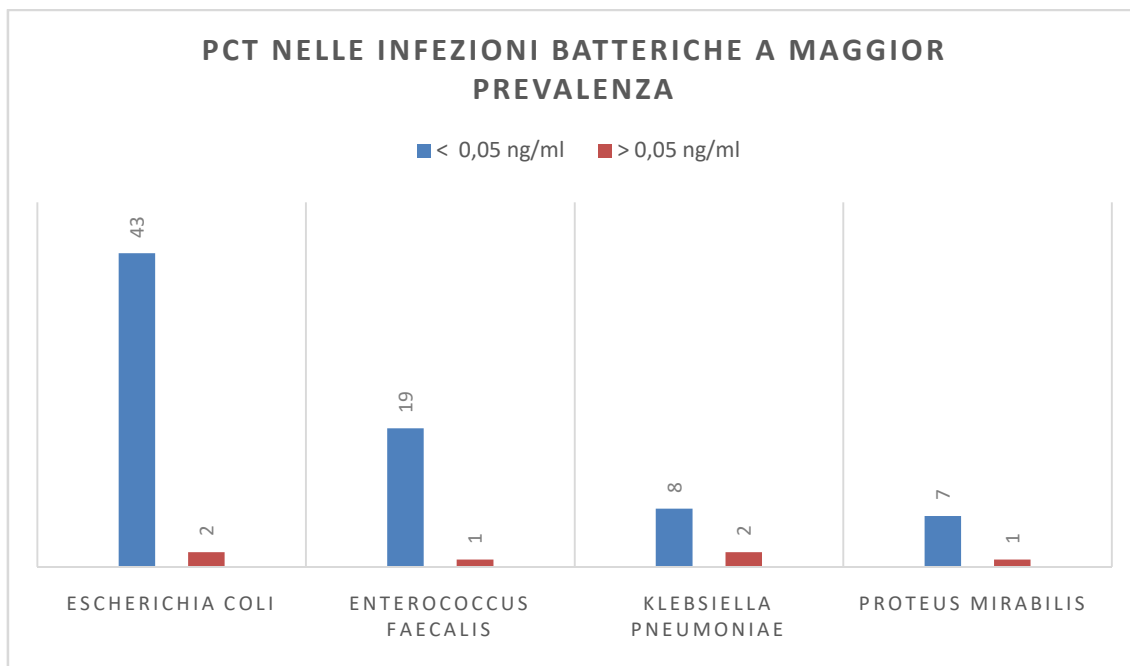
ETA'	PCT in ng/ml
23	< 0,05
27	< 0,05
34	< 0,05
40	< 0,05
40	< 0,05
41	< 0,05
43	< 0,05
48	< 0,05
48	< 0,05
51	0,12
51	< 0,05
60	< 0,05
60	< 0,05
62	< 0,05
65	< 0,05
65	< 0,05
70	< 0,05
70	< 0,05
84	< 0,05
85	< 0,05
87	< 0,05

58	< 0,05
66	< 0,05
66	< 0,05
68	< 0,05
68	< 0,05
70	< 0,05
70	< 0,05
76	< 0,05
92	< 0,05



## 4.2 DISCUSSIONE

Dal test VIDAS® B.R.A.H.M.S. PCT™ che permette il dosaggio della PCT sierica umana nel siero con la tecnica ELFA, in abbinamento al test di urinocoltura soggetto dello studio, sono emerse diverse osservazioni. Per quanto riguarda la misurazione della procalcitonina, nel gruppo di controllo dei 94 pazienti positivi al test di urinocoltura, essa è risultata non avere corrispondenza di positività di infezione con il cut-off di 0,5 ng/ml. Nei 94 campioni sperimentali, il 99%, la concentrazione di procalcitonina misurata è < 0,05 ng/ml. L'elevazione dei livelli di PCT sierica, in caso di infezioni del tratto urinario non è stata quindi evidenziata, con sensibilità del 98%. Anche nei pazienti con urinocolture negative, e quindi con assenza di infezioni urinarie, la procalcitonina calcolata si è dimostrata avere in tutti i soggetti concentrazioni < 0,5 ng/ml. Non si riscontrano evidenze sull'accoppiamento di questi due test per la clinica di questo laboratorio. Però è possibile confermare come i valori al di sotto di 0,05 ng/ml possano far escludere la presenza delle infezioni del tratto urinario. Nei campioni sperimentali positivi alle infezioni batteriche si è riscontrata una prevalenza del 47,9% di infezioni causate da *Escherichia coli*, seguono poi quelle da *Enterococcus faecalis* con prevalenza del 21,2%, mentre la prevalenza di *Klebsiella pneumoniae* è del 10,6%, a cui segue quella dell'8,5% di *Proteus Mirabilis*(FIGURA 15). In questi quattro sottogruppi quindi si è avuta una media dell'11,7% di soggetti con valori di PCT > 0,05 ng/ml. Ma ricordando i valori di cut-off delle linee guida dello strumento e tecnica utilizzata, quelli indicativi di presenza batterica erano > 0,5 ng/ml.



