

gnostici prodotti da Clonit srl, Milano. La real time PCR di riferimento è stata effettuata presso "Institut De Puericulture et De Périnatalogie", Parigi. Con i tre sistemi è risultato positivo un liquido amniotico, mentre con nested e one step PCR si è rilevata la positività di 2 campioni di sangue periferico e 3 campioni di sangue cordonale. Nessun campione di liquor è risultato positivo. La positività del liquido amniotico è stata confermata dall'infezione clinicamente e sierologicamente accertata nel neonato. I 2 prelievi positivi di sangue periferico appartenevano a pazienti con sieroconversione recente e per i 3 campioni di sangue cordonale è ancora in corso il follow-up dei neonati. Possiamo concludere che i dati in nested sono sovrapponibili a quelli preliminarmente ottenuti in singola amplificazione, ma presentano il vantaggio di una maggiore intensità del segnale che ne rende più facile l'interpretazione. L'applicazione del sistema RT PCR sui liquidi amniotici conferma i risultati delle altre metodiche.

P147

STUDIO DELLA PRESENZA IN *IXODES RICINUS* DI *BABESIA* E *RICKETTSIA*

Piccolin G., Lorenzato C., Modolo E., Papa N., Schiavon R., Zasio C., Bertiato G.

Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche e di Microbiologia, Ospedale "S. Martino", Belluno Centro Regionale di riferimento per la diagnostica delle Malattie Trasmesse da Zecche

A seguito di una campagna di raccolta di zecche in 244 siti della provincia di Belluno abbiamo ricercato la presenza di *Babesia* e *Rickettsia* in esemplari di *Ixodes ricinus*. Si tratta di microrganismi agenti di zoonosi ma che possono causare patologie nell'uomo.

Materiali e metodi.

La raccolta delle zecche, col metodo della "coperta strisciata", si è svolta in 40 siti "stagionali" ogni mese, da marzo a settembre, mentre su 204 siti "territoriali", distribuiti in modo da coprire tutta la provincia, è stato eseguito un solo campionamento. Negli adulti il DNA è stato estratto con metodo fenolo/cloroformio, in ninfe e larve con idrossido di ammonio. Ciascun estratto è stato amplificato con i primer 16a/16b specifici per sequenze di DNA mitocondriale di *Ixodes ricinus*, come controllo dell'estrazione e per verificare l'appartenenza alla specie. Per la ricerca di *Babesia* sono stati utilizzati i primers PIRO-A/PIRO-B, e per la ricerca di *Rickettsia* è stata eseguita una Nested-PCR con i primers Ric, Ric-U8 e Ric-Rt: queste coppie di primers amplificano una specifica regione del gene 16S del DNA ribosomiale del microrganismo.

Risultati.

Nei siti "stagionali" sono state raccolte ed analizzate 1931 zecche; in questi siti la positività per *Babesia* e *Rickettsia* è risultata del 1.6%. Nei siti "territoriali" sono state raccolte 4056 zecche; dei 149 siti indagati, in pool, sono risultati positivi per *Rickettsia* il 6% e per *Babesia* il 2%.

Conclusioni.

Nelle aree in cui sono endemiche le infezioni trasmesse da zecche si deve studiare non solo la presenza di *Borrelia*, *TBEV* ed *Ehrlichia*, che possono sviluppare significative malattie nell'uomo, ma anche microrganismi con minore ruolo di patogenicità.

P148

MALARIA DI IMPORTAZIONE: DATI EPIDEMIOLOGICI DEI CASI DIAGNOSTICATI DAL 2000 AL 2003 PRESSO L'OSPEDALE AMEDEO DI SAVOIA (TO)

Sergi G., De Paola M., Castelli L., Fianchino B., Bossi V., Del Re S., Faraoni S., Gregori G., Gallina V., Milano R.

Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, U.O.A. di Virologia e Microbiologia, Osp. Amedeo di Savoia, Torino

Scopo dello studio La malaria, endemica nelle aree tropicali del mondo, è la più comune malattia di importazione in Italia. Per contribuire a definirne il profilo epidemiologico, sono stati analizzati i dati relativi ai casi diagnosticati nel Laboratorio di Microbiologia.

Materiali e Metodi La ricerca del plasmodio è stata eseguita su sangue periferico mediante esame microscopico (striscio sottile e goccia spessa) ed un test immunocromatografico (NOW[®] ICT Malaria P.f./P.v., BINAX).

Risultati

2000-2003: 1007 ricerche di plasmodio; 233 (23,1%) casi positivi (59,2% stranieri e 40,8% italiani) di cui 19 (8,1%) hanno attuato la chemioprolifassi (13 italiani e 6 stranieri).

