



FAD sincrona
DIAGNOSI DIRETTA MORFOLOGICA DELLE
PARASSITOSI UMANE
Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi
11, 13, 18 ottobre 2023

Diagnosi di *Entamoeba histolytica/dispar*
ed altre amebe

FRANCESCO BERNIERI

Consulente CRRVEQ, Milano, Italia

Comitato di Studio per la Parassitologia – AMCLI-CoSP

Conflitto di interessi

Dichiaro di non avere alcun conflitto di interesse riguardo all'argomento trattato né di aver ricevuto alcun compenso per questa presentazione.

Avvertenza

Non è consentita la video registrazione di questa presentazione, salvo per le finalità previste dalla normativa vigente in tema di Formazione Continua (E.C.M.).

Immagini

Le immagini siglate “CDC” sono tratte da: CDC Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern.

Le immagini siglate “PET” sono tratte da: Petithory JC *et al.* Amibes et Flagellés Intestinaux, Amibes Oculaires - Leur Diagnostic Microscopique.

Le altre immagini sono dal web e, a mia conoscenza, non sono coperte da copyright.

Amebe intestinali più frequentemente riscontrabili nell'essere umano

- *Entamoeba histolytica*
- *Entamoeba dispar*
- *Entamoeba coli*
- *Entamoeba hartmanni*
- *Iodamoeba bütschlii*
- *Endolimax nana*

AMEBIASI

Diagnosi

- **MICROSCOPICA**
 - “A FRESCO”
 - **COLORAZIONI ESTEMPORANEE**
 - **COLORAZIONI PERMANENTI**
- **RICERCA DIRETTA DI ANTIGENI**
- **TECNICHE BIOMOLECOLARI**
- **SIEROLOGICA**
- **COLTURALE**

AMEBIASI

Diagnosi microscopica

- **ESAME A FRESCO**
 - **DIRETTO: Ricerca Trofozoiți (Cisti)**
 - **DOPO CONCENTRAZIONE: Ricerca Cisti (Trofozoiți)**
- **COLORAZIONI ESTEMPORANEE**
 - **DOBELL: Ricerca Cisti (Trofozoiți)**
 - **SARGEAUNT o ARANCIO DI ACRIDINA: Ricerca di Corpi Cromatoidi**
- **COLORAZIONI PERMANENTI**
 - **TRICROMICA: Ricerca e Diagnosi di Specie**
 - **EMATOSSILINA FERRICA: Ricerca e Diagnosi di Specie**
 - **GIEMSA: Ricerca Trofozoiți**

AMEBIASI

Ricerca diretta di Antigeni

Metodi immunocromatografici e ELISA

Diagnosi generica di infezione da *E. histolytica/dispar*

- Ab monoclonali verso Ag genere specifici comuni a *E. histolytica* e *E. dispar*.

Diagnosi specifica di infezione da *E. histolytica*

- Ab monoclonali verso Ag specie specifici esclusivi di *E. histolytica* (funziona bene se presenti trofozoiti molto meno se presenti solo cisti)



NOTA: eseguibili da feci fresche senza conservanti.

AMEBIASI

Biologia Molecolare

- Direttamente dal materiale fecale (fresco o congelato)
- Elevata sensibilità e specificità
- Multiplex rileva e identifica simultaneamente *E. histolytica* e altri patogeni intestinali (*Giardia*, *Dientamoeba*, *Cryptosporidium*)
- Da coltura (in sostituzione dell'analisi zimodemica)

AMEBIASI

Sierologia

- Positiva nelle infezioni invasive da *E. histolytica*
- Negativa nella infezioni da *E. dispar*
- Ab rilevati da IHA e EIA (da Ag nativo purificato) durano numerosi anni (tests non utilizzabili in aree endemiche)
- Ab rilevati da Contro Immunolettroforesi e Gel Diffusione durano 6-12 mesi
- Ab rilevati con Ag ricombinante (frazione 170 kD della Lectina Gal-spec) paiono di breve durata (utilizzabili per distinguere fase acuta da fase convalescente)

AMEBIASI

Esame Culturale

- **TERRENI**

- ROBINSON (xenico): isolamento e mantenimento
- PAVLOVA/JONES: mantenimento
- DIAMOND (axenico): isolamento, analisi zimodemica



- **UTILIZZO**

Scarsamente sensibile non è un'alternativa ad altri metodi di ricerca.

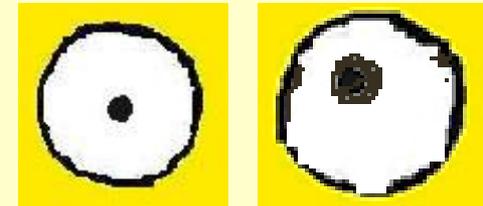
Utile per disporre di un gran numero di trofozoiti per indagini di ricerca come lo studio di potenziali agenti terapeutici o di approfondimento diagnostico come la tipizzazione zimodemica

Morfologia dei nuclei delle Amebe

Le strutture dei nuclei sono apprezzabili dopo colorazione
Le colorazioni migliori sono: Tricromica e Ematossilina Ferrica

- **Studio della struttura del nucleo dopo colorazione**

- Nucleo tipo “Entamoeba”



- Nucleo tipo “Limax”

- Endolimax

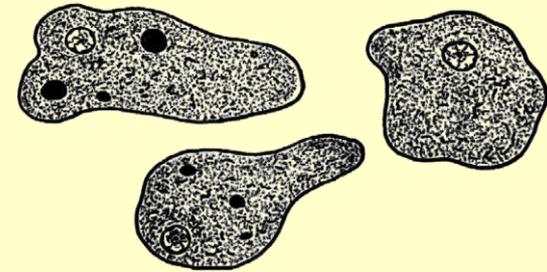


- Pseudolimax



Trofozoiti di *Entamoeba histolytica/dispar*

- Dimensioni: 12-30 μm .
- Nucleo con cromatina periferica uniforme e piccolo cariosoma centrale.
- Citoplasma finemente granulare con inclusioni (batteri, lieviti, emazie).
- Movimento unidirezionale “rapido”.



Tricromica

Trofozoiti di *Entamoeba histolytica*

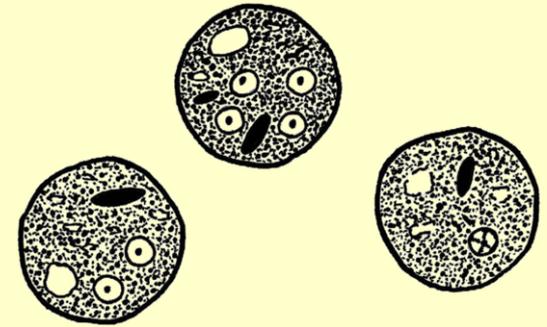
- **MOVIMENTO UNIDIREZIONALE “RAPIDO”**
- **PRESENZA DI EMAZIE INCLUSE**



Entamoeba histolytica

Cisti di *Entamoeba histolytica/dispar*

- Dimensioni: 12 μm (range 10-15 μm).
- Nuclei da 1 a 4.
- Corpi cromatoidi con estremità arrotondate (a forma di sigaro).
- Massa di glicogeno nelle cisti immature.