*FIGURA 15: PREVALENZA DEI PRINCIPALI CEPPI BATTERICI*

## 4.3 CONCLUSIONI

La procalcitonina ha mostrato negli ultimi anni un crescente interesse nei clinici, soprattutto per la diagnosi precoce di sepsi. La sepsi nelle sue varie forme è una patologia con alta incidenza e tasso di mortalità. La maggior frequenza della presenza di microrganismi multiresistenti è uno dei fattori che contribuisce all'aumento dell'incidenza della sepsi. Per il laboratorio la PCT è diventato un marcatore importante per valutare la progressione verso una sepsi o sepsi grave e per differenziare le infezioni di tipo batterico da quelle di tipo virale. Le infezioni di tipo urinario sono di comune diffusione e sono per la maggior parte dei casi determinate da microrganismi batterici. Il

golden standard per la diagnosi delle IVU è l'urinocoltura. Questo esame permette di isolare il batterio responsabile di infezione e valutarne insieme all'antibiogramma la sensibilità o resistenza agli antibiotici. A seconda del batterio coinvolto gli esiti delle urinocolture possono richiedere dei tempi che variano da 24 a 48 ore. Per questo motivo dal punto di vista terapeutico si tende ad iniziare un trattamento antibiotico empirico, che può risultare superfluo in casi di mancata infezione. Sull'influenza delle dimostrazioni degli studi in cui è evidente come il ruolo della PCT sierica abbia portato alla diminuzione dell'uso di antibiotici per il suo ruolo guida nel processo decisionale del trattamento di infezioni batteriche pressoché polmonari, si è voluto studiare l'andamento della procalcitonina in infezione del tratto urinario. La ricerca fatta ha dimostrato come non sia possibile bypassare il golden standard dell'urinocoltura utilizzando VIDAS® B.R.A.H.M.S. PCT™ nei pazienti di tipo domiciliare. La PCT, come rilevabile dalla letteratura, è un biomarcatore di sepsi e o shock settico, per cui sarebbe stato utile poter valutare le concentrazioni di PCT in pazienti ricoverati in ospedale o in terapia intensiva, poiché sono considerati critici per la possibilità di contrarre infezioni batteriche anche delle vie urinarie. Ancora meglio sarebbe poter analizzare gruppi di pazienti con infezioni nosocomiali, gruppi di pazienti con infezioni di tipo assistenziale e gruppi di pazienti con infezioni complicate e non complicate per poter mostrare quali evidenze possano esserci sul ruolo della PCT.

## 5. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. O'Neill W J, Jordan M H, Lewis M S, Snider R H, Moore Ch.F , Becker K L. Serum calcitonin may be a marker for inhalation injury in burns. *J. Burn Care Rehabil* 1992; 13/6: 605-616
2. Merlotti C, Luraschi P. Procalcitonina: aspetti biochimici, metabolici, clinici ed analitici. *Biochim Clin* 2004; 28: 257-267
3. Neupert K, Bestimmung der Konzentrationen von Procalcitonin (PCT) im ultrasensitiven Bereich bei ambulanten und fruhstationaren patienten dissertation, Universitat Jena , Germany 2009
4. Müller B, White J C, Nylén E S, et al. Ubiquitous expression of the Calcitonin-I gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 396-404
5. Casado F J, Quiros A. Procalcitonin: a new marker of bacterial infection Procalcitonin. A new marker for bacterial infection. *Annals of Pediatrics*. 2001; 5/1: 69-73
6. Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, Stonane E, Vogelsang H, Junker U, Jager L, Reinhart K. Procalcitonin Expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J Lab Clin Med* 1999; 134/1: 49-55
7. Christ-Crain M, Muller B. Procalcitonin in bacterial infections -hype, hope, more or less? *Swiss Medical Weekly* 2005; 135/31-32: 451-460
8. Meisner M. Procalcitonin: experience with a new diagnostic tool for bacterial infection and systemic inflammation *J Lab Med* 1999; 23: 263-72

