

Il Grading of Recommendations Assessment Development and Evaluation (GRADE) quale metodologia sistematica e trasparente per valutare l'esame di laboratorio nella formulazione di raccomandazioni e linee guida

Valentina Pecoraro¹, Paola Pezzati², Fiamma Balboni³, Tommaso Trenti¹ per il Gruppo di Studio SIBioC Evidence Based Laboratory Medicine

¹Dipartimento Interaziendale ad Attività Integrata Medicina di Laboratorio e Anatomia Patologica, Ospedale Civile S. Agostino Estense, Modena

²Centro Regionale di Riferimento, Struttura Organizzativa Dipartimentale Sicurezza e Qualità in Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

³Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Istituto Fiorentino di Cura e Assistenza, Firenze

ABSTRACT

The Grading of Recommendations Assessment Development and Evaluation (GRADE) methodology as systematic and transparent framework to evaluate diagnostic test value in supporting guide lines and recommendations issuing. A multidimensional pathway based on GRADE Evidence to Decision (EtD) framework is presented. The aim of the document is to define a valid process to assess the adoption of a diagnostic test and the consequences of the decision. The framework includes three sections reflecting the main steps of GRADE EtD: formulating the relevant question, making an assessment of the evidence, and drawing conclusions. As a matter of example, the EtD framework is used to present the evidence concerning the molecular diagnosis of sepsis in neonates including seven dimensions: (1) formulating the question; (2) assessment of diagnostic test accuracy; (3) certainty of the evidence; (4) effects of test on the main patient outcome; (5) balance between the desirable and undesirable effects; (6) resource use; (7) equity, acceptability and feasibility. The example is used to better elucidate the concepts and to show how reviewers may complete each dimension with the relevant information available. Several factors could influence the final decisions: the relevance of the problem, the values of diagnostic accuracy, the effects of the test on main patient outcome; other issues may play a role. The framework consists of a comprehensive decision aid model to ensure that all important criteria are considered to explain a judgment. This approach could help health professionals to use the best available research evidence in a structured and transparent way to inform decisions in the context of laboratory medicine.

INTRODUZIONE

L'informazione prodotta da un esame di laboratorio è un elemento fondamentale nel percorso decisionale clinico diagnostico. La scelta di usare o meno un esame per uno specifico scopo (diagnostico, terapeutico, prognostico, di screening, di monitoraggio), implica l'identificazione della relazione che esiste tra il risultato dell'esame e le azioni che conseguono all'acquisizione del risultato con l'impatto prodotto sugli esiti di cura (1). Data questa stretta connessione, le decisioni cliniche prese in merito agli esami diagnostici dovrebbero essere supportate da evidenze scientifiche che considerino tutti gli effetti decisionali più importanti e valutino le strategie

clinico-terapeutiche derivate dall'esecuzione dell'analisi (1, 2). Vi è, di conseguenza, in medicina di laboratorio la necessità di disporre di una metodologia scientifica utile a produrre raccomandazioni e linee guida (LG) di elevata qualità metodologica basata sui principi dell'Evidence Based Medicine (EBM) proponendo un adeguato modello strutturato utilizzabile dagli autori o estensori di LG. Il presente documento vuole illustrare l'utilizzo del metodo *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation* (GRADE) (1) quale modello per valutare la qualità delle evidenze e produrre raccomandazioni trasparenti in merito all'utilizzo degli esami diagnostici. Il lavoro presenta sinteticamente la metodologia, che consiste in sette domini da sviluppare,

Corrispondenza a: Valentina Pecoraro, Laboratorio Tossicologia, Dipartimento Interaziendale ad Attività Integrata Medicina di Laboratorio e Anatomia Patologica. Ospedale Civile S. Agostino Estense, Via Giardini 1355, 41126 Modena. Tel. +39 059 3961427; e-mail: valepecoraro@gmail.com

Ricevuto: 05.11.2018

Revisionato: 09.11.2018

Accettato: 02.01.2019

Publicato on-line: 04.02.2019

DOI: 10.19186/BC_2019.004

e fornisce un esempio didattico della sua applicazione. Il metodo GRADE è nato dall'attività avviata nel 2000 da un gruppo di lavoro internazionale che aveva come scopo la definizione di un metodo rigoroso ed esplicito per la produzione di raccomandazioni cliniche. È un modello strutturato e trasversale da utilizzare nella produzione di LG ed è attualmente raccomandato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e richiesto anche dal Ministero della Salute per la produzione di LG e conseguenti raccomandazioni che possano essere riconosciute a livello nazionale (3). Infatti, la Legge 24 dell' 8.03.2017, Disposizioni in materia di sicurezza delle cure e della persona assistita, nonché in materia di responsabilità professionale degli esercenti le professioni sanitarie (Legge Gelli) stabilisce, all'articolo 5, che gli esercenti le professioni sanitarie nell'esecuzione delle prestazioni sanitarie debbano attenersi, salve le specificità del caso concreto, alle raccomandazioni previste dalle LG elaborate da enti e istituzioni pubbliche e private, da società scientifiche e associazioni tecnico-scientifiche delle professioni sanitarie iscritte in apposito elenco istituito e regolamentato con Decreto Ministeriale del 02.08.2017. Tali raccomandazioni sono pubblicate dall'ISS nel Sistema Nazionale Linee Guida (SNLG), previa verifica di conformità della metodologia adottata a standard internazionali riconosciuti e resi pubblici da parte dell'Istituto stesso, e della rilevanza delle evidenze scientifiche dichiarate a supporto delle raccomandazioni (3). Il SNLG istituito con Decreto Ministeriale del 27.02.2018, gestito dall'ISS tramite il centro nazionale per l'eccellenza clinica, la qualità e la sicurezza delle cure (CNEC) è l'unico punto di riferimento e accesso per professionisti sanitari, dirigenti, amministratori, decisori, utenti e qualsiasi professionista si occupi di sanità, a un corpus di LG nazionali per la pratica clinica e la salute pubblica ordinato secondo criteri di rilevanza, non ridondanza e coerenza interna. La procedura adottata per la valutazione della qualità metodologica e dei contenuti delle LG proposte, disponibile nel manuale metodologico ISS di riferimento per la produzione di LG, vede la metodologia GRADE quale punto di riferimento indiscusso (3). In altre parole, qualsiasi LG proposta perché divenga di valore nazionale, deve essere validata metodologicamente e pubblicata dall'ISS nel SNLG e deve basarsi sul metodo GRADE.