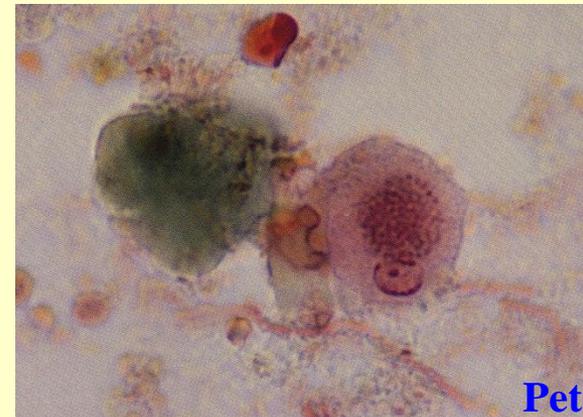
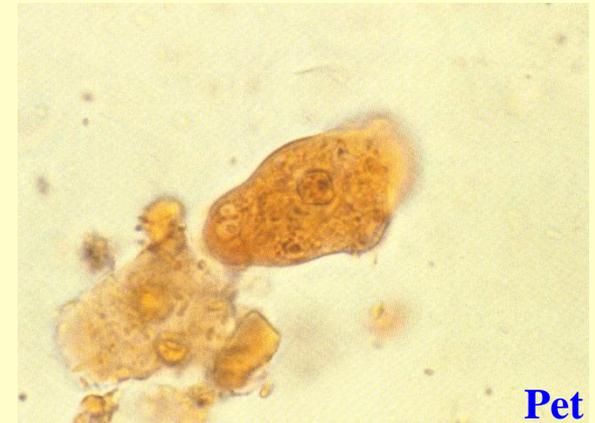
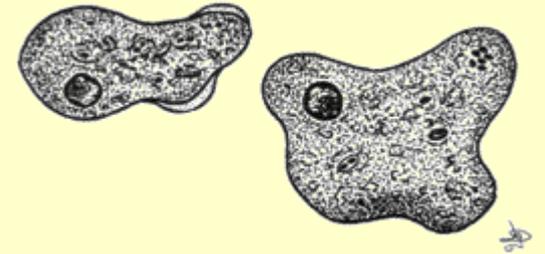


**Altre amebe intestinali
NON PATOGENE
di più frequente riscontro**

- *Entamoeba coli*
- *Entamoeba hartmanni*
- *Iodamoeba bütschlii*
- *Endolimax nana*

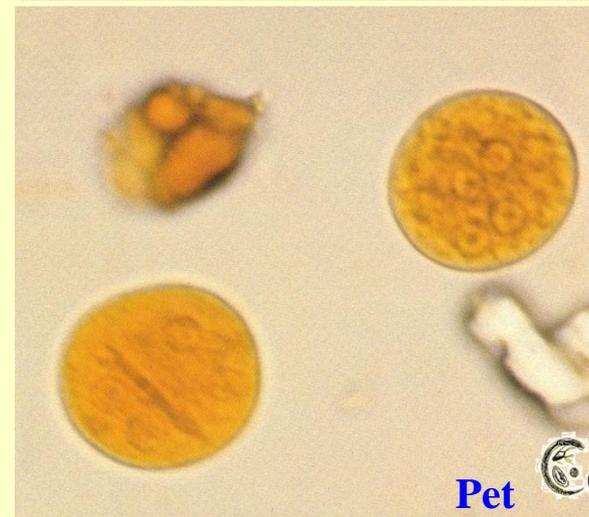
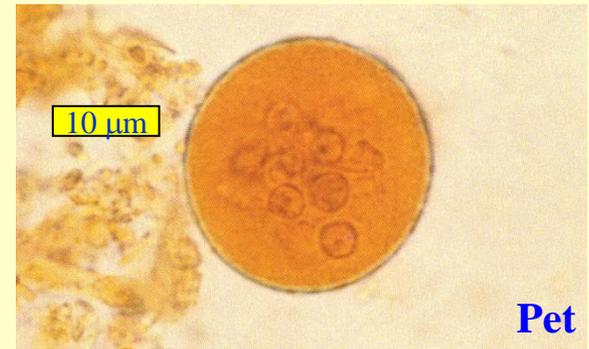
Trofozoiti di *Entamoeba coli*

- Dimensioni: 15-50 μm .
- Nucleo con cromatina periferica in genere non distribuita uniformemente e grande cariosoma in genere eccentrico.
- Citoplasma spesso grossolano e granuloso con inclusioni (batteri, lieviti).
- Movimento “torpido” emette pseudopodi in tutte le direzioni.



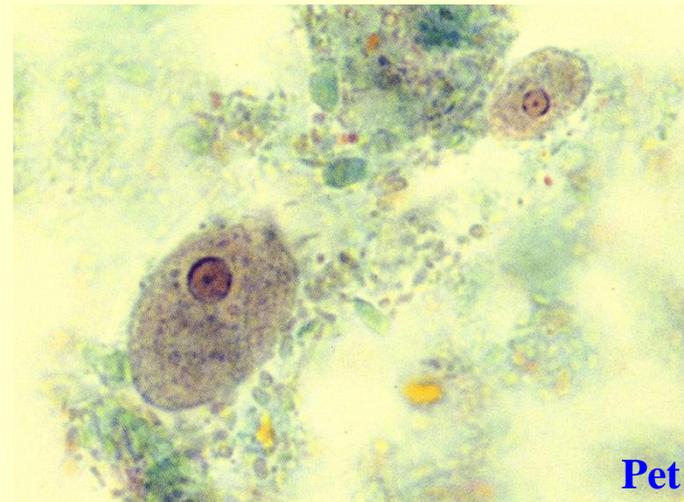
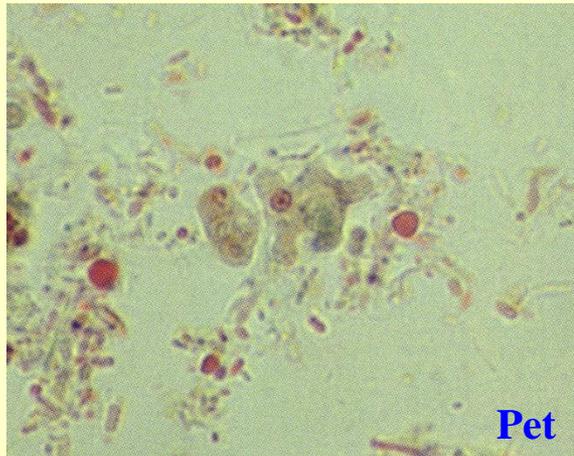
Cisti di *Entamoeba coli*

- Dimensioni: 18-20 μm (range 15-25 μm).
- Nuclei da 1 a 8 (eccezionalmente 16).
- Corpi cromatoidi con estremità sfrangiate ed appuntite (a fascio).
- Massa di glicogeno nelle cisti immature.



