P202

PARASSITOLOGIA

VALUTAZIONE DI UNA PCR REAL TIME PER LA DIAGNOSI DI PROTOZOI INTESTINALI

E. Oliva [3], R. Gargiulo [4], S. Varani [6], A. Bruno [2], S. Cavallari [5], M.G. Coppola [7], C. Farina [3], A. Raglio [3], A.C. Amcli-Cosp [1]
[1]*Associazione Microbiologi Clinici Italiani-Comitato Studio Parassitologia*
[2]*U.O.C. Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo di Pavia*
[3]*UOC Microbiologia e Virologia, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo*
[4]*UOC Microbiologia e Virologia, AUSL Modena*
[5]*UOC Microbiologia, ASST Ovest Milanese, Legnano (MI)*
[6]*UOC Microbiologia, Azienda Ospedaliero Universitaria St.Orsola-Malpighi, Bologna*
[7]*UOS Parassitologia, AORN dei Colli, Presidio Ospedaliero di Cotugno, Napoli*

INTRODUZIONE

La diagnosi di parassitosi intestinale rimane una sfida molto importante per molti laboratori in quanto richiede un elevato grado di competenze specifiche da parte del microbiologo. Numerosi studi annoverano il fatto che la biologia molecolare, rispetto alla microscopia, presenta numerosi vantaggi come una maggiore sensibilità e specificità. Scopo dello studio è valutare una RT-PCR nella rilevazione di protozoi intestinali da campioni fecali senza conservante.

METODI

121 campioni sono stati raccolti presso gli ospedali di Bergamo, Bologna, Napoli, Legnano e Modena e conservati a -20 o -80°C. I campioni sono stati esaminati con le tecniche tradizionali:esame macro- e microscopico dopo concentrazione, colorazione con Giemsa o Tricromica, ricerca degli antigeni di Giardia, E. histolytica/dispar o Cryptosporidium e, ove necessario, coltura per amebe.Il DNA è stato estratto con Microlab (NIMBUS).Tutti i campioni sono stati esaminati con multiplex RT-PCR (Biorad, CFX96, Real Time system) attraverso l'uso del kit Allplex GI-Parassite Assay, Seegene.

RISULTATI

Sui 121 campioni le indagini tradizionali hanno permesso di identificare i seguenti protozoi: 31 non patogeni (B. hominis, E. nana, E. coli,E. dispar, C. mesnili), 84 patogeni (22 Giardia lamblia, 53 D. fragilis, 4 Cryptosporidium parvum, 4 E. histolytica, 1 D. fragilis/G. lamblia), 5 positivi solo all'antigene (2 G. lamblia, 2 E. histolytica, 1 C. parvum), 1 negativo da un paziente con positività alla ricerca di anticorpi anti-E. histolytica. RT PCR ha confermato 81/121 concordanti positivi e 27/121 concordanti negativi. E' stata riscontrata la presenza di C. cayetanensis in 2 campioni, con cycle threshold (ct) superiore a 40, assimilabili a falsi positivi, negatività confermata con la microscopia. RT-PCR ha rilevato D. fragilis in 9 campioni risultati positivi per altro parassita con tecnica tradizionale: 6 confermati con revisione vetrino. RT-PCR ha rilevato E. histolytica in un paziente con sierologia positiva, ma Ag e microscopia negativa. E' inoltre stato rilevato un C. parvum, in un campione segnalato positivo solo per B. hominis.

CONCLUSIONI

RT-PCR ha rilevato 6 D. fragilis, 1 C. parvum e 1 E. histolytica non diagnosticate con le tecniche tradizionali. RT-PCR ha, inoltre, confermato 8 falsi positivi per D. fragilis dovuti ad errata interpretazione microscopica, giustificando B. hominis nel pannello Allplex. L'impossibilità di rilettura di 3 vetrini non ha permesso una migliore valutazione della sensibilità. È importante la rilevazione di E. histolytica in paziente con sola sierologia positiva. La tecnologia RT-PCR potrebbe migliorare quindi i limiti della diagnosi delle infezioni intestinali protozoi intestinali con risoluzione dei tempi.