

VALUTAZIONE COMPARATIVA DI UN KIT COMMERCIALE E DI UN SISTEMA IN HOME DI REAL TIME PCR PER LA DIAGNOSI DI T. CRUZI

A. Antonelli ³, F. Perandin ⁵, F. Formenti ⁵, A. Angheben ¹, G.M. Rossolini ⁴, Z. Bisoffi ²

¹Centro per le Malattie Tropicali, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona

²Centro per le Malattie Tropicali, U.O. Microbiologia e SAELMT, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona

³Dip. di Medicina Sperimentale e Clinica, Univ. di Firenze

⁴Dip. di Medicina Sperimentale e Clinica, Univ. di Firenze; Fondazione Don Gnocchi; UO Microbiologia e Virologia, AOU Careggi; Dip. di Biotecnologie Mediche, Univ. di Siena

⁵UO Microbiologia e SAELMT, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona

INTRODUZIONE

Il *Trypanosoma cruzi* è un parassita che viene trasmesso all'uomo attraverso le feci di alcune specie di cimici. Altre vie di infezione sono la trasfusione di sangue, il trapianto d'organo, la trasmissione congenita, il consumo di cibi o bevande contaminate dal parassita. L'infezione causa la malattia di Chagas, con una fase acuta (parassitemica) e una cronica (che coinvolge apparati, principalmente cardiaco e gastroenterico). La diagnosi di laboratorio avviene mediante osservazione microscopica (fase acuta), con metodi sierologici e con PCR. Quest'ultima è molto utile nei casi di riattivazione dell'infezione e nel seguire i pazienti in terapia, ma la sua sensibilità dipende molto dal tipo di PCR utilizzata. Un recente studio internazionale ha validato una Multiplex PCR, che ha come target sia il DNA satellite (SAT) che il DNA del kinetoplasto (K) di *T. cruzi*, indicandola come PCR di riferimento (Ramirez JC et al). Commercialmente sono presenti kit in Real time PCR (RT-PCR) per la diagnosi molecolare del parassita. In questo studio è stato messo a confronto il sistema proposto da Ramirez con il kit della ditta Progenie Molecular, che ha come target il DNA SAT.

METODI

101 campioni di sangue in EDTA sono stati raccolti da altrettanti pazienti con sierologia positiva per *T. cruzi* e congelati a - 20°C fino al momento dell'estrazione del DNA. Quest'ultima è stata eseguita con l'estrattore MagnaPure LC.2 (Roche). La RT-PCR in home (h-RT-PCR), è stata eseguita come descritto da Ramirez JC. et al.; i controlli positivi e il controllo interno sono stati forniti dal Dr AG Schijman. Sui medesimi campioni di DNA è stata eseguita l'amplificazione con il kit Progenie.

RISULTATI

La h-RT-PCR ha rivelato la presenza del DNA di *T. cruzi* in 8 su 101 campioni di sangue. Di questi, 4 campioni sono risultati positivi per entrambi SAT e K DNA, mentre 4 solo per K. Il metodo commerciale ha individuato solamente i 4 campioni positivi per SAT/K alla h-RT-PCR.

CONCLUSIONI

Il sistema h-RT-PCR si è dimostrato il metodo più sensibile. La minor sensibilità del kit commerciale potrebbe essere dovuta al fatto che amplifica un solo target. Per cui se il clinico/laboratorio conosce la provenienza dei suoi pazienti può orientarsi nella scelta del kit in quando è riportato in letteratura che la regione SAT è target preferenziale per genotipi di *T. cruzi* I,II, III e IV (presenti prevalentemente in Colombia, Messico e Brasile), mentre per i genotipi V e VI (presenti prevalentemente in Argentina e Bolivia) è preferibile amplificare la regione K.