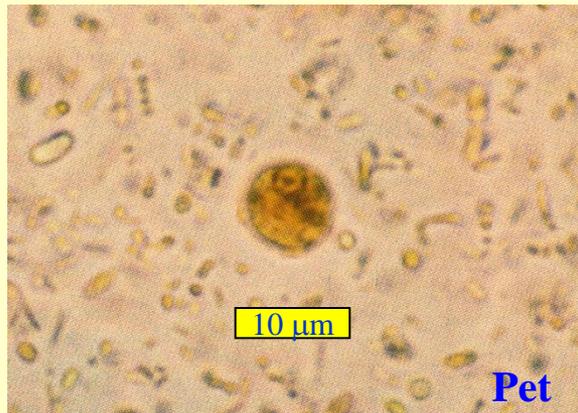
Trofozoiti di *Entamoeba hartmanni*

- Dimensioni: 5-14 μm .
- Nucleo simile a quello di *E. histolytica*.
- Movimento simile a quello di *E. histolytica*.
(a volte pseudopodi in diverse direzioni con aspetto a tessera di “puzzle”).



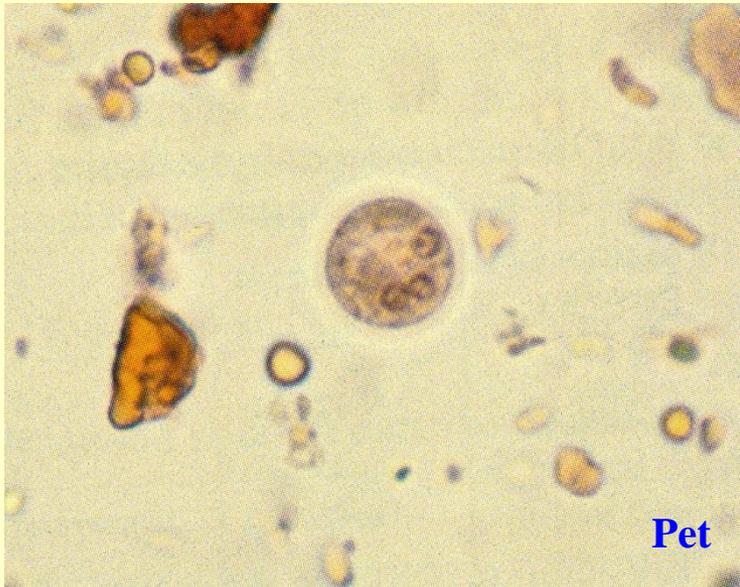
Cisti di *Entamoeba hartmanni*

- Dimensioni: 6-8 μm
- Nuclei da 1 a 4
- Corpi cromatoidi con estremità arrotondate

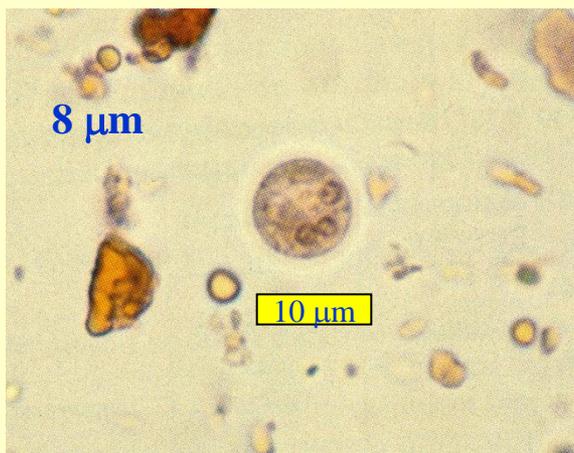


Sono molto simili alle cisti di *E. histolytica/dispar* tranne che per le dimensioni

