

P138

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE DI *LEISHMANIA INFANTUM* A CONFERMA DI UN RARO CASO AUTOCTONO DI LEISHMANIOSI LARINGEA.

Casolari C., Pecorari M., Cesinaro A.M. Fabio G., Tamassia G., Sabbatini A.T., Guaraldi G.*, Gherardi V.*, Imparato S.°, Piolini R.°, Rumpianesi F.

Dipartimento Integrato dei Servizi e di Laboratorio
*Clinica delle Malattie Infettive e Tropicali, Azienda Ospedaliera Policlinico di Modena
°Istituto di Malattie Infettive e Tropicali, Ospedale L.Sacco, Università di Milano

Leishmania infantum risulta raramente diagnosticata come agente di forme mucose autoctone nel nostro Paese. Viene segnalato un caso di leishmaniosi mucosa in un soggetto immunocompetente di 53 anni residente in Abruzzo, ricoverato presso il Policlinico di Modena per una neoformazione laringofaringea e il sospetto di carcinoma. L'esame istologico di uno su tre frammenti biotipici evidenziava, oltre ad una diffusa flogosi granulomatosa, la presenza di alcune strutture ovoidali di 1-3 micron di diametro all'interno di cellule istiocitarie, positive alla colorazione di Giemsa, che deponivano per *Leishmania*. Il paziente non presentava adenomegalia né epatosplenomegalia, aveva valori bioumorali nei limiti e dichiarava di non avere mai effettuato soggiorni all'estero. La ricerca anticorpale in emoagglutinazione indiretta risultava negativa. La biopsia osteomidollare non evidenziava immagini suggestive per leishmaniosi. Un secondo campione biotipico prelevato dalla lesione laringea risultava istologicamente negativo. Sia il primo che il secondo campione venivano sottoposti ad indagine molecolare per confermare il sospetto diagnostico di leishmaniosi. Cellule di *L. donovani* e di *L. infantum* venivano utilizzate come controlli positivi. L'amplificazione dell'acido nucleico mediante nested PCR secondo Noyes (1) confermava la presenza di *Leishmania*. L'identificazione di specie mediante PCR e taglio con enzima di restrizione *Hae* III secondo Minodier (2) portava al riconoscimento di *L. infantum*. Due cicli consecutivi di terapia con amfotericina B liposomiale per 5 giorni consentivano la risoluzione completa del quadro. I risultati ottenuti sottolineano il vantaggio di utilizzare tecniche molecolari nella diagnosi di leishmaniosi, in particolare quando questa si presenta con localizzazioni di raro riscontro. Le forme mucose primitive vanno differenziate da processi neoplastici e forme granulomatose infettive. L'esame istologico non sempre fornisce risultati esaurienti, soprattutto in presenza di una bassa carica parassitaria. L'impiego di una tecnica molecolare sensibile come la nested-PCR associata all'uso di enzimi di restrizione consente in breve tempo una precisa diagnosi differenziale anche a partire da campioni paraffinati.

BIBLIOGRAFIA

1. Noyes et al. J Clin Microbiol 1998
2. Minodier et al. J Clin Microbiol 1997

P139

SIEROLOGIA PARASSITOLOGICA: I LIMITI E L'EFFICIENZA DIAGNOSTICA.

¹Ciarrocchi G., ¹Neri A., ¹Rondello G., ¹Tocchini M., ²Gabrielli O., ²Garbuglia G., ²Mora M., ²Salvatori P.

¹A.O. "Ospedali Riuniti", U.O. Laboratorio Analisi, Settore Sierologia - Ancona;
²U.O. Clinica Pediatrica, Università degli studi di Ancona.

Scopo. Il campo della diagnostica parassitologia spazia dallo studio degli agenti ematici a quelli intestinali ed extra-organici (Amoeba, Giardia, Tenia, Toxocara, ecc.).

I metodi di elezione nella ricerca degli agenti sono tipicamente microbiologici; tuttavia, alcune procedure, dirette e/o colturali, per differenti ragioni, non possiedono livelli soddisfacenti di efficienza diagnostica; in altri casi la ricerca diretta appare addirittura incongrua (Toxocara, Echinococcus). Con tale intento sono stati valutati alcuni test sierologici nel loro ruolo complementare o sostitutivo delle procedure microbiologiche.

Metodi. Durante l'anno 2003 sono stati esaminati un totale di 483 campioni di siero per la ricerca di anticorpi specifici IgG verso *Toxocara canis* (n=160); *Leishmania* sp. (n=90); *Echinococcus* (n=119); *Entamoeba histolytica* (n=103); *Tenia solium* (n=11).

La ricerca riferita a *Toxocara* è avvenuta su campioni di bambini extracomunitari (età: 1-10 anni) a seguito di controlli sanitari di routine post-adozione. Tutti i bambini erano asintomatici o con modeste alterazioni dell'alvo; rilevante è apparsa la frequenza, in tale popolazione, del riscontro di eosinofilia. Terapia medica a base di Mebendazolo (200mg/die per 5 gg) fu somministrata ai soggetti risultati senza equivoco positivi ai test sierologici, dopo ponderata valutazione clinico-anamnestica. Gli altri agenti parassiti furono ricercati su campioni pediatrici e di adulti, per sospetto clinico o per follow up. L'intero pannello di esami fu eseguito con tests elisa (Alifax-Italia), omogenei per tempi di esecuzione e reagenti. I tests di conferma furono Western-Blot test (FGM-Italia) e IFI (MarDx-Alifax).

Risultati. Dei 160 sieri esaminati per *Toxocara*, 53 (42 pazienti) risultarono positivi; 8/103 furono positivi per *Entamoeba*; 10/90 (3 pazienti) per *Leishmania*; 2/119 per *Echinococcus*; 2/11 per *Tenia*.

Il test WB confermò 49/53 (92.4%) dei sieri positivi per *Toxocara*; 9/10 (90%) per *Leishmania*, dei quali 7 campioni appartenevano ad un unico paziente HIV con leishmaniosi viscerale accertata; 2/2 per *Echinococcus*. Di 8 positivi per *Entamoeba*, solo 3 furono invece confermati con test IFI; 1 caso dei 3 presentava una clinica clamorosa, pur in assenza di riscontro microbiologico diretto. Non furono confermati con WB i 2 sieri per *Tenia*, peraltro risultati positivi a *Toxocara*.

Discussione. Il primo approccio mediante un test elisa nella sierodiagnosi parassitologia risulta nel complesso soddisfacente e di rilevante contributo diagnostico per 3/5 esami valutati. Discutibile appare invece il livello di specificità relativo al test per *Entamoeba*.

Infine, di scarsa appropriatezza appare la richiesta di esami sierologici nel follow up, a causa della lunga permanenza di elevati livelli anticorpali IgG, a fronte di una scarsa disponibilità di test affidabili orientati alla ricerca di IgM e/o IgA specifiche.