

# Diagnosi delle parassitosi intestinali: esame microscopico VS esami molecolari

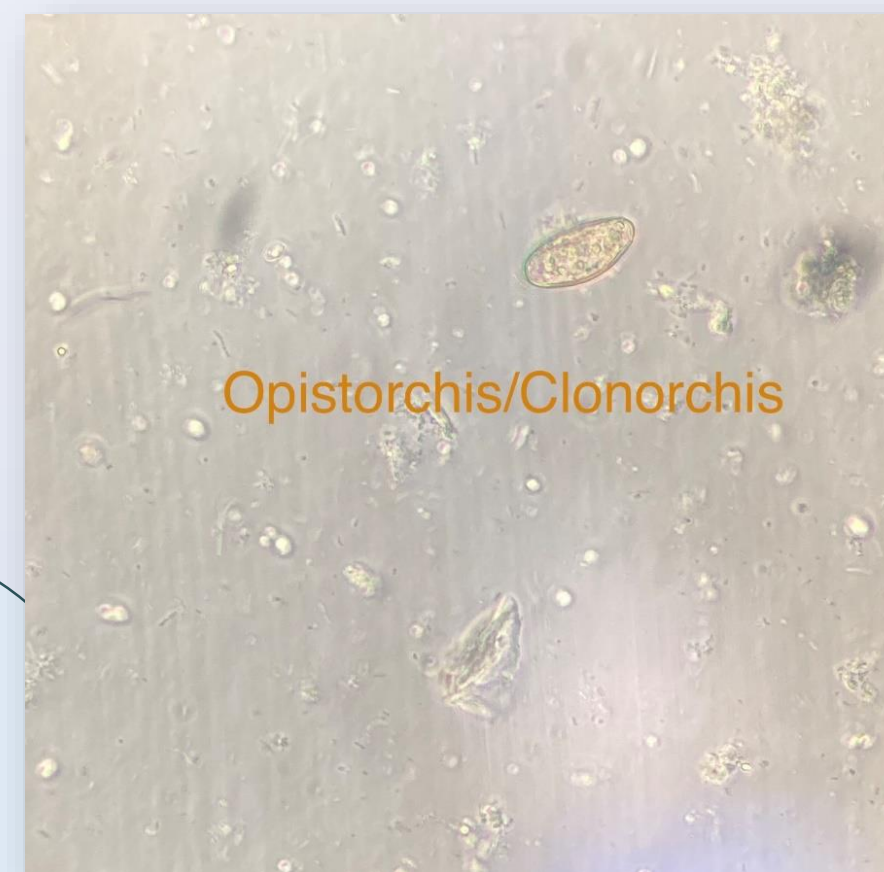
Quaranta Gianluca, Guarnaccia Alessandra, Fancello Giovanni, Agrillo Chiara, Iannarelli Federica, Sanguinetti Maurizio, Masucci Luca