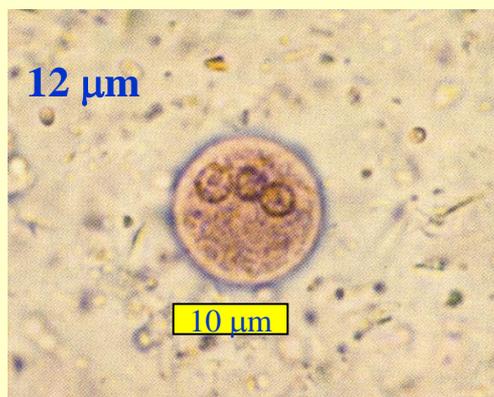
Importanza delle dimensioni



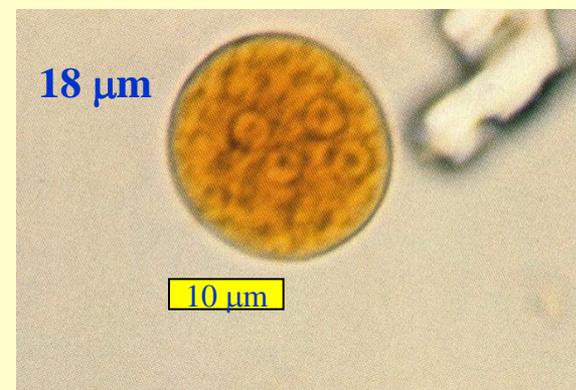
Importanza delle dimensioni



E. hartmanni



E. histolytica/dispar

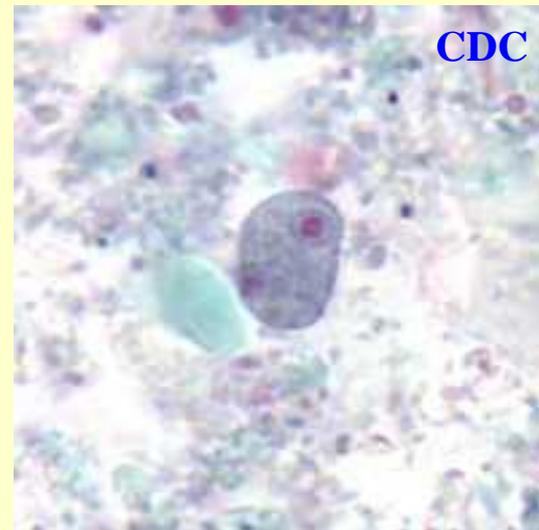
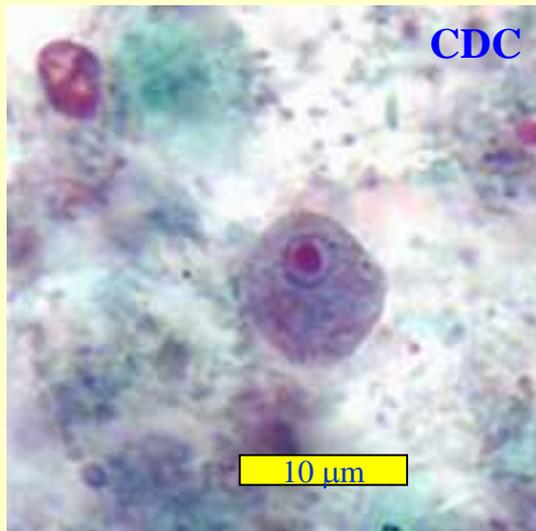


E. coli

Le cisti vanno sempre misurate

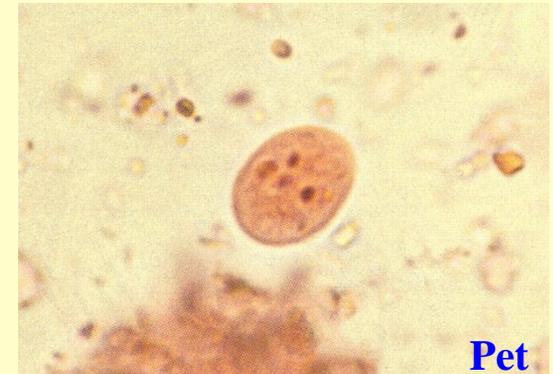
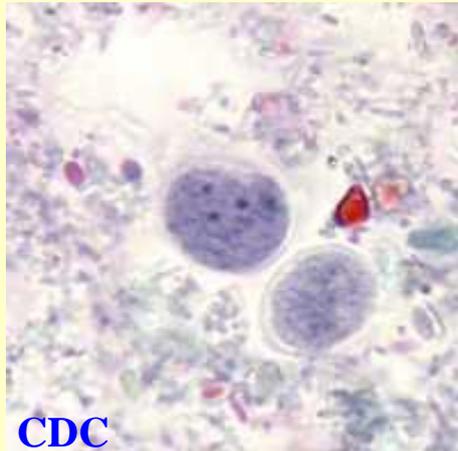
Trofozoiti di *Endolimax nana*

- Dimensioni: 6-15 μm .
- Nucleo con grande cariosoma rotondo ovale spesso eccentrico a volte accollato alla sottile membrana nucleare; assenza di cromatina periferica.



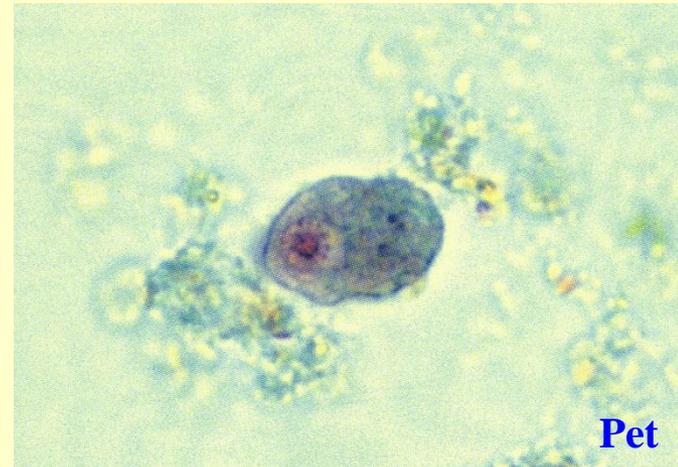
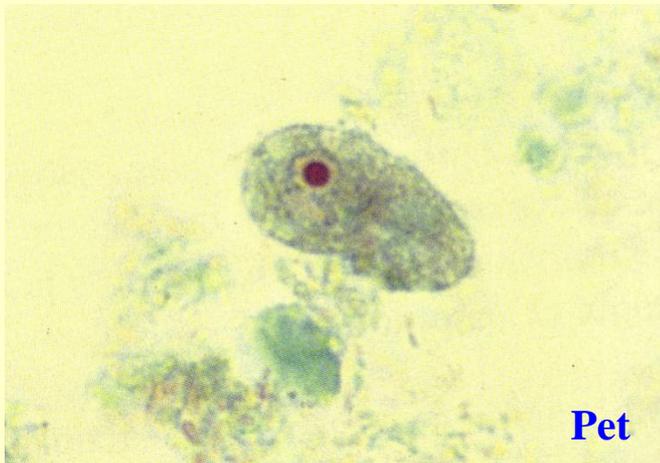
Cisti di *Endolimax nana*

- Dimensioni: 6-8 μm (range 5-10).
- Forma: in genere ellittica ovale.
- Nuclei: 4 con cariosoma simile a quello dei trofozoiti.



Trofozoiti di *Iodamoeba bütschlii*

- Dimensioni: 8-20 μm .
- Nucleo con grande cariosoma rotondo in genere centrale; a volte presenti fini granuli pericariosomici (cromosomi); assenza di cromatina periferica.