Il GRADE è stato sviluppato per valutare, con un processo di revisione sistematica della letteratura scientifica, la qualità delle evidenze e per produrre raccomandazioni trasparenti, non solo di ambito terapeutico e prognostico, ma anche in merito agli esami diagnostici (4). In particolare, è utile sottolineare, come il metodo GRADE offra un complesso percorso strutturato in cui la qualità delle prove relative all'efficacia o meno degli esami diagnostici è valutata in ragione del loro impatto su esiti importanti di salute per i pazienti. I vantaggi di questo modello decisionale includono: la partecipazione di un gruppo multidisciplinare di esperti,

una dettagliata revisione di tutte le fonti pertinenti di buona qualità presenti in letteratura, una valutazione degli esiti ritenuti importanti sia dai pazienti sia dai decisori, un percorso trasparente, strutturato e riproducibile, dalla raccolta delle evidenze alla definizione della decisione finale.

In questo approccio metodologico, le misure di accuratezza diagnostica [sensibilità, specificità, valori predittivi, rapporto di verosimiglianza (likelihood ratio) e rapporto di probabilità (odds ratio diagnostico)] rappresentano il punto di partenza per assumere delle decisioni, tenendo sempre presente che devono essere considerati come esiti surrogati.

Nell'ambito del progetto GRADE è stato anche sviluppato l'*Evidence to Decision (EtD) framework*, strumento realizzato per lo sviluppo di un percorso che si snoda dalla valutazione delle prove alla formulazione delle raccomandazioni e delle decisioni (5, 6).

Il modello GRADE prevede alcune sezioni dettagliate che descrivono il quesito diagnostico di interesse, la valutazione delle evidenze e le conclusioni. Le informazioni necessarie sono ottenute solitamente da revisioni sistematiche recenti; il modello fornisce un esplicito documento contenente i giudizi dei membri del gruppo chiamati a produrre una LG nonché raccomandazioni in grado di guidare una decisione clinica (4, 5, 6).

Il percorso decisionale descritto è un modello trasversale che può essere applicato a qualsiasi esame diagnostico di interesse. Il GRADE implica di necessità la presenza di un gruppo di esperti scelti sia su base multiprofessionale, ad esempio medici, infermieri, rappresentanti dei pazienti, amministratori, metodologi, epidemiologi, rappresentanti delle istituzioni sanitarie regionali e nazionali, sia su base multidisciplinare specialistica, come ad esempio internisti, cardiologi, medici di medicina generale e qualsiasi specializzazione pertinente.

Se il modello può dunque essere applicato teoricamente in ogni ambito e contesto, a causa della necessità di formare gruppi costituiti da tanti professionisti diversi, il GRADE è utilizzato soprattutto dalle istituzioni sanitarie che possono disporre delle risorse necessarie a gestire la complessità di gruppi di lavoro così formati. E' dunque difficile non solo per un singolo professionista di laboratorio, ma anche per una società scientifica di medicina di laboratorio, come peraltro di qualsiasi società scientifica, produrre in prima persona LG e raccomandazioni coerenti al modello GRADE, proprio per la difficoltà di costituire e gestire un gruppo di lavoro così complesso e rappresentativo di esperti diversi. Tuttavia, la presenza di esperti di laboratorio all'interno dei gruppi chiamati a produrre LG o raccomandazioni è molto comune, ed è lecito supporre che tale presenza sarà sempre più diffusa e numerosa.

Lo scopo di questo lavoro è di fornire ai professionisti che vengono coinvolti nella valutazione di un esame diagnostico con questa metodologia, indicazioni utili e

operative per un approccio GRADE pragmaticamente corretto.

IL PERCORSO STRUTTURATO GRADE DALLA EVIDENZA ALLA DECISIONE

A partire dal GRADE EtD framework ideato dal gruppo di lavoro GRADE (1, 4, 5, 6), abbiamo strutturato un percorso che si suddivide in tre parti (a, b, c) e comprende sette domini (a1, b1-b5, c1) secondo quanto schematizzato in Tabella 1.

La prima parte del metodo (a) definisce il quesito di interesse. Il quesito deve essere strutturato sulla base dell'acronimo PICO (popolazione, intervento, confronto, outcome), esplicitando anche eventuali sottogruppi di pazienti da considerare e l'ambito di interesse. La seconda parte (b, da b1 a b5), più articolata, prevede la descrizione delle informazioni principali per definire la specifica condizione clinica di interesse, per valutare l'accuratezza dell'esame diagnostico considerato e le evidenze recuperate attraverso la ricerca della letteratura. Gli autori sono chiamati anche ad esplicitare i criteri utilizzati per la valutazione dell'esame diagnostico per la decisione finale. L'ultima parte (c) definisce la decisione in merito all'utilizzo dell'esame.

Ogni dominio prevede la descrizione delle informazioni specifiche derivate e supportate dalle evidenze ricercate, che guidano la decisione. I professionisti utilizzano lo schema illustrato, che ricalca altre metodologie tipo griglia utilizzate nella metodologia EBM, con le informazioni bibliografiche disponibili e rigorosamente valutate.

Come paradigma didattico, viene qui di seguito illustrata l'applicazione del modello GRADE al seguente

quesito diagnostico: L'analisi molecolare è utile per diagnosticare un'infezione grave (sepsi) nei neonati?. Si tratta di un esempio di tipo educativo di applicazione del metodo, in cui gli enunciati del GRADE sono esemplificati punto per punto.