9. Müller B, Becker KL. Procalcitonin: how a hormone became a marker and mediator of sepsis. *Swiss Med Wkly*. 2001; 131: 595–602
10. Wrenger S, Kähne T, Bohuon C, Weglöhner W, Ansorge S, Reinhold D. Amino-terminal truncation of procalcitonin, a marker for systemic bacterial infections, by dipeptidyl peptidase IV (DP IV) *FEBS Lett*. 2000; 466: 155–159
11. Linscheid P, Seboek D, Schaer J D, Zulewski H, Keller U, Müller B. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and macrophage-activated adipocytes. *Crit Care Med*. 2004; 32: 1715–1721
12. Meisner M, Müller V, Khakpour Z, Toegel E, Redl H. Induction of procalcitonin and proinflammatory cytokines in an anheptic baboon endotoxin shock model. *Shock*. 2003; 19: 187–190
13. Wiedermann F J, Kaneider N, Egger P, Tiefenthaler W, Wiedermann CJ, Lindner KH, et al. Migration of human monocytes in response to procalcitonin. *Crit Care Med*. 2002; 30: 1112–1117
14. Hoffmann G, Totzke G, Seibel M, Smolny M, Wiedermann F J, Schobersberger W. In vitro modulation of inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide synthesis by procalcitonin. *Crit Care Med*. 2001; 29: 112–116
15. Hoffmann G, Czechowski M, Schloesser M, Schobersberger W. Procalcitonin amplifies inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in vascular smooth muscle cells. *Crit Care Med*. 2002; 30: 2091–2095

16. Meisner M. Procalcitonin-Biochemistry and clinical diagnosis. Uni-Med 2010
17. Bone R C, Balk R A, Cerra F B, Dellinger R P, Fein A M, Knaus W A, Shein R M, Sibbald W J. American College of Chest Physicians/Society Of Critical Care Medicine. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit. Care Med 1992; 20: 864-874
18. Tsiotou A G, Sakorafas G H, Anagnostopoulos G et al. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. Med Sci Monit 2005; 11: 76-85.
19. Angus D C, Linde-Zwirble W T, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Critical Care Medicine. 2001; 29/7: 1303-1310
20. World Sepsis Declaration. 2012 [www.world-sepsis-day.org](http://www.world-sepsis-day.org)
21. Dellinger L P, Levy M M, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup; Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. Intensive Care Med 2013; 39: 165-228
22. Gattuso G, Benanzi D, Ceruti R, Chiarelli C, La gestione precoce della sepsi: utilizzo di linee-guida ospedaliere. Esperienza dell' Azienda Ospedaliera "C. Poma" di Mantova. The early management of the sepsis: use of a guidelines document in hospital. Experience at "Carlo Poma" hospital in Mantova. Recenti progressi in Med. 2015: 106:250

23. Miller R R III, Dong L, Nelson NC, et al. Intermountain Healthcare Intensive Medicine Clinical Program. Multicenter implementation of a severe sepsis and septic shock treatment bundle. *Am J Resp Crit Care Med* 2013; 188: 77-82
24. Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, et al. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care Medicine* 2006; 34/7 :1996-2003
25. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2001; 164/3: 396-402
26. Muller B, Becker K L, et al. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in medical intensive care unit. *Crit. Care Med.* 2000; 28: 977-983
27. Meisner M, Rotgeri A, Brunkhorst F M. A semi-quantitative point-of-care test for the measurement of procalcitonin. *J Lab Med* 2000; 24:076-085
28. Schuetz P, Chiappa V, Briel et al. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms. *Archives of Internal Medicine* 2011; 171/15: 1322-1331
29. Sandifer J P, Jones A E. Can procalcitonin levels guide antibiotic therapy in bacterial infections and reduce antibiotic overconsumptions without having a negative effect on clinical outcomes? *Ann Emerg Med.*2012; 60/3 :370-371