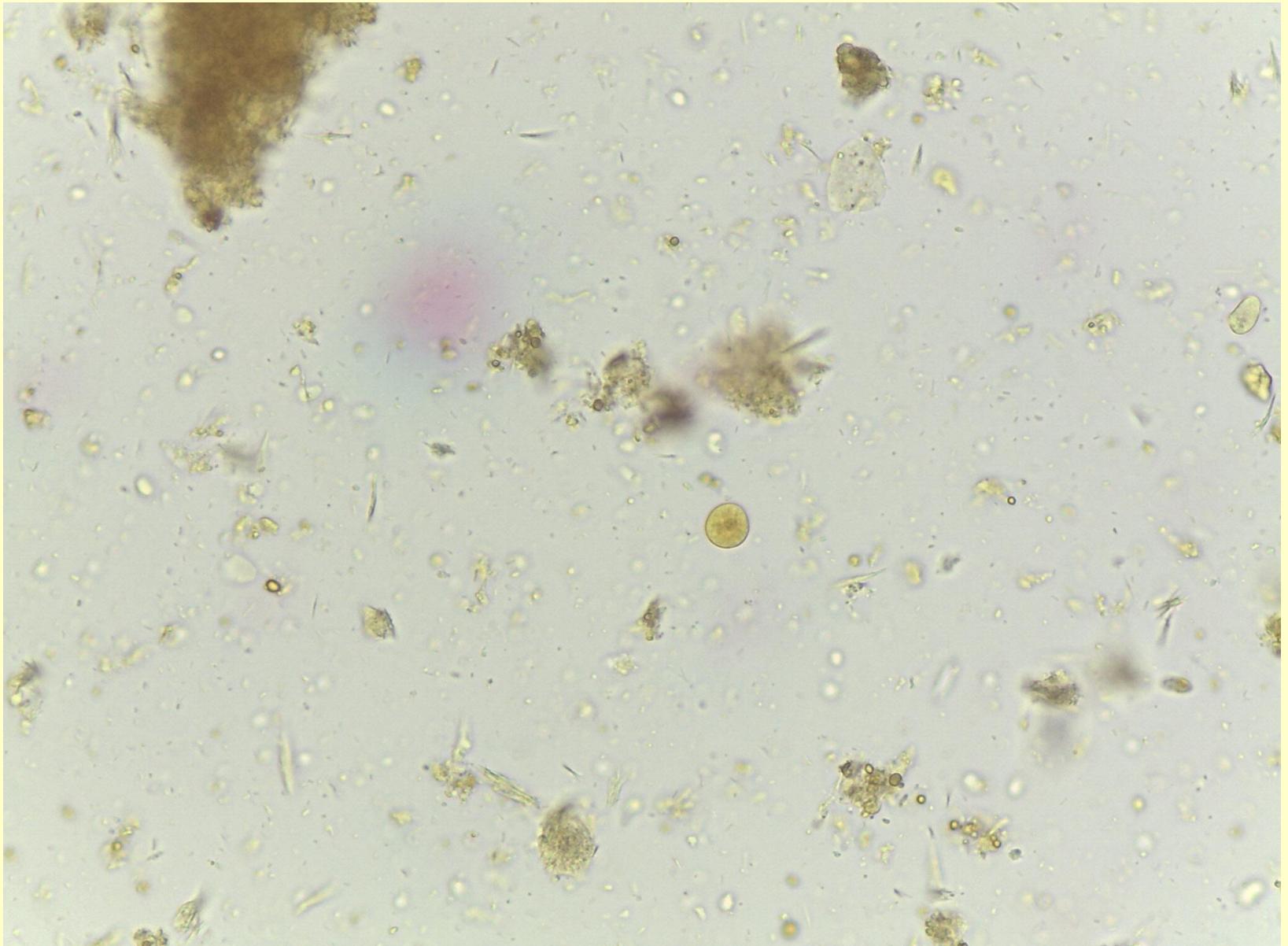
Cisti di *Iodamoeba bütschlii*

- Dimensioni: 6-8 μm (range 5-20)
- Forma: in genere tonda o ovale, spesso irregolare
- Nuclei: 1 con cariosoma spesso eccentrico
- Citoplasma con grosso vacuolo di glicogeno