2000: 274 ricerche di plasmodio, 210 negativi e 64 (23,3%) positivi; 56 infezioni da *P.falciparum* (87,5%), 7 da *P.vivax* (10,9%) 1 mista da *P.falciparum* e *P.malariae* (1,6%).

2001: 256 ricerche di plasmodio, 194 negativi e 62 positivi (24,2%); 51 infezioni da *P.falciparum* (82,2%), 10 da *P.vivax* (16,1%) 1 da *P.malariae* (1,6%).

2002: 236 ricerche di plasmodio, 184 negativi e 52 positivi (22,0%); 46 infezioni da *P.falciparum* (88,5%), 5 da *P.vivax* (9,6%) 1 da *P.ovale* (1,9%).

2003: 241 ricerche di plasmodio, 186 negativi e 55 (22,8%) positivi; 48 (87,3%) infezioni da *P.falciparum*, 4 (7,3%) da *P.vivax*, 2 da *P.ovale* (3,6%), 1 infezione mista da *P.falciparum* e *P.malariae* (1,8%).

Considerazioni L'andamento dei casi di malaria dal 2000 al 2003 non evidenzia una significativa variazione. La percentuale delle infezioni malariche è maggiore fra gli stranieri probabilmente perché, oltre ad aver perso lo stato di premunizione, raramente adottano misure di profilassi farmacologica e/o comportamentale al rientro nel paese di origine. Si evidenzia l'opportunità di informare i viaggiatori sulla necessità di una corretta profilassi per ridurre il rischio di infezione.

P149

PARASSITOSI DA *A. LUMBRICOIDES*, *S. STERCORALIS*, *T. TRICHIURA* ED *ENTAMOEBAS COLI*.

Sala E., Sticca M.*, Spinelli M., Giana G.

Laboratorio di Patologia Clinica, *U.O. Pediatria, Ospedale Sant'Anna - COMO.

Introduzione

Paziente boliviano, maschio di 9 anni, in Italia da 3 mesi. Da tempo lamenta irregolarità dell'alvo con diarrea alternata a stipsi ed algie addominali, a carattere colico. Giunge alla osservazione del P.S. di Pediatria per rialzo febbrile (39°C) con algie addominali di tipo colico prevalentemente ai quadranti di sinistra: il quadro clinico porta al ricovero presso la U.O. di Pediatria.

Metodi

Il paziente viene quindi indagato, nel sospetto clinico di sub-occlusione intestinale, con Rx addome, ecografia addome, valutazione chirurgica ed esami ematochimici di routine.

Risultati

Rx addome: esclude la presenza di aria libera e di evidenti livelli idroarei; assenza di immagini radiopache da formazioni litiasiche a carico dell'apparato urinario; importante distensione gassosa delle anse mesenteriali e coprostasi; non segni di occlusione. Eco addome: nella norma fegato, vie biliari e colecisti; non versamenti liberi peritoneali; tra rene e milza presenza di anse mesenteriali distese da materiale corpuscolato e peristalsi torpida. Visita chirurgica: esclude un quadro occlusivo e consiglia osservazione. Esame emocromocitometrico: la formula leucocitaria evidenzia il 24 % di granulociti eosinofili. Esegue esame coproparassitologico (PARAPAK SAF FORMALIN, Meridian) che evidenzia numerose uova di *A. lumbricoides*, numerose larve di *S. stercoralis*, rare uova di *T. trichiura* e rare cisti di *E. coli*; allo scotch-test: rare uova di *T. trichiura*. Il paziente, tenuto sotto stretta osservazione clinica e in terapia infusionale con soluzione glucosalina, viene successivamente trattato con mebendazolo (100 mgx2 al di per 3 giorni). Segue eliminazione di verme di *A. lumbricoides* della lunghezza di 27 cm. Progressiva risoluzione della sintomatologia clinica.

Conclusioni

Il quadro clinico iniziale, riferibile a sospetta subocclusione intestinale, ed il reperto ecografico di dubbia interpretazione sono stati quindi chiariti alla luce del riscontro di importante parassitosi intestinale. Si sottolinea l'importanza di un accurato raccordo anamnestico (recente immigrazione) ai fini diagnostici di patologie infettive di raro riscontro nella pratica clinica quotidiana.

P150**DESCRIZIONE DEL PRIMO CASO DI LOIASI (FILARIOSI) A PARMA.**

Calderaro A., Piccolo G., Zuelli C., Incaprera, M., 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, viale Gramsci 14, 43100 Parma.