Deve essere sottolineato che il fine del quesito clinico presentato, essendo esclusivamente di applicazione didattica del metodo GRADE, non è quello di formulare raccomandazioni di contenuto validato, proprio nella consapevolezza di come nel GRADE sia vincolante la presenza di un gruppo multiprofessionale e multispecialistico, che nel caso specifico, dovrebbe comprendere almeno laboratoristi, microbiologi, pediatri, neonatologi, infettivologi, metodologi, rappresentanti delle istituzioni sanitarie, infermieri, rappresentanti dei pazienti. Una presenza monospecialistica, ovvero di specialisti di medicina di laboratorio, compromette metodologicamente già in partenza l'accettabilità della valutazione, indipendentemente dai contenuti riportati. Non di meno, il lavoro svolto e riportato nel paragrafo Applicazione dell'Evidence to Decision (EtD) framework all'esame diagnostico, nell'ambito del quesito diagnostico proposto, è corretto nella sintesi delle evidenze scientifiche e l'analisi sistematica e trasparente della letteratura prevale sulle opinioni pur autorevoli. In una situazione operativa, tali contenuti dovrebbero poi essere valutati dal gruppo multidisciplinare e multiprofessionale. Nell'esempio riportato, di conseguenza, non si traggono conclusioni, proprio perché non è nelle possibilità degli autori proporre raccomandazioni secondo il GRADE, mancando di tutte le competenze professionali necessarie, ma sono fornite le evidenze su cui basare una possibile valutazione, incluso lo schema valutativo ultimato.

Tabella 1

Presentazione schematica della modalità di lavoro per valutare l'esame di laboratorio nella formulazione di raccomandazioni e linee guida.

a. Definizione del quesito che guida la valutazione dell'esame

a 1. Formulazione del quesito di interesse.

b. Percorso di valutazione dell'esame

b 1. Valutazione dell'accuratezza in funzione di:

b 1.1. Condizione di interesse

b 1.2. Accuratezza dell'esame

b 1.3. Rischi e benefici

b 2. Valutazione delle evidenze

b 3. Importanza dell'esito

b 4. Bilanciamento tra i benefici e gli effetti indesiderati

b 5. Utilizzo delle risorse

c. Definizione della decisione finale relativa all'utilizzo dell'esame

c 1. Equità, accettabilità e fattibilità

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La decisione di introdurre un esame diagnostico nella pratica clinica richiede valutazioni e riflessioni complesse. Le prove disponibili derivano, nella maggior parte dei casi, da studi di accuratezza diagnostica, poiché gli studi randomizzati controllati sono molto rari in ambito diagnostico. Gli studi di accuratezza diagnostica valutano se un esame classifica i pazienti in maniera corretta o meno, e restituiscono i risultati in termini di veri positivi e negativi (VP e VN), falsi positivi e negativi (FP e FN); la stima dell'effetto dell'esame sull'esito importante da valutare, deve essere trattata di conseguenza. La decisione finale richiede che tutte le evidenze prodotte vengano considerate complessivamente per stabilire le eventuali conseguenze prodotte dall'inserimento di un esame e valutare la certezza delle evidenze (1). Gli studi che valutano gli esami diagnostici solitamente si limitano a descrivere la sensibilità e la specificità analitica, ma dovrebbero indicare il reale significato clinico del risultato ottenuto, ovvero quali ricadute, positive o negative, il risultato dell'esame possa avere sul paziente e come esso possa guidare la gestione del paziente da parte del medico. In altre parole, un esame dovrebbe essere incluso nella pratica clinica solo se ci sono prove a sostegno del miglioramento della salute del paziente in seguito all'utilizzo dell'esame stesso. L'esame diagnostico è in grado di migliorare l'esito del paziente se riduce il numero di FP e FN, favorendo una corretta diagnosi e trattamento, limitando anche la necessità di indagini successive (7). L'EtD framework proposto dal gruppo GRADE prevede non solo di considerare i dati di accuratezza diagnostica dell'esame, ma di valutare anche altri tipi di evidenze per stimare l'effetto dell'esame sugli esiti importanti per i pazienti (1). È un metodo per comunicare raccomandazioni basate sulle evidenze, utile ai decisori, ma anche ai pazienti e fornisce un quadro conciso ed accurato per informare e supportare il processo decisionale (5).

Il modello descritto in questo articolo può facilitare i decisori nel processo di sviluppo di raccomandazioni; in particolare permette di mettere in relazione tutte le prove disponibili, utilizzandole in maniera strutturata e trasparente. Il modello consente di esplicitare i criteri utilizzati per valutare gli esami diagnostici, i giudizi emessi dal gruppo multidisciplinare di esperti coinvolti, le evidenze che supportano i giudizi espressi e tutte le considerazioni formulate per supportare le decisioni. Le decisioni finali, di conseguenza, derivano da una scrupolosa e ragionata valutazione delle prove, ed i fattori che possono influenzarle sono riscontrabili principalmente nei seguenti domini: importanza della condizione di interesse, valutazione dell'accuratezza diagnostica, effetto dell'esame sull'esito principale.

La complessità del modello potrebbe costituire un limite alla sua applicazione; deve tuttavia essere considerato che avere a disposizione uno strumento il più possibile completo, facilita il lavoro dei decisori nella valutazione dei rischi e dei benefici che derivano

dall'introduzione di un esame diagnostico, oltre a favorire la trasparenza nel percorso decisionale. Per ottenere maggiori vantaggi dall'utilizzo di questo modello, è necessario avere adeguate conoscenze dell'approccio GRADE, di conseguenza è necessaria una formazione specifica per approfondire il modello GRADE e ottimizzare l'utilizzo dell'EtD framework.

In sintesi, il modello si propone come strumento pratico che mette in chiara relazione le evidenze di letteratura e le decisioni. Il modello può accrescere la qualità dei documenti prodotti e migliorare la trasparenza dei giudizi dei decisori. Questi aspetti hanno fatto sì che l'approccio GRADE e l'EtD framework siano stati adottati dalle principali organizzazioni, come l'Organizzazione Mondiale della Sanità, e attualmente siano richiesti anche dal Ministero della Salute italiano. In quest'ottica, anche le società scientifiche, in associazione con le istituzioni, sono chiamate ad utilizzare approcci strutturati come quello proposto in questo articolo, per promuovere progetti per l'utilizzo appropriato degli esami diagnostici.

APPLICAZIONE DELL'EVIDENCE TO DECISION (ETD) FRAMEWORK AD UN ESAME DIAGNOSTICO

A titolo esemplificativo e didattico, di seguito è riportata l'applicazione del modello relativo al quesito: L'analisi molecolare è utile per diagnosticare un'infezione grave (sepsi) nei neonati?

Seguendo la metodologia proposta, dopo una estensiva ricerca bibliografica, il percorso EtD è stato declinato inserendo tutte le informazioni disponibili in merito agli esami per la diagnosi molecolare di sepsi, ovvero i dati provenienti da revisioni sistematiche, LG, resoconti di organizzazioni nazionali e internazionali, di *Health Technology Assessment (HTA)*.

