ID: 10017

NUOVO APPROCCIO DIAGNOSTICO PER LA RICERCA DI PROTOZOI FECALI IN CAMPIONI CLINICI.

F. Perandin [3], F. Formenti [3], M. Valerio [2], M. Mistretta [3], M. Degani [3], M. Gobbo [3], Z. Bisoffi [1]

[1]*Centro per le Malattie Tropicali, U.O. Microbiologia e SAELMT, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona*

[2]*Oncologia Medica, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona*

[3]*U.O. Microbiologia e SAELMT, Ospedale Sacrocuore-Don Calabria, Negrar, Verona*

INTRODUZIONE

La microscopia è il metodo tradizionale per la diagnosi di infezione da parassiti. L'osservazione di trofozoiti e ocisti in campioni fecali è l'approccio classico per la diagnosi di infezione da protozoi, solitamente su 3 campioni di feci in 3 giorni consecutivi. Si tratta di un sistema relativamente semplice, che consente anche di identificare uova o larve di elminti, ma ha i suoi limiti. Alcuni protozoi sono difficili da differenziare al microscopio; l'appropriata identificazione dipende dalla preparazione dell'analista e dall'accuratezza della tecnica impiegata per allestire l'esame.

Recentemente, sono stati sviluppati sistemi diagnostici che si basano sull'amplificazione di frammenti di DNA del parassita, tra cui la metodica di real-time PCR, che per le sue caratteristiche, riduce enormemente il rischio di contaminazione da ampliconi, consente una identificazione specifica e con buona sensibilità, e permette di identificare contemporaneamente più parassiti (multiplex).

Scopo di questo studio è valutare l'impiego della multiplex real-time per la diagnosi di protozoi fecali; confrontare ì risultati della metodica classica con quella molecolare; valutare un nuovo approccio per la diagnosi di infezioni da protozoi.

METODI:

E' stata condotta una analisi statistica mediante il software Stata v14.0 su dati del 2014-2015; in particolare esami coproparassitologici e multiplex realtime-PCR in home (mRT-PCR) eseguiti su campioni fecali di pazienti afferenti al Centro per le Malattie Tropicali di Negrar (VR). L'esame coproparassitologico è stato eseguito su 3 campioni consecutivi di feci raccolte in formalina (con arricchimento secondo Ritchie); la mRT-PCR è stata messa a punto e validata dal laboratorio ed è in grado di indentificare la presenza del DNA di E. histolytica, E. dispar, Criptosporidium sp, D. fragilis, G. intestinalis, e Blastocystis sp. Questo studio è stato condotto su Entamoeba sp, D. fragilis, G. intestinalis, e Blastocystis sp.

RISULTATI:

L'esame coproparassitologico condotto su 3859 campioni ha evidenziato la positività per Entamoeba sp, D. fragilis, G. intestinalis, e Blastocystis sp. rispettivamente nel 4.56%, 4.51%, 5.57%, 26.85% dei casi. La probabilità di individuare il parassita analizzando 1 solo campione fecale con la microscopia è del 77.78%, 51.14%, 82.64%, 81.73% rispettivamente per Entamoeba sp, D. fragilis, G. intestinalis, e Blastocystis sp. Ma associando all'osservazione microscopica l'esame mRT-PCR, la probabilità di trovare il parassita aumenta notevolmente: 94.74%, 84.6%, 98.2% e 94.6%, ed è nettamente superiore a quella di 3 campioni microscopici senza mRT-PCR (73.7%, 38.5%, 25%, 85.9%).

CONCLUSIONI:

I risultati evidenziano l'esame molecolare assieme all'esame coproparassitologico su 1 campione è un ottimo approccio di screening per infezione da protozoi.