L'aumento degli italiani che viaggiano in paesi in via di sviluppo e degli immigrati che periodicamente rientrano nel loro paese d'origine, è alla base dell'aumento delle malattie d'importazione in Italia. In questi giorni, presso il nostro laboratorio è stato diagnosticato un caso di loiasi, causata da microfilarie trasmesse da un dittero ematofago del genere *Crysops*, presente in Africa centrale ed occidentale e raramente riportata in Italia. Una donna camerunense di 30 anni ha accusato, circa due settimane dopo il suo arrivo in Italia, dolore acuto al bulbo oculare sinistro con sensazione di corpo estraneo.

La paziente era in condizioni di benessere generale, non aveva eosinofilia né indici di flogosi. La consulenza infettivologica richiesta da un centro di accoglienza per immigrati, ha formulato il sospetto di un'infestazione da *Toxocara canis*.

Il siero della paziente, inviato al nostro laboratorio, è risultato negativo per la ricerca di anticorpi anti-*Toxocara* spp. e anti-*Trichinella* spp.

L'anamnesi della paziente aveva fatto sospettare al parassitologo una filariosi e il campione di sangue richiesto allo scopo, sottoposto ad osservazione microscopica a fresco ha

rivelato la presenza di microfilarie mobili e, dopo concentrazione secondo Knott e colorazione con Giemsa, ha consentito di verificare la presenza di microfilarie appartenenti alla specie *Loa loa*.

L'identificazione è stata possibile in seguito alle seguenti caratteristiche morfo-strutturali: lunghezza 300 mm, diametro 7 mm, spazio cefalico 5 mm, presenza di nucleo distale in posizione terminale.

Nel siero, nel plasma e nel sangue è stata riscontrata l'assenza di antigeni specifici di *Wuchereria bancrofti*, microfilaria a maggiore diffusione di *Loa loa*.

La descrizione di questo caso vuole soprattutto richiamare l'attenzione sul ruolo fondamentale che ha assunto il laboratorio di Parassitologia Clinica in questi anni. Infatti, come nel nostro caso, la stretta collaborazione fra infettivologo e parassitologo, preparato a sospettare malattie non endemiche nel nostro paese, ma non per questo assenti, può consentire una tempestiva e corretta diagnosi.

P151**VALUTAZIONE DI HCV CORE ANTIGENE E HCV RNA PCR IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI POLITRASFUSI IN ETÀ PEDIATRICA.**

Tagliaro L., Balbo L., Albano F., Alfara A., Dutto D., Lievre M.A., Rostagno M.F.

A.S.O. O.I.R.M. S.ANNA, c.so Spezia, 60 Torino
Dipartimenti di Patologia Clinica e Scienze pediatriche e dell'adolescenza

Obiettivo Scopo di questo studio è stato il confronto tra i dati analitici di 2 metodiche: la ricerca dell'antigene core HCV e l'HCV RNA PCR al fine di evidenziare il grado di concordanza e gli eventuali limiti.

Materiali e metodi Sono stati esaminati 105 campioni raccolti nel periodo gennaio-dicembre 2003, provenienti da 85 pazienti dei reparti di Microcitemia, Gastroenterologia e Infettivologia, portatori cronici di HCV.

I sieri selezionati risultavano tutti reattivi per anticorpi antiHCV (chemiluminescenza - Vitros ECi) con ratio compresa tra 1.01 e 44.9. Su tutti è stata eseguita la ricerca dell'antigene core (E.L.I.S.A., Track-C Ortho Clinical Diagnostics) ed il dosaggio in PCR con tecnica Real-time Taqman e Cobas Amplicor (HCV Monitor V 2.0 Roche)

Risultati 70 sieri sono risultati positivi per entrambi i dosaggi mentre 31 sono stati concordemente negativi.

I 4 sieri discordanti sono risultati negativi per la ricerca dell'antigene e positivi per HCV-RNA-PC; in particolare sono risultati tutti positivi al test PCR Realtime e alla determinazione quantitativa eseguita con Cobas Amplicor hanno presentato valori tra 2.47×10^2 U.I./ml. e 5.02×10^3 U.I./ml.

Conclusioni Da questi dati possiamo osservare che le due metodiche hanno dimostrato una buona concordanza.

In particolare la specificità di HCV core Antigene è risultata del 100%.

È da segnalare che i casi discordanti hanno presentato una carica virale inferiore alle 8×10^3 U.I./ml., considerato dalla letteratura come limite di sensibilità della metodica.

Il test è risultato di facile impiego ed utilizzabile, anche routinariamente, in laboratori non particolarmente attrezzati per l'approfondimento diagnostico dell'infezione da virus HCV con notevole risparmio di risorse umane ed economiche.