30. Broad P M, Symes A J, Thakker R V, Craig R K: Structure and methylation of the human calcitonin alpha-CGRP gene. *Nucleic Acids Res.*1989; 17: 6999-7051
31. Silomon M, Bach F, Ecker D, Graeter T, Grundmann U, Larsen R. Procalcitonin after Extracorporeal circulation. Synthesis in the hepatosplanchnic region. *Anaesthesist* 1999; 48: 395-398
32. Nobre V, Harbarth S, Graf J D, Rohner P, Pugin J. Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial. *Am J Respir Care Med.* 2008; 177/5: 498-505
33. Burkhardt O, Ewig S, et al. Procalcitonin guidance and reduction of antibiotic use in acute respiratory tract infection. *Eur Respir J.* 2010; 36: 601-607
34. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, et al, Effect of Procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet.* 2004; 363: 600-607
35. Schuetz P, Briel M, Christ-Crain M, et al. Procalcitonin to Guide Initiation and Duration of Antibiotic Treatment in Acute Respiratory Infections: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *Clin Infect Dis* 2012; 55/5: 651-662
36. Schuetz P, Muller B et al. Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 9:CD0077498



37. Schuetz P, Chiappa V, Briel et al. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms. *Archives of Internal Medicine* 2011; 171/15: 1322-1331
38. De Jong A, Von Oers JA, Beishuizen A, et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016; Doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00053-0
39. Carr J A. Procalcitonin-guided antibiotic therapy for septic patients in the surgical Intensive care unit. *Journal of Intensive Care*. 2015; 3:36
40. Whiting P, et al., Clinical effectiveness and cost-effectiveness of tests for the diagnosis and investigation of urinary tract infection in children: a systematic review and economic model. *Health Technol Assess*, 2006; 10/36: 1-154
41. Stamm W E. Urinary tract infections and pyelonephritis, *Harrison's: Principles of Internal Medicine*, 14th Ed, McGraw-Hill. 1998; 1:817-822
42. Warren J W. Catheter-associated urinary tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2001; 17/4: 299-303
43. Picollo R, Nils Brion V, Gualano L, Mille'rioux M, Marchetti M T, Rosignoli P D. Pharmacokinetics and Tolerability of Prulifloxacin after Single Oral Administration. *Arzneimittelforschung*. 2003; 53/3: 201-205
44. <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/i/infezioni-urinarie>

45. Naber K G, Bishop M C, Bjerkelund-Johansen T E, Botto H, Çek M, Grabe M, Lobel B, Palou J, Tenke P. Guidelines on: The management of urinary and male genital tract infections. European Association of Urology 2006
46. Nicoletti G. Piccinocchi G et al Survey Multicentrico Italiano. S.I.M. GIMMOC IX Q2, 2005
47. Rossi A, Arcoraci V, Caputi A P, Nicoletti G, Schito GC. I risultati dello studio IceA. SIMG 2004; 2: 14-19
48. <https://www.salutarmente.it/analisi-delle-urine/urinocoltura>
49. Ciaccio M, Lippi G. Biochimica clinica e Medicina di Laboratorio. EdiSES 2017
50. Rubin R H, Shapiro E D, Andriole V T, Davis R J, Stamm WE. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infections Clin Infect Dis 1992; 15: 216-227
51. Battaglia M, Concia E, Mazzei T, Pea F, Salonia A. Raccomandazioni in tema di diagnosi, trattamento e profilassi delle infezioni delle vie urinarie. Raccomandazioni SIU - UTI 2015
52. Ferry SA et al. The natural course of uncomplicated lower urinary tract infections in women illustrated by a randomized placebo controlled study. Scand J Infect Dis 2004; 36/4: 296-301

53. UTI Working Group: Naber KG et Al. E.A.U. guidelines for the management of urinary and male genital tract infections. *EurUrol* 2001; 40: 576-588
54. MGrabe R B, Bjerklund Johansen T E, Cai T, Çek M, Köves B, Naber K G, Pickard R S, Tenke P, Wagenlehner F, Wullt B. Guidelines on Urological Infections. 2015
55. Hotchkiss R S, Karl I E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England journal of medicine*. 2003; 348/2: 138-50
56. Kahlmeter G. The ECO.SENS Project: a prospective, multinational, multicenter epidemiological survey of the prevalence and antimicrobial susceptibility of urinary tract pathogens-interim report. *J Antimicrob Chemoter*. 2000; 46: 15-22
57. Bone R C, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, 1992. 101/6: 1644-55
58. Caccamo M, Perilli M, Celenza G, Bonfiglio G, Tempera G, Amicosante G. Occurrence of extended spectrum beta-lactamases among isolates of Enterobacteriaceae from urinary tract infections in southern Italy. *Microb Drug Resist*. 2006; 12/4: 257-264
59. Kahlmeter G. The ECO.SENS Project: a prospective, multinational, multicenter epidemiological survey of the prevalence and antimicrobial susceptibility of urinary tract pathogens-interim report. *J Antimicrob Chemoter* 2000; 46: 15-22

