

**PNEUMOCYSTIS JIROVECI: CONFRONTO TRA METODICA IN IMMUNOFLUORESCENZA E TEST MOLECOLARE**

M.S. Caroppo<sup>2</sup>, P. Ravanini<sup>2</sup>, I. Macrì<sup>1</sup>, M.G. Crobu<sup>2</sup>, S. Andreoni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale*

<sup>2</sup>*S.C. Microbiologia e Virologia, AOU Maggiore della Carità di Novara*

**INTRODUZIONE**

La polmonite da *Pneumocystis jirovecii* è un'infezione fungina, in alcuni casi letale, che colpisce più comunemente i soggetti immunocompromessi e risulta ancora oggi l'infezione respiratoria opportunistica più comune e grave nei pazienti con AIDS conclamata.

La colonizzazione polmonare asintomatica può verificarsi anche in individui immunocompetenti che possono diventarne portatori.

In questo studio vengono confrontati i risultati per la ricerca di *Pneumocystis jirovecii* nel liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL), ottenuti con i due metodi diagnostici utilizzati routinariamente in laboratorio, con lo scopo di evidenziarne gli eventuali rispettivi limiti in termini di sensibilità e di specificità e confermare l'adeguatezza alle esigenze cliniche dell'attuale algoritmo diagnostico. Il primo di questi test è un test di immunofluorescenza diretta (IFA), per anni unico test disponibile ma di cui sono noti da tempo i limiti di bassa sensibilità e soggettività nella lettura e interpretazione della fluorescenza, a cui si affianca un test molecolare per la ricerca del DNA di *P.jirovecii* mediante real time PCR.

**METODI**

Nel periodo compreso tra 16/12/2016 e 18/5/2018 sono stati considerati 38 campioni di BAL di pazienti immunodepressi con sintomatologia polmonare e sospetto clinico di polmonite da *Pneumocystis*. Per il test in IFA è stato utilizzato il kit diagnostico Merifluor (Meridian, Cincinnati, USA), secondo la procedura descritta dal produttore. Il test molecolare è stato eseguito mediante estrazione con EasyMag (Bio-Merieux, Bagno a Ripoli, Italia) e successiva amplificazione in Real-Time PCR mediante i reagenti forniti da Fast-Track (FTD *Pneumocystis jirovecii*, Fast-Track Diagnostic Luxembourg, Esch-sur-Alzette, Lussemburgo).

**RISULTATI**

Dei 38 campioni analizzati, 31 sono risultati negativi con entrambi i metodi.

La discrepanza di risultati si è rilevata in caso di positività. Dei 7 campioni positivi in real time PCR, il test IFA ha dato risultato positivo in un solo campione, 4 campioni sono risultati dubbi e 2 hanno dato esito negativo.

Il confronto delle due metodiche, considerando la PCR real time come riferimento, ha dato per il test IFA sensibilità del 29%, specificità del 90%.

Tutti i campioni positivi per *Pneumocystis* hanno mostrato la contemporanea presenza di altri patogeni batterici, virali o fungini.

**CONCLUSIONI**

Il confronto tra i due metodi per la ricerca di *P.jirovecii* ha evidenziato una notevole differenza in termini di sensibilità e specificità confermando, come da letteratura, i problemi interpretativi dell'immunofluorescenza.

Tuttavia, dati i costi elevati, il reale vantaggio dell'introduzione del test molecolare nella routine di laboratorio deve essere confermato mettendo in relazione i risultati ottenuti con il quadro clinico dei pazienti.