Di seguito i dettagli dello svolgimento dell'esempio.

Ricerca delle fonti

Dopo aver definito il quesito di interesse, è stata sviluppata una strategia di ricerca della letteratura scientifica, con l'utilizzo delle parole-chiave, elencate in Tabella 2, impiegate nelle banche dati PubMed (Clinical Queries) e The Cochrane Library. Sono stati inoltre ricercati siti rilevanti per lo specifico quesito clinico, appartenenti a società scientifiche, agenzie governative e organizzazioni nazionali e internazionali, riportati anch'essi in Tabella 2.

Criteri di inclusione dei documenti rilevanti

Sono state incluse revisioni sistematiche, LG e resoconti di HTA che valutano le tecniche di biologia molecolare per la diagnosi di sepsi nei neonati. Sono stati considerati eleggibili i documenti che soddisfano i seguenti criteri minimi di validità interna, tratti dai criteri di *Assessing the Methodological Quality of Systematic Reviews (AMSTAR)* (8) e *International Network of*

Tabella 2

Ricerca bibliografica: parole chiave utilizzate per le ricerche su database (PubMed e The Cochrane Library) ed elenco dei siti web consultati

Parole chiave utilizzate per la ricerca in PubMed e The Cochrane Library	Sepsis
	Infection
	Pathogens
	Neonatal sepsis
	Newborn
	Infant
	Molecular assay
	Molecular diagnostic techniques
	Nucleic acid amplification techniques
	Molecular probes
	Sequence analysis
Siti web consultati di società scientifiche, agenzie governative e organizzazioni nazionali e internazionali	Agency for Healthcare and Quality (AHRQ) https://www.ahrq.gov/
	Associazione Microbiologici Clinici Italiani (AMCLI) http://www.amcli.it/
	Centre for Reviews and Dissemination (CRD) databases, University of York https://www.york.ac.uk/crd/
	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) https://www.escmid.org/
	Federazione Società Microbiologiche Europee (FEMS) https://fems-microbiology.org/
	International Network of Agencies for Health Technology Assessment (INAHTA) http://www.inahta.org/
	International Union of Microbiological Societies (IUMS) https://www.iums.org/
	National Institute of health (NHI) https://www.nih.gov/
	Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) https://www.who.int/
	Società Italiana di Biochimica Clinica (SIBioC) https://www.sibioc.it/
	Società Italiana Microbiologia (SIM) https://www.societasim.it/
American Society of Microbiologists (ASM) https://www.asm.org/	

Agencies for Health Technology Assessment (INAHTA) (9): definizione esplicita degli obiettivi, ricerca sistematica della letteratura con specificazione delle banche dati e siti internet consultati, e risultati basati sulla valutazione di studi primari con esplicita definizione dei criteri di inclusione.

Sono state incluse le LG che oltre ai criteri minimi di validità interna, presentavano almeno uno dei criteri di qualità relativi alla presenza di un gruppo multidisciplinare e alla descrizione della metodologia di ricerca delle evidenze (10). Le LG eleggibili, ma che non soddisfacevano almeno uno di tali criteri di qualità sono state escluse.

Analisi critica della qualità dei documenti inclusi

La qualità delle revisioni sistematiche incluse è stata valutata mediante i criteri AMSTAR (8). La qualità delle LG incluse è stata valutata mediante lo strumento AGREE II (11). Le valutazioni conseguenti sono disponibili nella Appendice consultabile come materiale supplementare (1S).

Selezione dei documenti e raccolta dati

Gli autori hanno esaminato i titoli e i sommari delle referenze bibliografiche identificate dalla strategia di ricerca e selezionato quelle che rispondevano ai criteri di eleggibilità. Di queste sono stati recuperati i testi integrali che sono stati valutati ai fini dell'inclusione.

Risultati della ricerca bibliografica

La ricerca ha consentito di identificare 437 referenze bibliografiche, di cui 37 sono state considerate eleggibili. Dopo aver valutato il testo completo, sono state incluse otto revisioni sistematiche, di cui tre considerate per la compilazione del modello e cinque narrative considerate solo per la descrizione della condizione di interesse, tre LG, un resoconto HTA e una conferenza di consenso utilizzata anch'essa per la descrizione della condizione di interesse.

Dai documenti selezionati, sono state raccolte le informazioni riguardo l'obiettivo generale, i criteri di inclusione adottati, i risultati principali e le conclusioni degli autori. Le informazioni reperite sono state poi incorporate in maniera descrittiva e sintetica all'interno dei vari domini specifici riportati nel modello compilato di seguito.

I documenti recuperati riportano che l'esame di riferimento per la diagnosi di sepsi è l'emocultura, metodica la cui refertazione richiede circa 48-72 ore. Inoltre, molte culture rimangono negative anche se sono sospettate infezioni batteriche o fungine. Gli esami di biologia molecolare sono esami rapidi che lavorano direttamente sul campione dei pazienti. Si basano su tecniche di amplificazione o ibridazione del materiale genetico disponibile, consentendo di identificare correttamente il microrganismo che causa l'infezione. La possibilità di avere a disposizione una tecnica che fornisce una rapida identificazione del patogeno, può apportare dei vantaggi in termini sia di rapida diagnosi, ottimizzando la percentuale di sopravvivenza dei pazienti con sepsi, sia di precoce e appropriata terapia antibiotica, favorendo l'uso responsabile degli antibiotici, con riduzione dei costi e della tossicità (12).

SVILUPPO DEI DOMINI

a. Definizione del quesito che guida la valutazione dell'esame

a 1. Formulazione del quesito di interesse

Il quesito deve essere strutturato sulla base dell'acronimo PICO, specificando il problema di interesse, il ruolo dell'esame, le caratteristiche della popolazione al quale l'esame sarà applicato, possibili esami alternativi e l'outcome importante per il paziente oggetto della valutazione.

