

AMEBIASI INTESTINALE: METODI CONVENZIONALI E REAL TIME-PCR NELLA DIAGNOSI DIFFERENZIALE

B. Castagna³, F. Papadia³, F. Ferretti³, S. Lico³, A. Dinelli², M. Nardone², R. Mattei², S. Barnini³, F. Bruschi¹

¹Programma Monitoraggio Parassitosi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

²S.C. Analisi Chimico Cliniche, ASL 2, Lucca

³U.O. Microbiologia Univ., Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

INTRODUZIONE

Entamoeba histolytica (Eh) è l'agente eziologico dell'amebiasi intestinale, parassitosi cosmopolita che rappresenta a tutt'oggi un rilevante problema di salute pubblica, con 50 milioni di affetti e 100.000 decessi annui. Essendo Eh morfologicamente identica e antigenicamente cross-reattiva alle specie *Entamoeba dispar* (Ed) e *Entamoeba moshkovskii* (Em), la diagnosi convenzionale non è sufficientemente specifica. Recentemente, l'introduzione di metodiche molecolari, ha reso possibile la ricerca diretta di Eh da campione clinico: RIDA GENE parasitic stool panel (RGp) (R-Biopharm), multiplex Real Time-PCR per l'analisi qualitativa di protozoi enterici quali *Giardia duodenalis* (Gd), Eh, *Cryptosporidium parvum* (Cp), *Dientamoeba fragilis* (Df), ha mostrato elevate sensibilità e specificità.

Scopo dello studio è stato quello di valutare, mediante metodi convenzionali e Real Time-PCR, la prevalenza di amebiasi intestinale su campioni clinici pervenuti presso l'U.O. di Microbiologia-AOUP e di saggiare, analizzando DNA protozoari e campioni fecali di collezione (AOUP e ASL 2, Lucca), l'efficacia di RGp nella diagnosi differenziale di infezione da Eh.

METODI

Sono stati esaminati con metodo coproparassitologico standard (ECPs) (Parapak-Pus Ecofix, Meridian), 2707 campioni fecali provenienti da 1925 pazienti. La ricerca specifica di amebe si è avvalsa, in aggiunta all'ECPs, di indagini colturali (*Entamoeba* test, Apacor), ricerca di coproantigeni del complesso Eh/d (Triage Parasite Panel, Biosite) e ricerca dell'antigene specifico di Eh (Serazym Eh, Seramun). RGp veniva impiegato per la discriminazione di Eh da Ed/Em.

RISULTATI

All'ECPs, 53 soggetti (2,8%) sono risultati positivi per amebe: 31 per la sola *Blastocystis hominis* (Bh), 17 per *Entamoeba* non ascrivibile al complesso Eh/Ed/Em (dei quali 36% poliparassitati per protozoi e/o elminti) e 5 per cisti e/o trofozoiti di Eh/Ed/Em in concomitanza con Gd e/o Bh (n=4) e *Chilomastix mesnili* (n=1). Il saggio per la ricerca di coproantigeni di Eh/d, eseguito nei 5 casi, è risultato negativo solo in un soggetto mentre il test per l'antigene specifico di Eh in tutti. RGp ha escluso la presenza di Eh, ha confermato il riscontro microscopico di Gd e, per due pazienti, ha evidenziato la presenza di Df, sospettata all'indagine colturale. L'analisi mediante RGp di 10 estratti di DNA protozoari e di 18 campioni di collezione ha evidenziato concordanza con i risultati ottenuti in microscopia e ha permesso di diagnosticare un'infezione mista da parte dei flagellati Gd e Df.

CONCLUSIONI

La diagnosi di laboratorio di amebiasi intestinale non può avvalersi solo di metodiche convenzionali, che hanno limiti intrinseci di sensibilità e specificità. Nuove tecnologie, come la Real Time-PCR, si rendono necessarie nella diagnosi differenziale di Eh, soprattutto nei casi di poliparassitosi protozoarie. Utile ed efficace risulta l'impiego di RGp, non solo a fini diagnostici ma anche a scopo epidemiologico, nel monitoraggio dell'andamento di diffusione nella popolazione di protozoi intestinali ad alta patogenicità come Eh.