

**MESSA A PUNTO DI UNA REALTIME PCR PER LA DIAGNOSI DI TRICHOSTRONGYLUS SP IN 3 CLUSTER ITALIANI.**

F. Perandin<sup>2</sup>, C. Bonizzi<sup>2</sup>, M. Mistretta<sup>2</sup>, F. Formenti<sup>2</sup>, B. Paiola<sup>2</sup>, Z. Bisoffi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O. di Microbiologia e SAELMT, Centro per le Malattie Tropicali, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona

<sup>2</sup>U.O. di Microbiologia e SAELMT, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona

**INTRODUZIONE**

Il parassita *Trichostrongylus* sp. è un nematode tipicamente presente negli erbivori e distribuito in tutto il mondo. Occasionalmente può infettare l'uomo che ingerisce acqua o verdure accidentalmente contaminate da questo parassita. La sua presenza può essere diagnosticata mediante l'osservazione al microscopio di uova nelle feci. Il genere *Trichostrongylus* sp. è molto affine agli ancilostomatidi in termini di fisiopatologia e morfologia. La diagnosi richiede un esperto microscopista e molto tempo dedicato alla lettura del vetrino (talvolta anche alcune ore). Per questi motivi abbiamo messo a punto una realtime PCR per la ricerca del DNA di *Trichostrongylus* sp. in feci umane, utilizzando come marcatore genetico la regione ITS2.

**METODI**

L'analisi è stata condotta su feci pre-trattate e conservate a -20°C raccolte da soggetti appartenenti a 3 cluster: uno proveniente da Brescia, uno da Torino e uno da Treviso. Dei primi due sono state raccolte e conservate anche le feci delle capre, probabile fonte di infezione. Tutti i campioni fecali sono stati sottoposti all'analisi coproparassitologica con arricchimento (metodo di Ritchie). Il disegno del set di "primers/probe" è stato eseguito con l'ausilio del software Primer Express 3.0 (AppliedBiosystems) previo allineamento con il software Clustalw 2.1 di tutte le sequenze di ITS2-*trichostrongylus* depositate in Genbank.

**RISULTATI**

L'esame tradizionale delle feci del cluster di Brescia ha evidenziato la presenza di rarissime uova nei due campioni fecali precedenti la terapia e nelle feci delle capre, mentre i campioni post-terapia sono risultati negativi. Nel cluster di Torino i soggetti sono risultati negativi per la ricerca del parassita (pre e post-terapia); solo le feci delle capre presentavano uova di *Trichostrongylus* sp. Tali risultati sono stati confermati anche dalla nuova realtime PCR. Nel cluster di Treviso un solo componente è risultato positivo all'esame coproparassitologico segnalando la presenza di un uovo, mentre la realtime PCR ha dato esito negativo.

**CONCLUSIONI**

La realtime PCR messa a punto in questo laboratorio ha confermato i risultati ottenuti con metodo tradizionale fuorché in un soggetto in cui è stata osservata la presenza di un uovo leggendo il preparato ad esaurimento del campione stesso. In questo ambito la discordanza non è da imputare ad una scarsa sensibilità del metodo ma più verosimilmente ad una probabilità statistica di poter analizzare il materiale contenente il parassita. Questi sono dati preliminari ai quali seguirà l'approfondimento mediante analisi di sequenza del DNA di *Trichostrongylus* sp. ritrovato in feci umane e di capra, atto a confermare l'avvenuta trasmissione capra-uomo e la determinazione della sensibilità analitica del metodo.