BIOLOGIA MOLECOLARE PER PROTOZOI INTESTINALI

V. Besutti [2], A. Raglio [3], G.d.s.p.l.p. Amcli-Cosp [1]
[1]*Gruppo di studio per la parassitologia*
[2]*Microbiologia e Virologia, Azienda ospedaliera di Padova*
[3]*Prevenzione e Controllo Infezioni, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo*

Introduzione
L'esame microscopico (O&P) è il metodo tradizionale per la ricerca dei parassiti fecali. O&P manca di sensibilità e specificità e richiede un elevato livello di conoscenza morfologica. Vi sono altri fattori che influiscono sulla sensibilità come la sporadica emissione di parassiti (richiesta di campioni multipli), la raccolta e conservazione del campione e la terapia in atto.
La ricerca dei protozoi intestinali si basa anche su tecniche immunocromatografiche o di immunofluorescenza. Sono stati pubblicati studi che hanno dimostrato la maggiore sensibilità e specificità dei test bio-molecolari. Vi sono in commercio kit che ricercano: Entamoeba histolytica, Giardia duodenalis, Cryptosporidium spp., Dientamoeba fragilis. Alcuni ricercano anche Blastocystis spp e Cyclospora cayetanensis.
Scopo della relazione è valutare l'impiego di RT PCR per la diagnosi di protozoi fecali, confrontando alcuni kit commerciali con metodo "in house".
Metodi
L'esame tradizionale è stato eseguito su tre campioni fecali, raccolti in liquido fissativo e a fresco. RT PCR è stata messa a punto e validata utilizzando i medesimi campioni. In seguito è stato eseguito un confronto con alcuni sistemi commerciali.
La Revisione bibliografica è stata svolta attraverso PubMed.
Risultati
La biologia molecolare ha confermato una buona sensibilità e specificità per D.fragilis, G. duodenalis, Cryptosporidium spp e E. histolytica. La maggior parte dei kit sono validati con campione fresco.
I risultati forniti dai sistemi commerciali sono sovrapponibili a quelli di RT PCR "in house". Tutta la letteratura conferma la maggiore sensibilità e specificità della PCR. Rari sono i kit approvati da FDA.
Conclusioni
Per la ricerca di protozoi, molti studi hanno dimostrato l'utilità della biologia molecolare rispetto alla microscopia tradizionale, non solo per una maggiore sensibilità e specificità, ma anche a causa di problemi legati alla fase preanalitica e all' interpretazione del microscopista. Oggi la RT PCR è considerata il gold standard per la ricerca dei protozoi intestinali patogeni. Risulta difficoltoso validare RT PCR "in house" perché le feci sono un materiale ricco di inibitori; è necessario trovare un equilibrio tra una quantità di feci che escluda una possibile inibizione e che sia significativa per rilevare anche i bassi positivi.
I centri che non hanno la possibilità di realizzare una RT PCR "in house" troveranno tra i sistemi commerciali quello più consono alle proprie esigenze, dettate dalla modalità di raccolta del campione, dai costi o dalla mancanza in laboratorio di strumentazione dedicata, in modo da adeguare il nuovo sistema nel proprio flusso di lavoro.
AMCLI-CoSP propone nel percorso di diagnosi dei protozoi intestinali la possibilità di utilizzare tecniche di biologia molecolare, ma insiste sulla necessità di mantenere in ogni laboratorio anche un esperienza tradizionale.