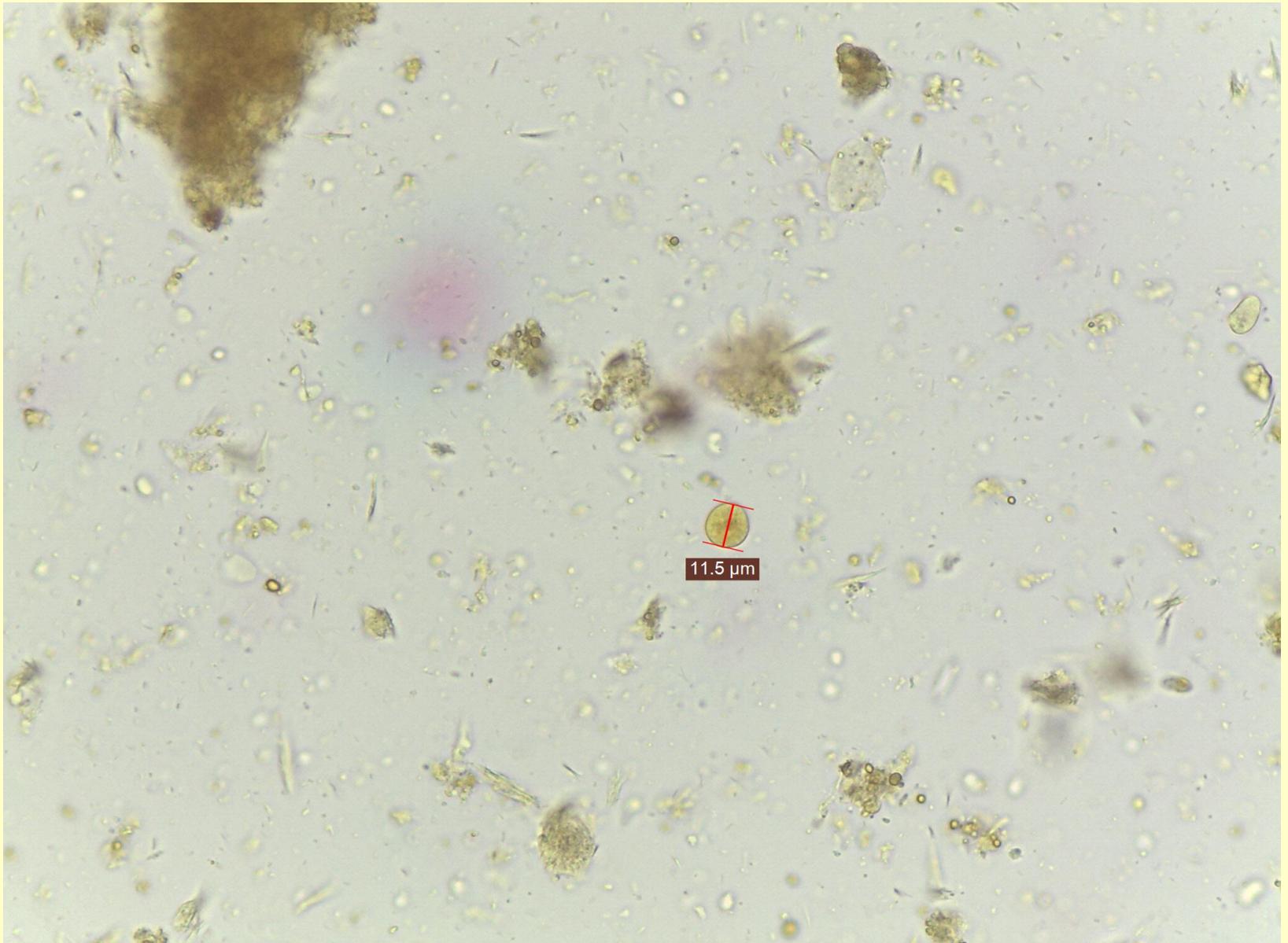


CAMPIONE 1

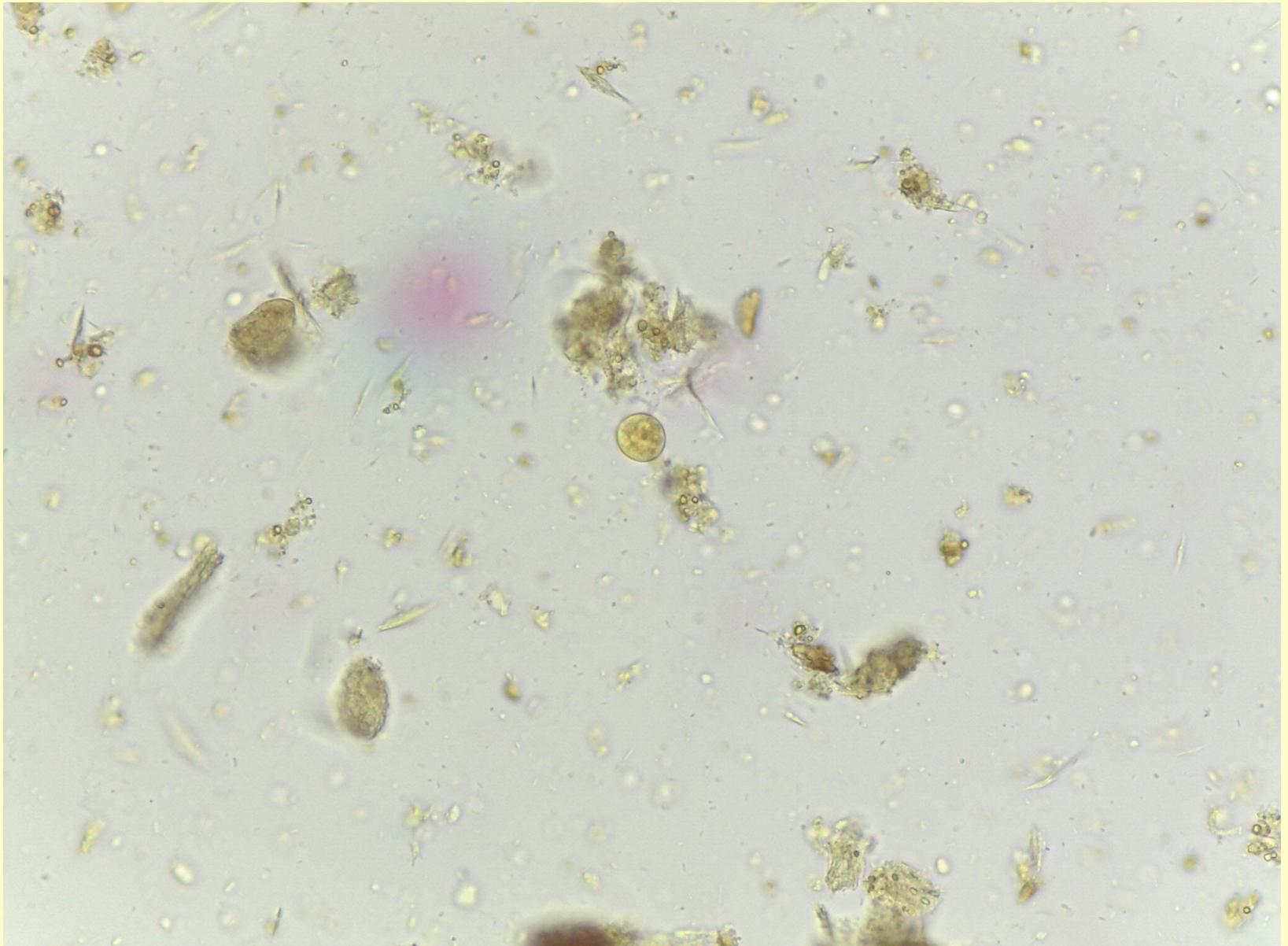
Alvo irregolare in maschio di 36 anni.
Feci semi formate.