60. Warren J W, Abrutyn E, Hebel J R, Johnson J R, Schaeffer A J, Stamm W E. Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Clin Infect Dis 1999; 29: 745-58
  
61. Raccomandazioni SIU-UTI 2015
  
62. Hooton T M, Scholes D, Gupta K, et al. Amoxicillin-clavulanate vs ciprofloxacin for the treatment of uncomplicated cystitis in women: a randomized trial. JAMA 2005; 293/8: 949-955
  
63. Biomerieux. Ref 30 450. Vidas B.R.A.H.M.S PCT. 2016
  
64. <https://www.vivodibenessere.it/prp-il-trattamento-che-ringiovanisce-pelle-e-capelli/>
  
65. <https://www.biomerieux-diagnostics.com/mini-vidasr>

## 6. RINGRAZIAMENTI

Eccomi giunta al termine di questo percorso, un momento tanto atteso, quanto desiderato. È stato un cammino lungo, a volte difficile, ma del quale oggi possono rendermi fiera e soddisfatta.

Grazie a tante persone sono potuta crescere sia professionalmente che interiormente.

Desidero innanzitutto ringraziare sentitamente il Laboratorio Analisi Biolab di Montecchio per la disponibilità avuta nel concedermi l'opportunità di partecipare a questa sperimentazione. In particolare modo la Dottoressa Mei Cinzia e il Dottor Calcinari Michele. Grazie per avermi ospitato nel vostro laboratorio e avermi permesso di guardare vicino la realtà dei biologi clinici. Nonostante il mio futuro tenda verso altri aspetti della biologia, ho trovato sia stata una bella esperienza.

Continuo ringraziando la professoressa Rossi Luigia che mi rappresenta per questo lavoro, nonostante l'abbia svolto in laboratorio esterno all'università, per le sue consulenze e per i consigli espressi.

Il mio pensiero va poi subito al mio compagno di vita Giacomo. Il suo ruolo nel mio percorso è stato di fondamentale importanza, sempre di stimolo, di aiuto, di generosità, di comprensione che nessuno come lui avrebbe potuto darmi. Grazie perché ha sempre creduto in me quando la mia fragilità mi faceva credere il contrario. I momenti difficili sono stati molti in questi ultimi anni, ma insieme ho capito che è possibile diminuire le paure e affrontare in maniera più serena ogni cosa che la vita ci porta ad affrontare, dalle cose più difficili alle cose più facili.

Grazie immenso anche alla mia famiglia, ovvero i miei genitori, insieme a mia sorella Agnese e mio fratello Tommaso. Sono le profonde sicurezze della mia vita, insieme alle due creature Diego e Nicola che ci riempiono di sorrisi e di amore incondizionato.

Ringrazio una persona che mi ha affiancato soprattutto in questi ultimi mesi, ma senza la quale non sarei potuta arrivar a questo traguardo: Denise. Grazie per la compagnia, l'aiuto e il sostegno di questo brutto periodo. È stato un peccato esserci trovate alla fine del percorso, ma son certa che da qui è iniziato un bellissimo legame sia di studio, ma soprattutto di amicizia.

Ringrazio Gloria per il suo esser sempre presente nonostante la lontananza e la vita frenetica che entrambe siamo costrette a vivere. Non c'è stato mai un momento in cui abbia potuto pensare di non averti con me, sei stata importante e sei importante.

Ringrazio ogni singola altra mia amica come Silvia, Sofi, Benni, Milli, Elli, Chicca, Agni, Erica e Franci perché con la loro amicizia mi sento al sicuro e ricca di felicità. Senza di loro non avrei mai avuto quei momenti di spensieratezza che mi hanno aiutato nelle giornate difficili.

Grazie anche a mia suocera Carla, una seconda mamma sempre pronta nel momento del bisogno ad accogliermi e agevolarmi nelle cose quotidiane.

Infine un grazie lo vorrei fare a me per non essermi arresa, per aver lottato nel raggiungere l'obiettivo nonostante gli imprevisti, le difficoltà e le paure che soprattutto in questo ultimo periodo non mi hanno aiutato ad affrontare al massimo delle capacità esami e questo lavoro di tesi. Mi auguro che sia soltanto un ricordo di cui riparlerò ai miei figli, ma dicendogli che alla fine se

**INSISTI, RESISTI, CONQUISTI.**