Quesito strutturato	L'analisi molecolare è utile per diagnosticare un'infezione grave (sepsi) nei neonati?
Popolazione	Neonati
Esame indice (index test)	Metodiche di analisi molecolare che includono tecniche di amplificazione [ad esempio polymerase chain reaction (PCR), estrazione e ibridazione [ad esempio fluorescenza in situ – hybridization (FISH)] degli acidi nucleici patogeni.
Esame(i) di riferimento (reference standard)	Emocultura e/o culture microbiologiche di liquidi biologici

Esami alternativi	Conteggio dei linfociti, conteggio delle piastrine, determinazione dei marcatori sierici di infezione (ad esempio proteina C reattiva, procalcitonina, citochine infiammatorie)
Condizione clinica da considerare	Sepsi batterica o funginea
Ruolo dell'esame	Esame sostitutivo Triage Esame aggiuntivo (add-on test)
Outcome principale	Accuratezza diagnostica
Ambito	Neonatologia, terapia intensiva, pediatria, microbiologia.

b. Percorso di Valutazione

b 1. Valutazione dell'accuratezza

b 1.1. Descrizione della condizione di interesse

Descrivere la patologia o la condizione di salute oggetto della valutazione, la popolazione interessata, il contesto e/o il livello di cura nel quale è utilizzato l'esame, e le implicazioni nella pratica. Nel caso in cui l'esame da valutare sia un esame di nuova introduzione, dovrebbero essere riportate le informazioni di accuratezza, gli eventuali eventi indesiderati, la disponibilità e i limiti del nuovo esame, e le conseguenze della malattia o della condizione per la società (impatto sociale), confrontandoli con le caratteristiche dell'esame in uso.

Descrizione

La sepsi è un'infezione sistemica grave dovuta a microrganismi patogeni che invadono tessuti, fluidi e cavità corporee, capace di scatenare una risposta immunitaria non regolata, con conseguenti danni di organi e/o tessuti. Nei neonati rappresenta una condizione grave ed è responsabile di un alto tasso di mortalità e morbidità soprattutto per soggetti con basso peso alla nascita. Il tasso di mortalità è stimato tra il 25% e 81%, a seconda della gravità dell'infezione e dei tessuti e organi interessati. L'identificazione precoce del patogeno che ha causato l'infezione (diagnosi) è fondamentale per la gestione dell'infezione e per iniziare una corretta terapia (13-,17). In uno studio che ha arruolato più di 6000 neonati con basso peso alla nascita, gli autori riportano che i neonati con sepsi avevano un rischio maggiore di sviluppare eventi avversi al follow up, tra cui paralisi cerebrale, scarsa crescita (score di Bayley) e perdita visiva, rispetto ai neonati non infetti (13). I segni clinici e sintomi di sepsi neonatale sono spesso aspecifici. L'infezione, infatti, è accompagnata da febbre, ipotermia, ipotensione, tachicardia, tachipnea, conta anomala dei linfociti (18). La sovra-diagnosi di sepsi neonatale può portare ad un inadeguato uso degli antibiotici favorendo lo sviluppo di resistenza agli antibiotici stessi. L'infezione è dovuta principalmente a batteri o funghi, molto raramente a virus. I batteri solitamente associati ad infezioni possono essere sia Gram negativi (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*) sia Gram positivi (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, *Streptococcus pneumoniae*) (14). Il gold standard per la diagnosi di sepsi è l'emocultura, la quale però richiede tempi lunghi (48-72 ore) per la corretta identificazione del patogeno, ha generalmente una bassa sensibilità nei neonati, risente di eventuali trattamenti antibiotici somministrati alla madre, che possono produrre risultati falsi negativi, e dipende dal volume di sangue raccolto dai neonati,

che spesso risulta scarso (16). Gli altri liquidi biologici che possono essere usati per la cultura microbiologica sono il liquido cefalo-rachidiano e le urine. I marcatori di infiammazione (proteina C reattiva, procalcitonina, citochine, chemochine) sono stati ampiamente studiati anche per la diagnosi di sepsi, ma risultano falsamente elevati in stati infiammatori, quali interventi chirurgici o traumi, e non forniscono informazioni riguardo la sensibilità agli antibiotici, informazioni che poi guidano la successiva terapia (16). La proteina C reattiva ha un incremento nelle prime 6-10 ore fino a raggiungere un picco 2-3 giorni dopo l'infezione. Inoltre è un fattore predittivo di emocultura positiva, con un valore predittivo positivo di 99%. La procalcitonina aumenta nelle prime 4 ore e raggiunge un massimo di concentrazione nel siero dopo 18-24 ore. Ha una sensibilità di 82% e specificità che varia da 79% a 86%. (19,20).

I metodi di biologia molecolare comprendono tecniche di amplificazione [PCR, Nucleic Acid Sequence Based Amplification (NASBA)], in associazione o meno al sequenziamento dell'acido nucleico, e tecniche che si basano sull'ibridazione (microarray, FISH) (17). Il metodo più ricorrente è l'amplificazione da sangue intero che ha sensibilità e specificità sub-ottimali ma il vantaggio di ottenere il risultato in tempi brevi. Per ottenere dei volumi ragionevoli di materiale batterico da volumi ridotti di sangue intero, alcuni autori utilizzano sangue arricchito con Tryptic Soy Broth (TSB) prima dell'amplificazione. In alcuni casi l'amplificazione dell'acido nucleico batterico è effettuata solo per i campioni positivi all'emocultura, scelta questa che ottimizza l'identificazione del patogeno e fornisce informazioni utili riguardo eventuale resistenza agli antibiotici. La discreta specificità del metodo può generare dei risultati FP, questo si verifica in caso di proteina C reattiva positiva ed emocultura negativa. In alcuni casi, risultati FP possono essere generati anche dalle emocolture, in questo caso i metodi molecolari consentono velocemente di escludere una batteremia. Branched DNA signal Amplification (BDNA array), FISH e la spettrometria di massa, invece, sono metodiche che consentono l'identificazione dell'agente senza l'amplificazione, a partire da campioni positivi all'emocultura. L'introduzione di queste metodiche molecolari nella diagnostica di laboratorio necessita di alcune considerazioni in merito alla standardizzazione delle tecniche di estrazione che dovrebbero essere migliorate, e la necessità di avere dei kit applicabili alle piattaforme di laboratorio, automatizzabili e facili da usare. In USA l'incidenza di sepsi tra i neonati è aumentata da 0,56 casi per 1000 nel 1995, a 0,89 casi per 1000 (con una prevalenza doppia per quanto riguarda la sepsi grave nei nuovi nati) tra il 1995 e il 2005, mentre la mortalità intra-ospedaliera si è ridotta dal 10,3% al 9% (21).

