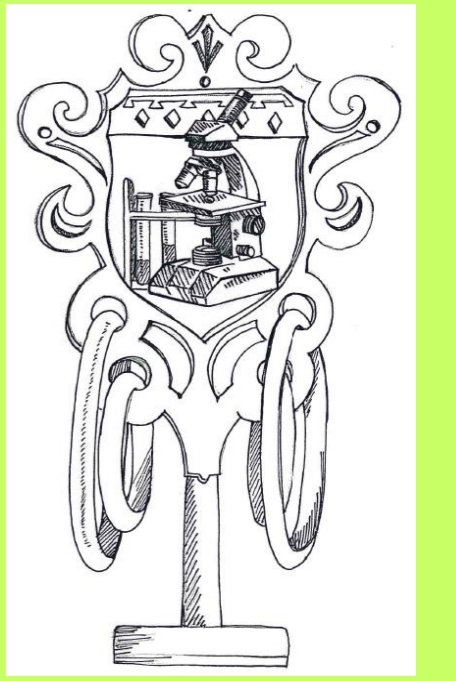




# RICERCA DI *Pneumocystis jirovecii*: REAL TIME PCR VS IMMUNOFLUORESCENZA



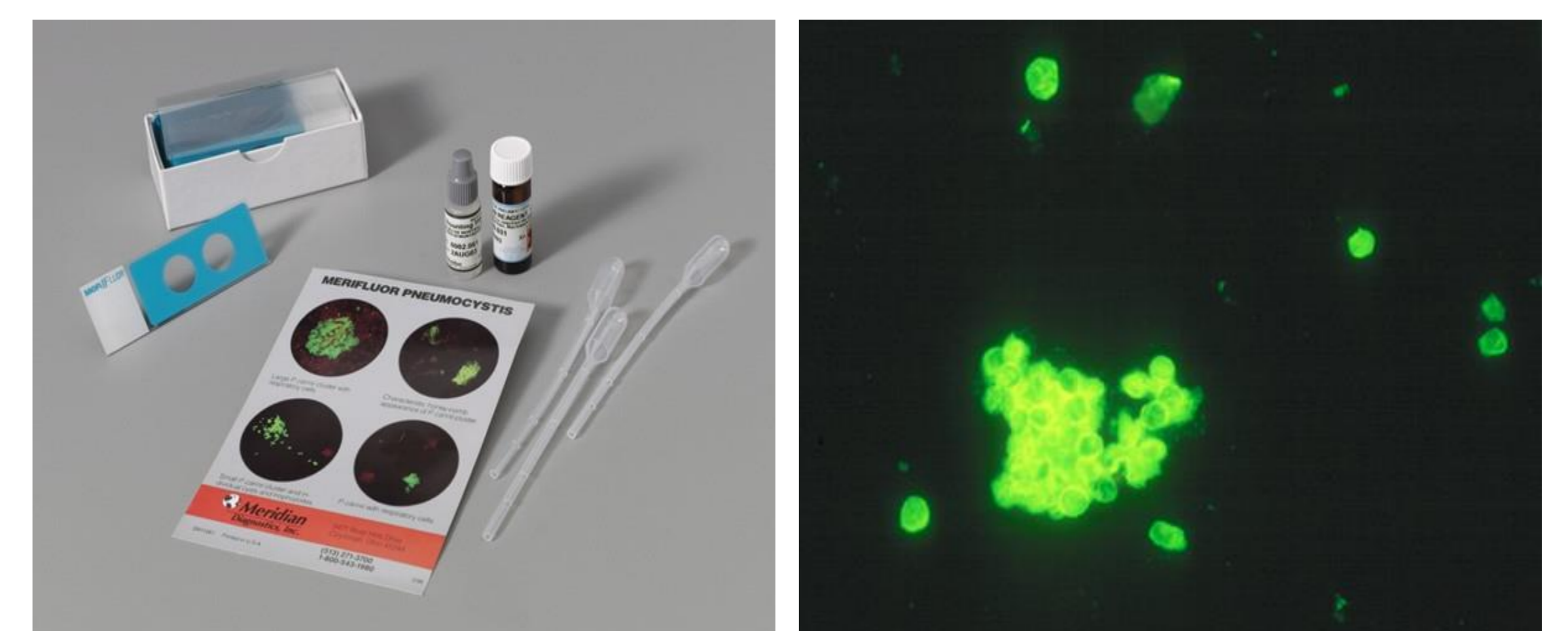
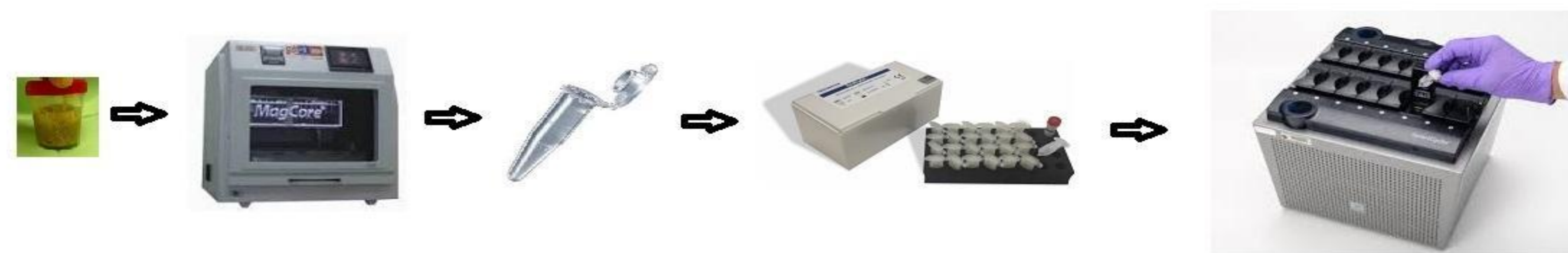
G. Masciarelli <sup>1</sup>, G. Capelli <sup>1</sup>, A. Amici <sup>1</sup>, M. Di Franco <sup>1</sup>, A. Braccioforte <sup>1</sup>, A. De Nicolò <sup>1</sup>, M. Matteucci <sup>1</sup>, G. Testa <sup>1</sup>, V. Sambri <sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O. Microbiologia, Centro Servizi Laboratorio Unico AUSL della Romagna, P.le Liberazione 60, Pievesestina di Cesena, 47522 (FC)