Istituto di Microbiologia

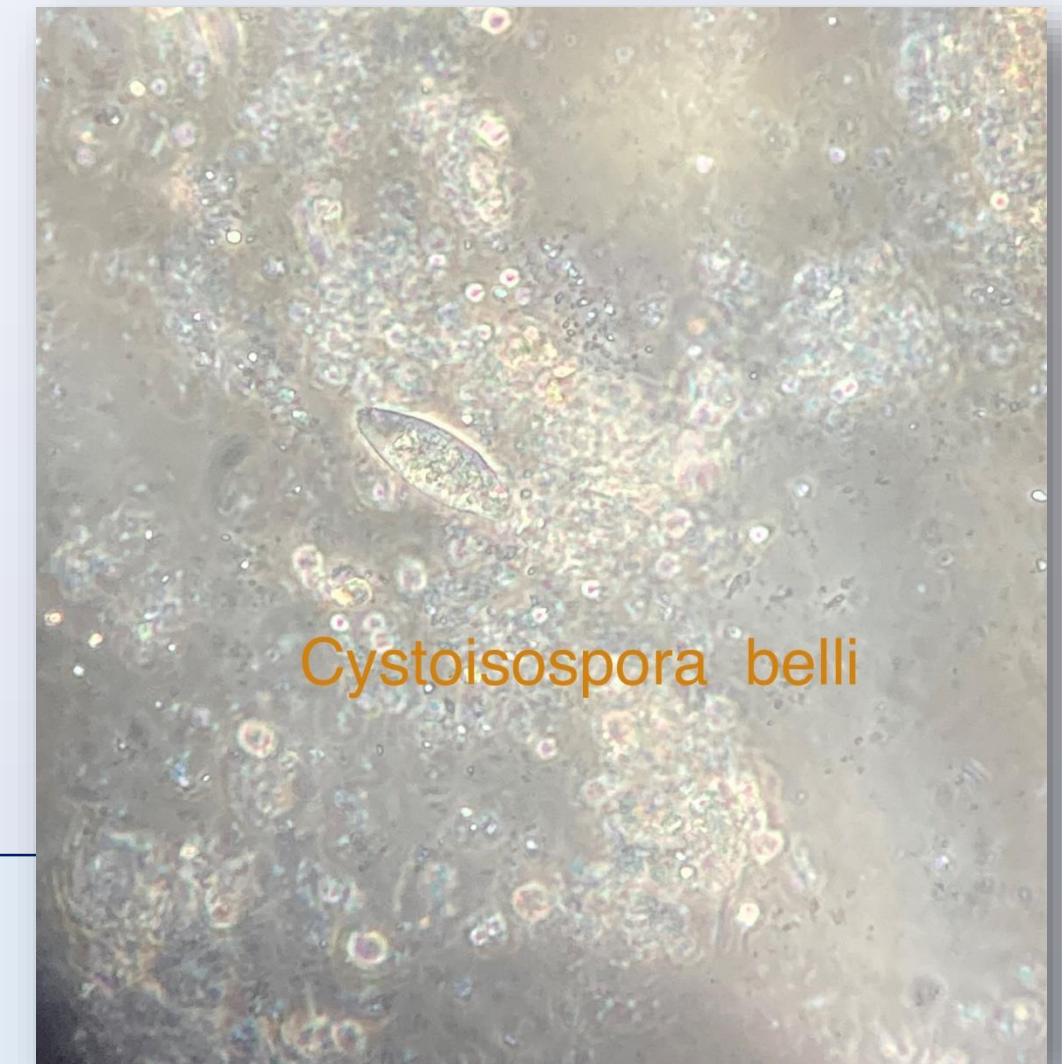
Università Cattolica del Sacro Cuore – Fondazione Policlinico “A. Gemelli” - Roma



Hymenolepis nana



Opistorchis/Clonorchis



Cystoisospora belli

## INTRODUZIONE

La diagnostica di laboratorio in ambito parassitologico sta vivendo una fase di crescente interesse e sviluppo. Infatti, l'esame microscopico dei campioni clinici, che rappresenta ancora la metodica di riferimento, è sempre più supportato dall'introduzione di analisi molecolari. Considerati i limiti e vantaggi che entrambe possiedono, risulta evidente come l'integrazione dei loro risultati possa condurre il parassitologo ad una diagnosi sempre più sensibile e specifica. Alla luce di tali considerazioni, in questo lavoro abbiamo confrontato i risultati ottenuti dall'esame microscopico con quelli ottenuti da tre differenti metodiche molecolari: Filmarray (Biomérieux), Allplex™ Assay (Seegene) e NovoDiag (HOLOGIC).