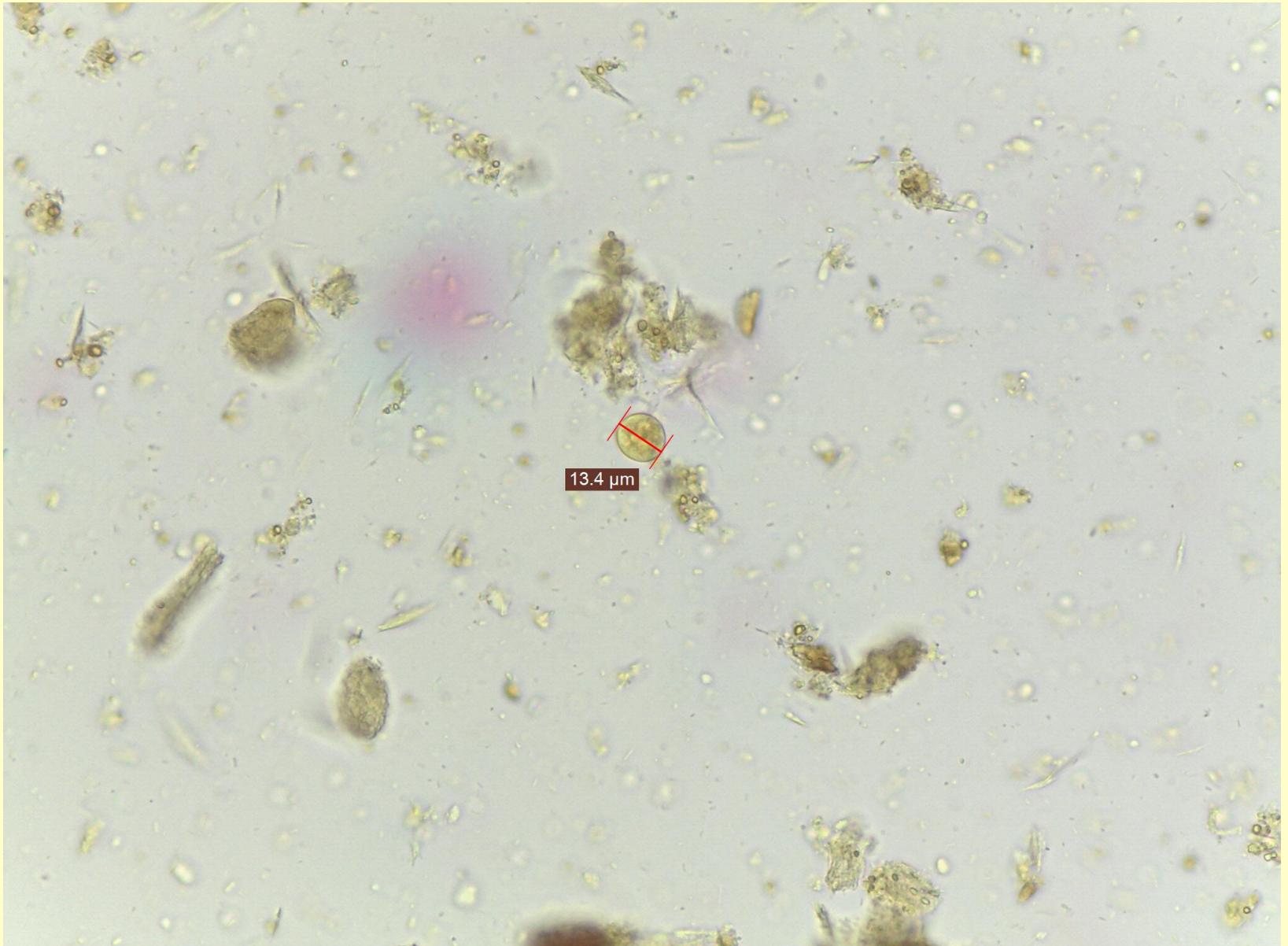
400x CON DOBELL



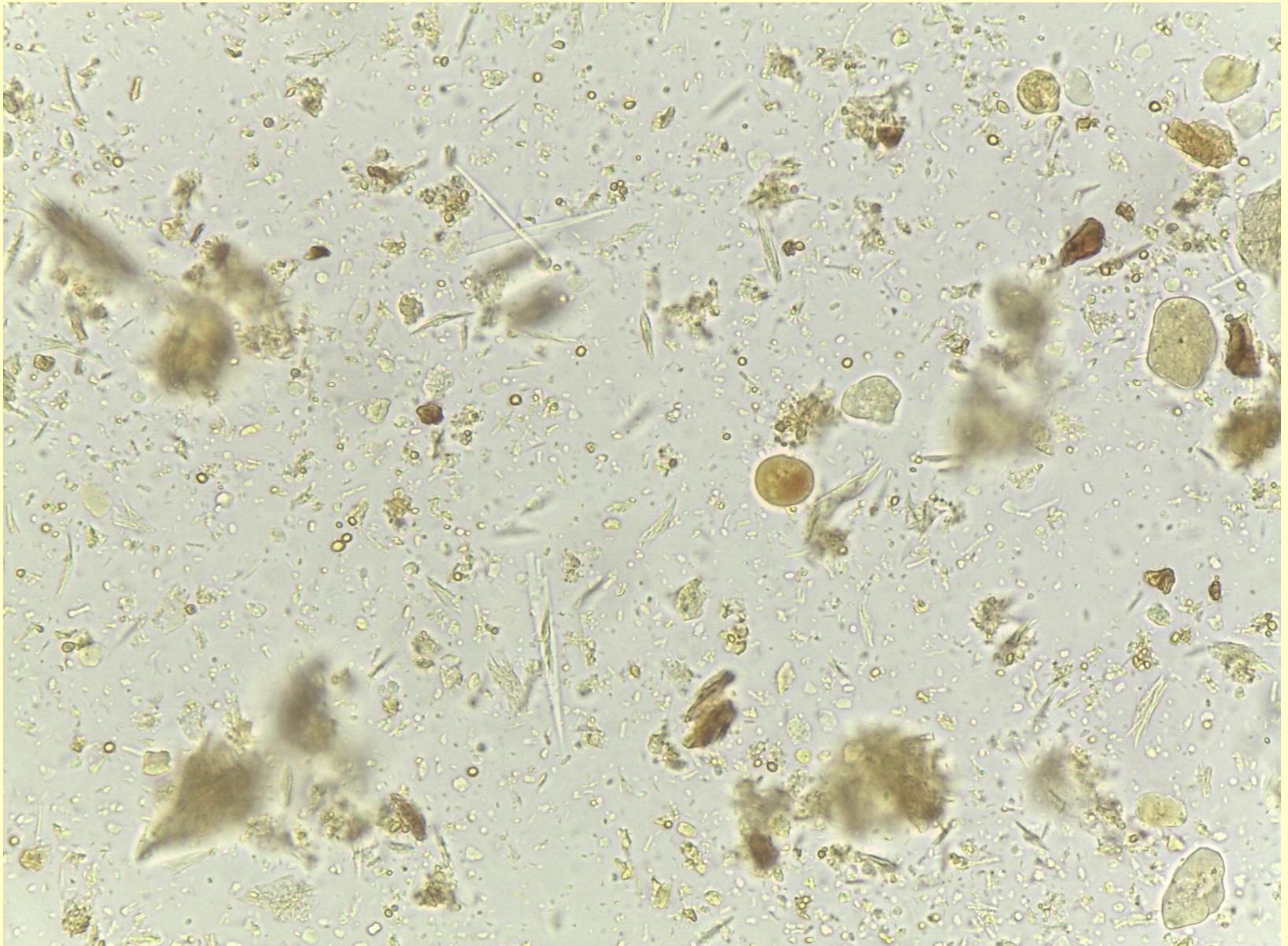
400x CON DOBELL



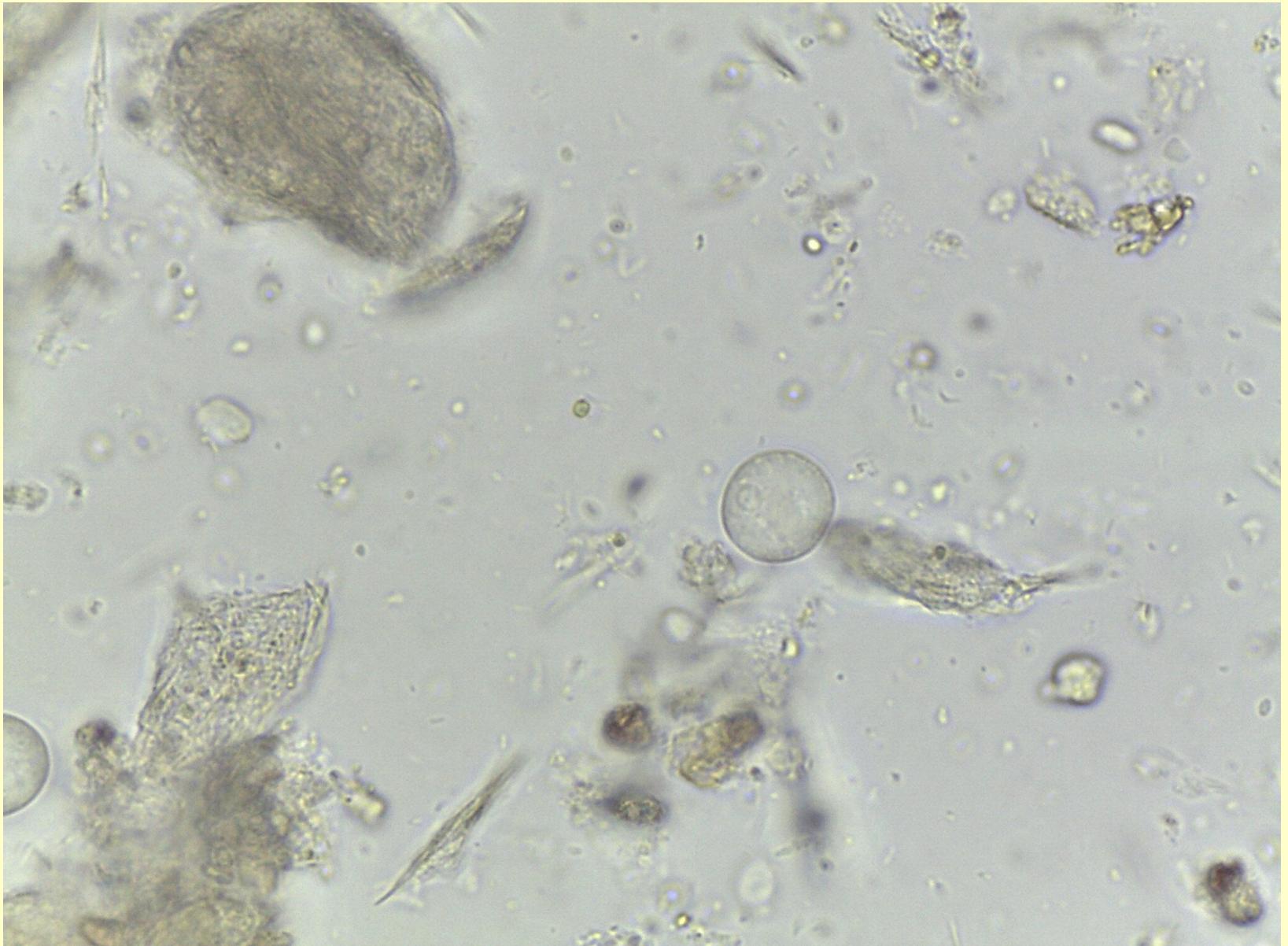