## INTRODUZIONE E SCOPO

*Pneumocystis jirovecii*, precedentemente noto come *P. carinii*, è un fungo patogeno opportunista nell'uomo. Seppur non in grado di determinare infezioni gravi nell'ospite immunocompetente, esso risulta essere responsabile di una grave forma di polmonite interstiziale (PCP) nei pazienti con deficit dell'immunità cellulo-mediata. La ricerca convenzionale di *Pneumocystis jirovecii* è basata sulla dimostrazione microscopica in immunofluorescenza diretta o DFA (tecnica ad oggi riconosciuta come gold-standard), di cisti e trofozoiti in campioni delle basse vie respiratorie. Tuttavia, la continua evoluzione delle metodiche molecolari basate sulla PCR real-time ha portato ad un aumento della sensibilità rispetto alle tecniche convenzionali. Alla luce di quanto esposto, questo studio ha lo scopo di comparare i risultati ottenuti utilizzando una PCR real-time con quelli ottenuti attraverso l'immunofluorescenza diretta, al fine di proporre un ipotetico iter diagnostico basato sull'integrazione delle due metodiche.

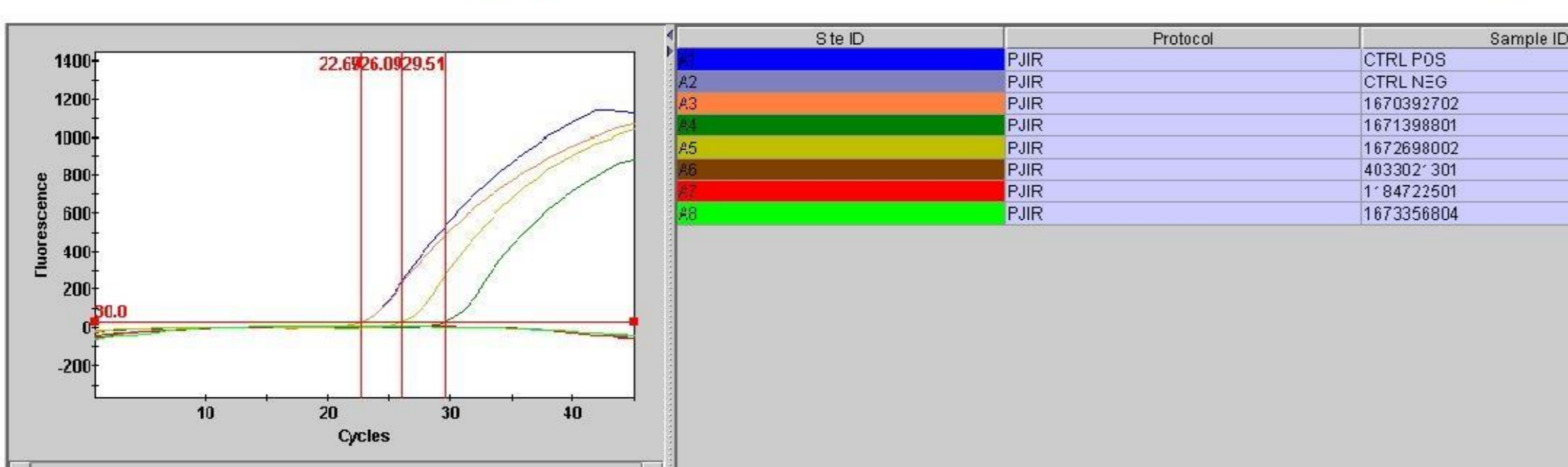
## MATERIALI E METODI



PROGENIE  
MOLECULAR

RealCycler

Pos	Sample	AmplMix	Lot	Channel 1	Channel 2	Channel 3	Channel 4	St
A1	Control +	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	POS 22.69	CHIC VAL 44.10		✓
A2	Control -	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	ND 0.00	CHIC VAL 35.00		✓
A3	1670392702	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	POS 22.67	CHIC VAL* 21.90		✓
A4	1671398801	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	POS 29.81	CHIC VAL* 35.28		✓
A5	1672698002	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	POS 26.09	CHIC VAL* 36.98		✓
A6	4033021301	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	ND 0.00	CHIC VAL 35.05		✓
A7	1184722501	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	ND 0.00	CHIC VAL 34.58		✓
A8	1673356804	PJIR	MK2602C	<i>P. jirovecii</i>	ND 0.00	CHIC VAL 35.20		✓