Sulla base di quanto riportato nel riquadro precedente, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente

Il problema rappresenta una priorità?

- Sì
- No
- Non lo so

b 1.2. Accuratezza dell'esame

Descrizione dell'esame e dei suoi comparatori di riferimento, indicazioni per l'utilizzo dell'esame, fase di sviluppo dell'esame (ricerca, routine, obsolescenza), requisiti di accuratezza richiesti nel contesto di cura, valore soglia ottimale, variazione dell'accuratezza nei diversi contesti, ipotesi su eventuale miglioramento di diagnosi, prognosi, monitoraggio o gestione della malattia, a seguito dell'utilizzo dell'esame. La valutazione dell'accuratezza di un esame dovrebbe derivare dalle informazioni provenienti da una revisione sistematica di buona qualità, già pubblicata.

Evidenze

I metodi molecolari per l'identificazione dei patogeni sono basati prevalentemente sull'ibridazione (FISH o microarray) o amplificazione (PCR), e differiscono prevalentemente per il modo di identificazione del patogeno (16). Negli studi condotti sui neonati, la sensibilità dei metodi molecolari variava da 4,1 a 100%, e la specificità da 77,2 a 100%. Questa eterogeneità era probabilmente dovuta a differenze nella metodologia e nel disegno di studio, nei metodi di estrazione del DNA, e nelle caratteristiche della popolazione studiata (16).

Una recente revisione sistematica (21) ha confrontato l'analisi molecolare con la cultura microbica del sangue e del liquido cefalo-rachidiano riportando i seguenti risultati di accuratezza con i relativi intervalli di confidenza (95%IC):

- la sensibilità complessiva è 0,90 (95% IC 0,82- 0,95)
- la specificità complessiva è 0,93 (95% IC 0,89 - 0,96) (moderata qualità delle evidenze)

Nel confronto tra l'analisi molecolare e la sola emocultura, i risultati di accuratezza sono:

- la sensibilità complessiva è 0,92 (95% IC 0,84 - 0,96)
- la specificità complessiva è 0,93 (95% IC 0,89 - 0,95)

La sensibilità media stimata per l'analisi molecolare è migliore di quella relativa agli esami alternativi utilizzati per la diagnosi di sepsi, quali la conta delle piastrine, la misura della proteina C reattiva, della procalcitonina, del tumor necrosis factor (TNF) e dell' interleuchina 6 (IL-6). La specificità media stimata è simile tra i diversi esami (21).

Sulla base di quanto sopra riportato, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente.

Quanto è accurato l'esame rispetto al gold standard?

- Inaccurato
- Accurato
- Non lo so

b 1.3. Rischi e benefici

Descrivere la frequenza, la gravità e la durata degli eventi avversi, nonché i gruppi di pazienti maggiormente a rischio di eventi avversi correlati alla somministrazione dell'esame. Descrivere inoltre eventuali rischi professionali che si possono verificare durante l'esecuzione dell'esame, le conseguenze dei FP e FN e dei riscontri incidentali attribuiti all'esame in termini di sicurezza per il paziente. La valutazione dei rischi e dei benefici dovrebbe essere guidata dai risultati riportati in una revisione sistematica, considerando gli effetti desiderabili e non desiderabili.

Evidenze

Su 1000 neonati sottopeso valutati per sepsi ad insorgenza precoce (fino a 72 ore di vita), non sono stati individuati 2 casi di sepsi (FN) e trattati 69 neonati con sepsi (FP). Ugualmente, su 1000 neonati sottopeso valutati per sepsi ad insorgenza tardiva (oltre 72 ore di vita), non sono stati individuati 10 casi positivi e trattati 63 neonati senza sepsi. Per cui le attuali tecniche di analisi molecolare non hanno sufficiente accuratezza diagnostica da poter sostituire le culture microbiologiche (21).

I metodi diagnostici molecolari sembrerebbero avere un potenziale importante nella diagnostica delle infezioni in tempi rapidi e con maggior precisione. Tuttavia sono disponibili tecnologie diverse che richiedono conoscenze e abilità professionali specifiche. Sono necessari ulteriori studi prima di raccomandare queste metodiche in aggiunta o in sostituzione alle attuali metodiche di diagnosi di sepsi. (22).

Sulla base di quanto riportato sopra, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente

Rispetto allo standard di riferimento, l'uso del test è associato a:

- Maggiori effetti desiderabili
- Maggiori effetti indesiderabili
- Gli effetti sono correlati al dosaggio o alla frequenza di utilizzo
- Maggior rischio in un gruppo determinato di pazienti
- Non lo so

b 2. Valutazione delle evidenze

La valutazione delle evidenze dovrebbe essere effettuata applicando il metodo GRADE, e derivare dalle informazioni provenienti da una revisione sistematica di buona qualità, già pubblicata. L'EtD framework per i test diagnostici (5) include 5 criteri utili per esprimere un giudizio e valutare la certezza delle evidenze..

Evidenze.

Tabella modificata dal riferimento 21

	Gruppo	Numero di studi	Sensibilità (95%IC)	Specificità (95%IC)	Qualità delle evidenze usando il metodo GRADE
Tutti gli studi		35	0,90 (0,82-0,95)	0,93 (0,89-0,96)	Moderata*
Tipo di test	Broad-range PCR	9	0,97 (0,86-1,00)	0,93 (0,77-0,98)	Moderata*
	Real-time PCR	9	0,86 (0,59-0,96)	0,94 (0,90-0,97)	Moderata*
	Processamento Post PCR	5	0,97 (0,40-1,00)	0,81 (0,70-0,89)	Bassa**
	Multiplex PCR	6	0,76 (0,6-0,88)	0,81 (0,70-0,89)	Bassa**
	PCR per <i>Stafilococco</i>	2	-	-	Bassa**
	PCR per Infezioni fungine	4	-	-	Bassa**
Tipo di sepsi	EOS	2	-	-	Bassa**
	LOS	10	0,79 (0,69-0,86)	0,94 (0,85-0,98)	Bassa**
	Misto EOS e LOS	23	0,94 (0,84-0,98)	0,93 (0,87-0,95)	Moderata*
Età gestazionale	Pretermine	5	0,89 (0,75-0,96)	0,87 (0,71-0,94)	Bassa**
	Termine e pretermine	30	0,90 (0,80-0,96)	0,94 (0,90-0,95)	Moderata*

