

nali (osservazione microscopica ed esame colturale) e le indagini molecolari (RFLP-PCR per l'identificazione delle spirochete e PCR per l'identificazione di *E. histolytica* ed *E. dispar*), condotte direttamente sui campioni biologici (feci e biopsie coliche), ha consentito una rapida e corretta diagnosi.

La descrizione di questi casi vuole soprattutto richiamare l'attenzione sul ruolo fondamentale che hanno assunto le indagini molecolari nel Laboratorio di Microbiologia Clinica. Nei casi descritti infatti, hanno permesso di porre una rapida e corretta diagnosi consentendo anche di escludere in un caso il sospetto di morbo di Chron.

Per questo motivo abbiamo valutato un ulteriore saggio di nested-PCR (nested-PCR 2002) recentemente descritto in letteratura appositamente per la identificazione di plasmodi della specie *P. ovale* mutati nel gene 18S. Verranno a questo proposito descritti i risultati ottenuti analizzando campioni di pazienti con sospetta malaria mediante nested-PCR 2002 comparativamente ai saggi nested-PCR 1993 e Real-time PCR, al fine di verificare quale saggio tra questi possa essere il più affidabile e specifico da utilizzare per la diagnosi di laboratorio di malaria come supporto all'indagine microscopica.

---

## CO8.4

---

### VALUTAZIONE DI METODI DI RIFERIMENTO PER LA DIAGNOSI MOLECOLARE DI MALARIA

**Calderaro A., Piccolo G., Zuelli C., Perandin F.<sup>1</sup>, Manca N.<sup>1</sup>, Ricci L.<sup>2</sup>, 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;  
<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale ed Applicata,  
Cattedra di Microbiologia, Università degli Studi di Brescia;  
<sup>2</sup>Arcispedale di Reggio Emilia.

Negli ultimi due anni presso il nostro laboratorio sono stati messi a punto e valutati diversi saggi molecolari da affiancare all'indagine microscopica, tutt'ora metodo di riferimento per la diagnosi di laboratorio di malaria, ma poco sensibile e poco specifico. In particolare, saggi di nested-PCR (nested-PCR 1993), real-time-PCR e PCR seguita da ibridazione in micropiastra, si sono rivelati altamente sensibili, specifici e capaci di svelare infezioni miste non rivelate dalla microscopia. Inoltre, i saggi di PCR si sono dimostrati utili anche per aggiornare l'epidemiologia locale della malaria d'importazione. In particolare, grazie a queste indagini molecolari, è stato osservato a Parma un aumento della prevalenza delle infezioni da *Plasmodium ovale*, anche in accordo con i dati nazionali.

Le indagini molecolari da noi valutate hanno mostrato risultati concordanti tra loro nei casi di infezione da *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae*, mentre hanno mostrato risultati discordanti in presenza di infezioni da *P. ovale*. Questo risultato è verosimilmente dovuto alla presenza di mutazioni puntiformi nel gene 18S rDNA di *P. ovale*, come già riportato ampiamente in letteratura, che possono interferire con i saggi di PCR aventi questo gene come bersaglio. Di conseguenza nessuno dei tre saggi da noi valutati può essere considerato un saggio di riferimento molecolare per la specie *P. ovale*.