
CO8.2

**QUANTIFICAZIONE MEDIANTE
REAL-TIME PCR DI GENI DI
TOXOPLASMA GONDII IN PAZIENTI
AIDS CON ENCEFALITE
TOXOPLASMICA (ET) RIATTIVATA**

**Seraceni S., Eudes* N., Peyron F. *,
Giuliodori M., Marchetti D., Cultrera R.,
Contini C.**

Sezione di Malattie Infettive, Dipartimento di Medicina
Clinica e sperimentale, Università di Ferrara.

*Laboratoire de Parasitologie et Pathologie Exotique,
Université Claude Bernard, Lyon, France

La Real-time PCR è stata finalizzata principalmente alla ricerca del gene B1 di *T. gondii*, mentre non sono stati finora esplorati geni coinvolti nello *switch* bradizoita-tachizoita della fase di riattivazione dell'infezione, in pazienti con AIDS.

Obiettivi. Ci siamo prefissi lo scopo di quantificare tramite Real-time PCR (Light Cycler, Roche) la presenza di geni di *T. gondii* stadio-specifici (SAG4, MAG1) in campioni di liquor cefalorachidiano (LCR) di pazienti AIDS con ET, precedentemente testati in n-PCR (1).

Metodi. Sono stati analizzati 39 LCR da 34 pazienti con AIDS (1° episodio di ET o riattivazione). La Real-Time Lyght Cycler PCR (LC-PCR) è stata eseguita impiegando l'LC FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche). La curva dello standard (CS), inserita in ogni Real-time come riferimento, è stata ottenuta clonando i prodotti PCR amplificanti i diversi geni (B1, SAG4, MAG1), del ceppo di controllo RH di *T. gondii*. I risultati sono stati espressi esaminando la soglia di rilevazione del segnale di fluorescenza (Crossing point -Cp). Il Cp di ogni campione è stato rapportato alla concentrazione del parassita ottenuta dalla CS, ottenendo per interpolazione, la quantificazione di *T. gondii*.

Risultati: 18 (46%), 12 (31%) e 16 (41%) positività sono state riscontrate con la n-PCR per i geni B1, SAG4 e MAG1, rispettivamente; 20 (51%), 9 (23%) e 12 (31%) positività sono state invece ottenute con la LC-PCR per gli stessi geni. Valori percentuali concordanti sono stati ottenuti con entrambe le metodiche con ciascun gene in un'elevata percentuale di casi. In generale, percentuali di positività e statisticamente significative sono state ottenute nei pazienti con recidive di ET rispetto a quelli con 1° episodio.

Conclusioni. L'LC-PCR è apparsa più specifica della n-PCR. La CS tuttavia influisce sulla sensibilità della quantificazione. Infatti, mentre per il gene B1 la concentrazione protozoaria captata con l'LC-PCR è risultata assai bassa (circa 10³), per i geni SAG4 e MAG1,

si è dimostrata più elevata, (10³-10⁴). L'applicazione della LC-PCR effettuata con geni bradizoita specifici può assumere un importante valore nel determinare la carica di DNA parassitario e la sua cinetica nei diversi momenti dell'infezione ed in particolare in pazienti che hanno praticato terapia o profilassi specifica.

BIBLIOGRAFIA

1. Contini C., et al. The role of stage-specific oligonucleotide primers in providing effective laboratory support for the molecular diagnosis of reactivated *Toxoplasma gondii* encephalitis in patients with AIDS. *J Med Microbiol* 2002; 51: 879-890.

Lavoro eseguito con i contributi di FEMS Fellowship prize (2003-2004), MIUR 2003, CARIFE e CARICE (2003-2004)

CO8.3

**PARASSITOSI INTESTINALE
ASSOCIATA A SPIROCHETOSI
INTESTINALE:
DESCRIZIONE DEI PRIMI CASI.**

**Calderaro A., Incaprera M., Bommezzadri S.,
Piccolo G., Zuelli C., Villanacci V.,
Arcangeletti M.C., Medici M.C., Dettori G.,
Chezzi C.**

Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio,
Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma;
Secondo Dipartimento di Patologia Chirurgica,
Spedali Civili, Università degli Studi di Brescia.

Infezioni miste da patogeni intestinali coinvolti nell'insorgenza di malattie gastrointestinali compaiono frequentemente nei paesi con basse condizioni igienico-sanitarie e spesso rimangono non diagnosticate a causa della mancanza di adeguati metodi di laboratorio. In questo lavoro descriviamo 7 casi di spirochetosi intestinale da *Brachyspira pilosicoli* e/o *Brachyspira aalborgi* associata a parassiti in pazienti immigrati o italiani viaggiatori in paesi in via di sviluppo che presentavano diarrea persistente e dolori addominali di incerta eziologia.

Vengono descritti casi di spirochetosi intestinale da *B. pilosicoli* associati alla presenza di parassiti patogeni (*Giardia intestinalis* e *Schistosoma mansoni*), casi di spirochetosi intestinale da *B. aalborgi* associata a protozoi patogeni (*Giardia intestinalis*) e casi di spirochetosi intestinale da *B. pilosicoli* + *B. aalborgi* associata a protozoi patogeni (*Entamoeba histolytica*).

Inoltre, vengono descritti casi di spirochetosi intestinale associata a protozoi non patogeni (*Chilomastix mesnili* e *Entamoeba dispar*) o ad incerta patogenicità (*Blastocystis hominis*).

In tutti questi casi l'associazione tra i metodi tradizio-