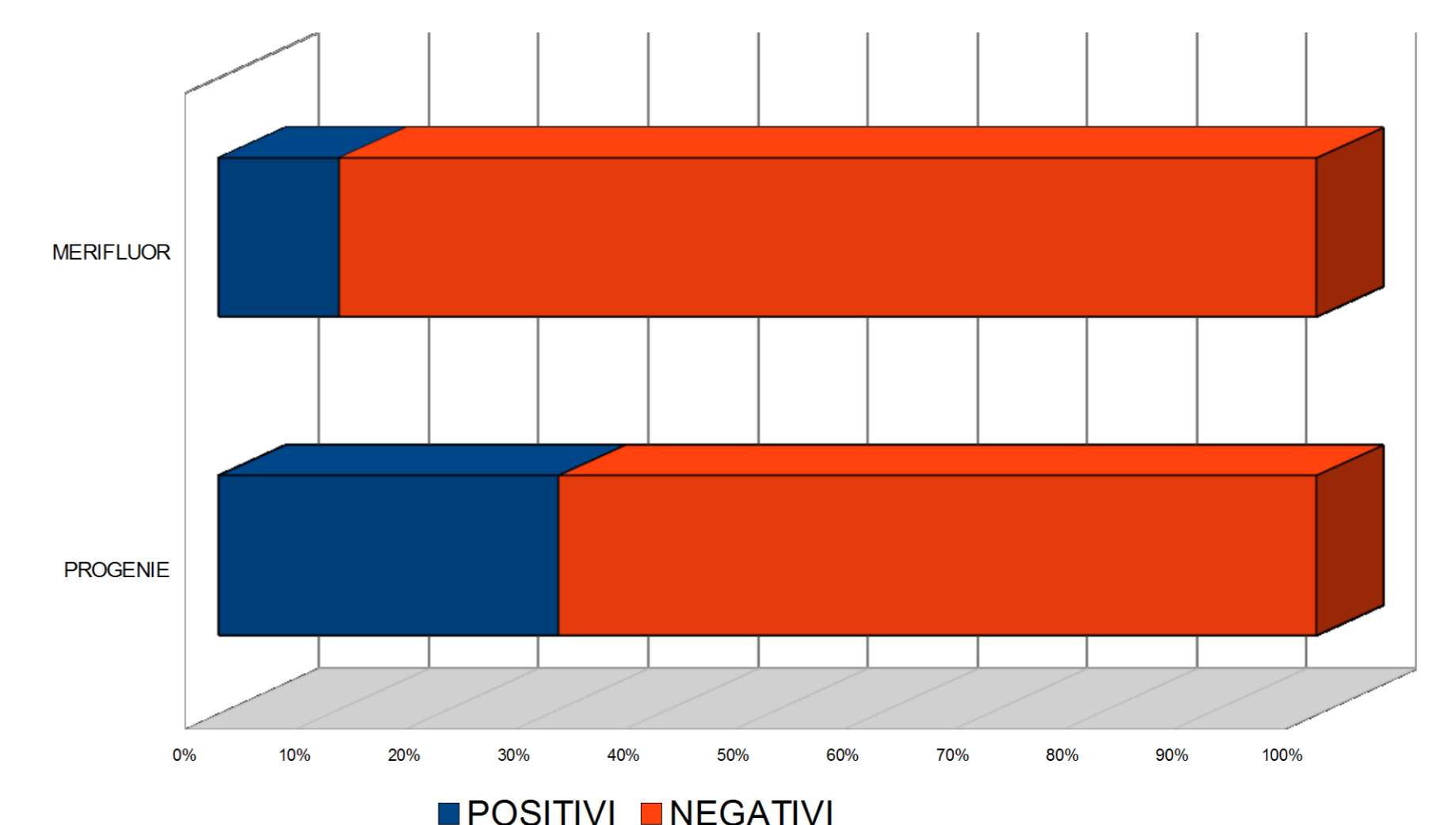
Nel periodo compreso tra Marzo 2015 e Agosto 2016 sono stati analizzati 164 campioni di liquidi di lavaggio bronchiale e bronchioloalveolare provenienti da pazienti immunocompromessi. In prima analisi è stata utilizzata la tecnica dell'immunofluorescenza diretta (MERIFLUOR *Pneumocystis*-MERIDIAN), successivamente è stato utilizzato l'approccio in biologia molecolare attraverso l'utilizzo del Kit *RealCycler* PJIR (PROGENIE MOLECULAR).

## RISULTATI

Real-Time PCR (PROGENIE MOLECULAR): 51 positivi (31%); 113 negativi (69%)

DFA (MERIFLUOR *Pneumocystis*-MERIDIAN): 19 positivi (11%); 145 negativi (89%)

Tutti i campioni risultati positivi in DFA (11%) sono risultati positivi anche in Real-Time PCR.



## CONCLUSIONI

Come atteso, l'analisi in biologia molecolare ha mostrato una più elevata sensibilità; infatti, la metodica eseguita in Real-Time PCR ha identificato un numero di positivi maggiore del 20% rispetto all'immunofluorescenza diretta.

Tenuto conto che il valore predittivo negativo delle tecniche di biologia molecolare risulta molto più elevato rispetto all'immunofluorescenza, può essere giustificato pensare di proporre un iter diagnostico che preveda, in prima analisi uno screening dei campioni in biologia molecolare, in modo da escludere i veri negativi e successivamente, sui campioni positivi, effettuare l'analisi in immunofluorescenza diretta. Ciò permetterebbe la stesura di un referto più completo che tenga conto di entrambi i risultati al fine di fornire al clinico informazioni più complete per una migliore gestione del paziente.