Prevalenza	<15%	20	0,94 (0,80-0,99)	0,95 (0,92-0,97)	Moderata*
	15% - 30%	8	0,85 (0,67-0,94)	0,88 (0,79-0,94)	Bassa**
	>30%	7	0,87 (0,75-0,93)	0,93 (0,64-0,99)	Bassa**
Campione	Sangue	32	0,92 (0,84-0,96)	0,93 (0,89-0,95)	Bassa**
	Sangue e liquido cefalo rachidiano	3	-	-	Moderata*
Qualità	Solo studi di buona qualità	22	0,90 (0,76-0,96)	0,93 (0,88-0,96)	Moderata*

IC95%, intervallo di confidenza al 95%; EOS, sepsi ad insorgenza precoce; LOS, sepsi ad insorgenza tardiva; PCR, reazione a catena della polimerasi,

*Evidenze degradate di un livello per inconsistenza

**Evidenze degradate di due livelli per inconsistenza e imprecisione

Sulla base dei dati sopra riportati, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente

Qual è la qualità delle evidenze complessive relativa all'esito principale e agli eventi avversi?

- Molto bassa
- Bassa
- Moderata
- Alta
- Non ci sono studi

b 3. Importanza dell'esito

Questo dominio fa riferimento ai benefici attesi dall'introduzione dell'esame rispetto all'esito principale di sopravvivenza/mortalità, progressione o ripresa di malattia, gravità della malattia ed altri esiti che potrebbe influenzare le decisioni successive. Nel caso dell'esame diagnostico, si fa riferimento agli eventi avversi o ad altre controindicazioni associate all'esame e alle modalità in cui l'uso dell'esame influenza gli interventi successivi. Descrivere se dal punto di vista del paziente (o di eventuali tutori legali) l'esame è utile, se il paziente è disposto a ripetere eventualmente l'esame in caso di necessità e se la conoscenza dei risultati influenza la sua qualità di vita non correlata alla patologia.

Evidenze

L'analisi molecolare per la diagnosi di sepsi potrebbe essere utile come esame aggiuntivo ("add-on" test), dal momento che fornisce informazioni in tempi rapidi che possono guidare le decisioni cliniche relativamente al trattamento. La raccomandazione si basa su evidenze la cui qualità è bassa o moderata (21).

L'analisi molecolare mostra dei vantaggi quando eseguita insieme alla cultura microbiologica come esame aggiuntivo. L'alta specificità dell'analisi molecolare nella valutazione dei neonati con sospetta sepsi ad insorgenza tardiva (0,94; 95% IC 0,85-0,98) comporta la riduzione della somministrazione di antibiotici aiutando i medici a prendere precocemente una decisione sull'interruzione della terapia antibiotica (21).

Gli esami molecolari rapidi, in associazione con l'emocultura, possono consentire una modifica nella gestione del paziente, che a sua volta riflette

il miglioramento dell'esito clinico in termini di mortalità e morbilità (23).
Gli studi revisionati nel lavoro di Buehler et al riportano un chiaro beneficio in termini di riduzione della mortalità e permanenza in ospedale dei pazienti (24).

Non sembrano esserci sufficienti evidenze riguardo alla possibile modifica della terapia antibiotica di fronte ad un risultato negativo (25).

Sulla base dei dati sopra riportati, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente

Qual è l'importanza e l'utilità dell'esame rispetto all'esito primario?

- Importante
- Probabilmente importante
- Non importante
- Non ci sono informazioni

b 4. Bilanciamento tra i benefici e gli effetti indesiderati

Descrivere tutti gli effetti di un esame, sia quelli desiderabili sia quelli non desiderabili, che andranno ad influenzare le azioni successive. Descrivere l'effetto dell'esame sullo stato di salute del paziente e le ricadute sulle attività di vita quotidiane. Chiarire inoltre in che misura l'esame contribuisce alla diagnosi.

Evidenze

I risultati ottenuti dall'analisi molecolare sono solitamente disponibili in circa 6-8 ore e forniscono informazioni utili ad ottimizzare la terapia. Se il risultato dell'analisi molecolare è negativo, la terapia antibiotica può essere interrotta se l'esame ha alta specificità e elevato valore predittivo negativo. Se il risultato dell'analisi molecolare è positivo e l'esame ha alta sensibilità, la terapia antibiotica può essere protratta. La combinazione delle emocolture e l'analisi molecolare potrebbe migliorare la sensibilità. L'analisi molecolare permette di identificare gli organismi patogeni o rivelare la presenza di antibiotico-resistenza guidando la corretta terapia (21).

I metodi molecolari o fenotipici non consentono un accurato riconoscimento dell'agente che causa l'infezione, nonostante la rapidità nel riconoscimento delle emocolture positive. Una scorretta identificazione del microrganismo potrebbe determinare un inappropriato ed inefficace cambiamento della terapia antibiotica, con possibili ripercussioni gravi sulla salute del paziente. Inoltre, all'interno di un'emocultura potrebbero essere presenti più microrganismi, alcuni dei quali contaminanti. In questo caso l'esame rapido potrebbe non essere in grado di identificare tutti i patogeni fornendo risultati assimilabili a dei FN. Infine i test rapidi potrebbero generare dei risultati FP a causa di culture contaminate, o FN dovuti alla scarsa crescita dei microrganismi in cultura (24,25).

Sulla base dei dati sopra riportati, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente

Il rapporto tra i benefici e gli effetti indesiderati favorisce l'intervento o il confronto?

- A favore dell'intervento
- A favore dell'esame già in uso
- Non lo so

b 5. Utilizzo delle risorse

Valutazione dei costi, delle risorse necessarie e del rapporto costo efficacia dell'intervento.

Descrivere i tipi di risorse richieste per l'implementazione e l'uso dell'esame, installazione di attrezzature e forniture necessarie ed eventualmente la necessità di spazi dedicati. Descrivere l'impatto dell'esame sui costi indiretti sanitari. Riportare il livello di qualifica professionale, eventuali necessità di formazione e di aggiornamento del personale dedicato.