## RISULTATI

Nome/ID	Esame microscopico	Seegene	NovoDiag	Filmarray
ND 01	Enterobius vermicularis Hymenolepis nana	Non applicabile	Enterobius vermicularis Hymenolepis nana Dientamoeba fragilis	Non applicabile
ND 02	Blastocystis hominis granulare	Negativo	Negativo	Non applicabile
ND 03	Negativo	Blastocystis hominis (ct 39,35) Dientamoeba fragilis (ct 36,77)	Negativo	Non applicabile
ND 04	Negativo	Blastocystis hominis (ct 36,96) Dientamoeba fragilis (ct 36,48)	Negativo	Non applicabile
ND 05	Negativo	Blastocystis hominis (ct 20,77) Dientamoeba fragilis (ct 22,47)	Blastocystis hominis Dientamoeba fragilis	Non applicabile
ND 06	Negativo	Blastocystis hominis (ct 35,68) Dientamoeba fragilis (ct 34,82)	Negativo	Non applicabile
ND 07	Dientamoeba fragilis	Dientamoeba fragilis (ct 30,10)	Dientamoeba fragilis	Non applicabile
ND 08	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 09	Leucociti +++	Negativo	Negativo	Negativo
ND 10	Lieviti +++	Negativo	Negativo	Negativo
ND 11	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 12	Cryptosporidium spp. ?(esame a fresco)	Negativo	Negativo	Negativo
ND 13	Cryptosporidium spp. ?(esame a fresco)	Negativo	Negativo	Negativo
ND 14	Blastocystis hominis	Negativo	Negativo	Non applicabile
ND 15	Forme ameboidi	Negativo	Negativo	Negativo
ND 16	Negativo	Negativo	Dientamoeba fragilis	Non applicabile
ND 17	Leucociti +++	Negativo	Negativo	Negativo
ND 18	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 19	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 20	Negativo	Dientamoeba fragilis (ct 39,16)	Negativo	Non applicabile
ND 21	Negativo	Blastocystis hominis (ct 22,26)	Blastocystis spp.	Non applicabile
ND 22	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 23	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 24	Cisti di Giardia duodenalis	Giardia duodenalis	Giardia duodenalis	Giardia duodenalis
ND 25	Enterobius vermicularis	Negativo	Enterobius vermicularis Dientamoeba fragilis	Non applicabile
ND 26	Cystoisospora belli	Non applicabile	Cystoisospora belli	Non applicabile
ND 27	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
ND 28	Opistorchis spp	Non applicabile	Opistorchis/Clonorchis	Non applicabile
ND 29	Opistorchis spp	Non applicabile	Opistorchis/Clonorchis	Non applicabile
ND 30	Negativo	Non applicabile	Opistorchis/Clonorchis	Non applicabile

## MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati **30** differenti campioni fecali su cui sono state effettuate analisi microscopiche ed analisi molecolari. Le metodiche NovoDiag e Filmarray consentono di analizzare direttamente il campione biologico, mentre l'analisi tramite Allplex Assay necessita di una fase di estrazione degli acidi nucleici. Il kit di estrazione utilizzato è stato il QIAamp Fast DNA Stool mini kit (Qiagen).

## CONCLUSIONI

I risultati delle tre analisi molecolari si sono rivelati conformi riguardo i protozoi target comuni, ad eccezione di *Dientamoeba fragilis* e *Blastocystis hominis*, per i quali sono state evidenziate discordanze tra Allplex e Novodiag. Quest'ultima metodica annovera numerosi target analitici sia protozoi che metazoi, ma, per quanto concerne la ricerca di microrganismi quali *Taenia* spp. ed *Enterobius vermicularis* sarà necessaria l'analisi di un maggior numero di campioni a causa della difficoltà di rilevare le uova di tali elminti in campioni fecali. Inoltre, la metodica Filmarray risulta la meno versatile e confrontabile a causa del suo limitato pannello di target parassitologici. In definitiva, questo studio comparativo ha evidenziato, per alcuni campioni, una discrepanza fra analisi microscopica e test molecolari, sottolineando l'importanza di utilizzare, a supporto della tradizionale microscopia, l'esame molecolare più aderente al caso clinico in oggetto. Tale approccio integrato ha come fine quello di aumentare la sensibilità, l'accuratezza diagnostica e l'ottimizzazione dei tempi di risposta. Tuttavia, i costi gestionali di tale algoritmo diagnostico necessitano di una valutazione che tenga conto della mole lavorativa e delle risorse economiche disponibili.

### VANTAGGI

Identificazione del  
microrganismo  
vitale

Sensibilità +  
Specificità +

Valutazione di più  
campioni clinici

### SVANTAGGI

Operatore dipendente

Soggetto a variabilità  
legata al trasporto ed alla  
conservazione del  
campione

### VANTAGGI

Automatizzazione

Sensibilità ++  
Specificità ++

### SVANTAGGI

Ricerca del genoma (la  
positività non è indice  
di parassitosi in corso)

Rischio di  
contaminazione dei  
campioni



### BIBLIOGRAFIA:

- Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, Paltridge GP, Pillai DR, Procop GW, Ryan M, Shimizu RY, Visvesvara G. Laboratory Diagnosis of Parasites from Gastrointestinal Tract. *Clin Microbiol Rev.* 2017;15;31(1).pii: e00025-17
- World Health Organization (WHO). Research Priorities for Helminth infections. *WHO Technical Report Series, No.972*, 2012