Evidenze

Non sono stati individuati studi che eseguono una valutazione economica. I costi medici diretti dipendono dalla lunghezza della permanenza dei pazienti in ospedale, dal numero di esami di laboratorio eseguiti e ripetuti, dai costi relativi ai reattivi o ad altre procedure diagnostiche o altri costi farmaceutici sostenuti (24). Altri costi eventualmente da considerare riguardano lo spazio necessario in laboratorio e il costo dello personale dedicato.

Sulla base dei dati sopra riportati, il partecipante al gruppo di lavoro esprime il proprio giudizio compilando lo schema seguente

I costi stimati o misurati del test valutato

- Costi ingenti (>...)
- Costi moderati (<...>)
- Costi esigui (<...)
- Non lo so

c. Definizione della decisione finale

c 1. Equità, accettabilità e fattibilità

Valutazione dell'introduzione dell'esame nel contesto del sistema sanitario, considerando le diverse politiche sanitarie in ambito nazionale e regionale oltre ai contesti locali. Considerare le opportunità di accesso all'utilizzo dell'esame, se l'esame può essere richiesto a tutti i pazienti, anche quelli vulnerabili, se l'utilizzo dell'esame viola/influenza l'integrità culturale e/o morale o religiosa del paziente. Reazioni e conseguenze causate dall'esame a livello sociale.

Sulla base dei dati sopra presentati, il partecipante al gruppo di lavoro deve esprimere il proprio giudizio compilando lo schema seguente

L'introduzione dell'esame influenza l'accesso alle cure?

- Sì
- Probabilmente sì
- No
- Probabilmente no
- Non lo so

L'esame è di interesse per le parti coinvolte (regione, azienda sanitaria, pazienti)?

- Sì
- No
- Non lo so

- Sulla base delle evidenze valutate, risulta fattibile l'introduzione del test? Sì No Non lo so
- L'uso dell'esame modifica le decisioni cliniche? Sì No Non lo so

BIBLIOGRAFIA

- Schünemann HJ, Mustafa R, Brozek J, et al. GRADE Working Group. GRADE Guidelines: 16. GRADE evidence to decision frameworks for tests in clinical practice and public health. *J Clin Epidemiol* 2016;76:89-98.
- Alonso-Coello P, Schünemann HJ, Moberg J, et al. GRADE Working Group. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks: a systematic and transparent approach to making well informed healthcare choices. 1: Introduction. *BMJ* 2016;353:i2016.
- <https://snlg.iss.it/> (ultimo accesso: dicembre 2018).
- Schünemann HJ, Oxman AD, Brozek J, et al. GRADE Working Group. Grading quality of evidence and strength of recommendations for diagnostic tests and strategies. *BMJ* 2008;336:1106-10.
- Trenti T, Schünemann HJ, Plebani M. Developing GRADE outcome-based recommendations about diagnostic tests: a key role in laboratory medicine policies. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:535-43.
- Alonso-Coello P, Oxman AD, Moberg J, et al. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks: a systematic and transparent approach to making well informed healthcare choices. 2: clinical practice guidelines. *BMJ* 2016; 353:i2089.
- Ferrante di Ruffano L, Hyde CJ, McCaffery KJ, et al. Assessing the value of diagnostic tests: a framework for designing and evaluating trials. *BMJ* 2012;344:e686.
- Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *BMC Med Res Methodol.* 2007 : https://amstar.ca/Amstar_Checklist.php (ultimo accesso: settembre 2018).
- Hailey D. Toward transparency in health technology assessment. Checklist for HTA Reports. *Int J Technol Assess Health Care* 2003; 19:1-7.
- Grilli R, Magrini N, Penna A, et al. Practice guidelines developed by specialty societies: the need for a critical appraisal. *Lancet* 2000 ;355(9198):103-6.
- Brouwers M, Kho ME, Browman GP, et al. for the AGREE Next Steps Consortium. AGREE II: Advancing guideline development, reporting and evaluation in healthcare. *CMAJ* 2010;182:E839-42.
- Srinivasan L, Harris MC. New technologies for the rapid diagnosis of neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 2012;24:165-71.
- Stoll BJ, Hansen NI, Adams-Chapman I, et al. Neurodevelopmental and growth impairment among extremely low-birth-weight infants with neonatal infection. *JAMA* 2004;292:2357-65.
- Kaufman D, Fairchild KD. Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very-low-birth-weight infants. *Clin Microbiol Rev* 2004 ;17:638-80.
- Tam PY, Bendel CM. Diagnostics for neonatal sepsis: Current approaches and future directions. *Pediatr Res* 2017 doi: 10.1038/pr.2017.134.
- Venkatesh M, Flores A, Luna RA, et al.. Molecular microbiological methods in the diagnosis of neonatal sepsis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:1037-48.
- Simonsen K, Anderson-Berry AL, Delair SF, et al. Early-onset neonatal sepsis *Clin Microbiol Rev* 2017; 27:21-47.
- Goldstein B, Giror B, Randolph A et al. International pediatric sepsis consensus conference: definition for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatric Crit Care Med* 2005;6:2-8.
- Tam PY, Bendel CM. Diagnostics for neonatal sepsis: Current approaches and future directions. *Pediatr Res* 2017 . doi: 10.1038/pr.2017.134.
- Vouloumanou EK, Plessa E, Karageorgopoulos DE et al. Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2011; 37:747-62.
- Pammi M, Flores A, Versalovic J, et al. Molecular assays for the diagnosis of sepsis in neonates. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 25;2:CD011926
- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017;43:304-77.
- Australia and New Zealand Horizon Scanning Network. Horizon Scanning Technology Prioritising Summary. Rapid molecular assay for the diagnosis of sepsis and identification of sepsis causing pathogens. Adelaide Health Technology Assessment 2010 <http://www.horizonscanning.gov.au/> (ultimo accesso: dicembre 2018).
- Buehler SS, Madison B, Snyder SR, et al. Effectiveness of practices to increase timeliness of providing targeted therapy for inpatients with bloodstream infections: a laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:59-103.
- NICE 2016 no. 20. Test for rapidly identifying bloodstream bacteria and fungi (LightCucler SeptiFast Test MGRADE, Sepsitest and IRIDICA BAC BSI assay). <https://www.nice.org.uk/> (ultimo accesso: settembre 2018).
- NICE 2016 no 51: Sepsis: recognition, diagnosis and early management. <https://www.nice.org.uk/> (ultimo accesso: settembre 2018).