400x CON DOBELL



400x CON DOBELL



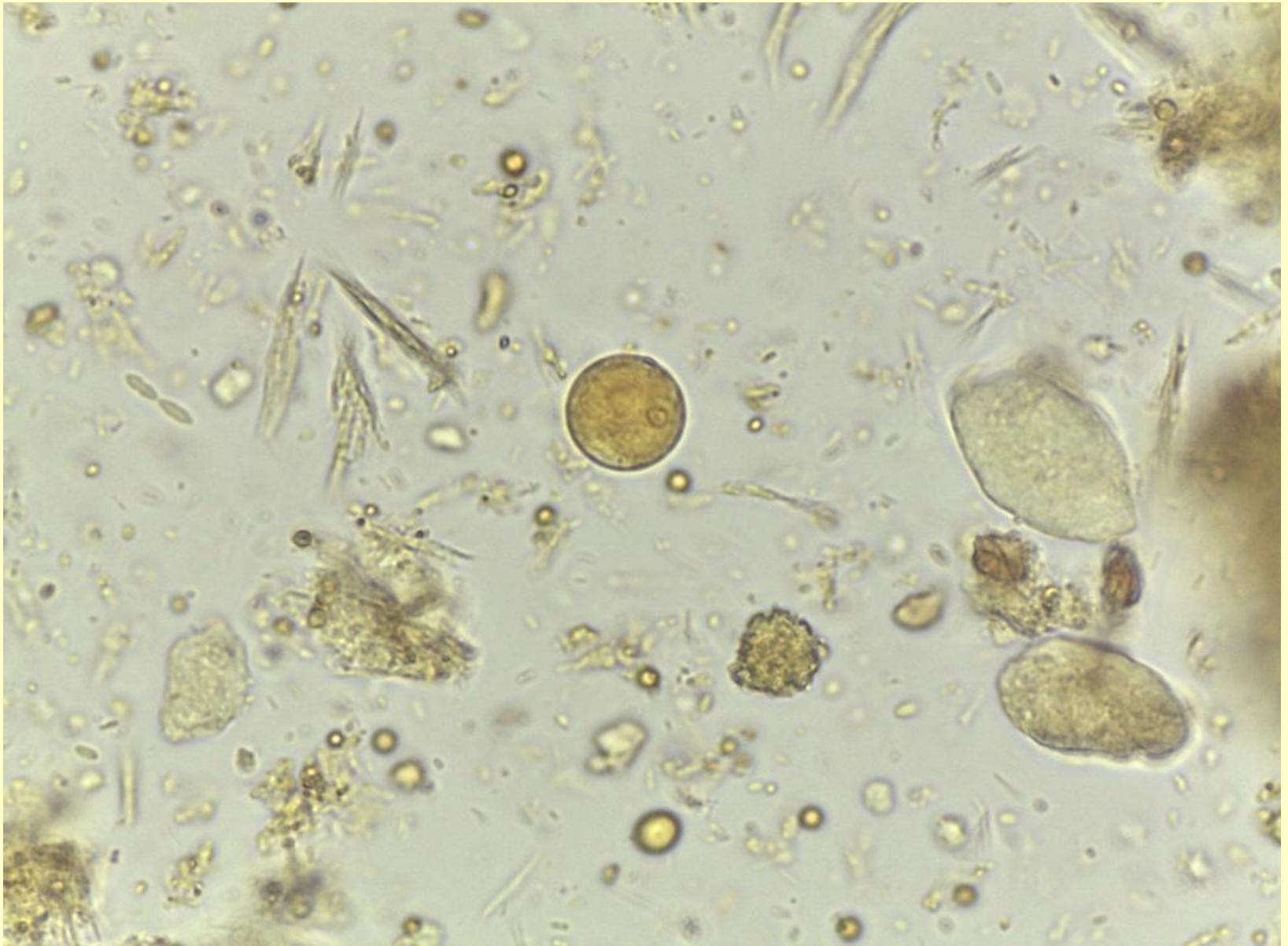
400x CON DOBELL



1000x A FRESCO



1000x A FRESCO



1000x CON DOBELL



1000x CON DOBELL

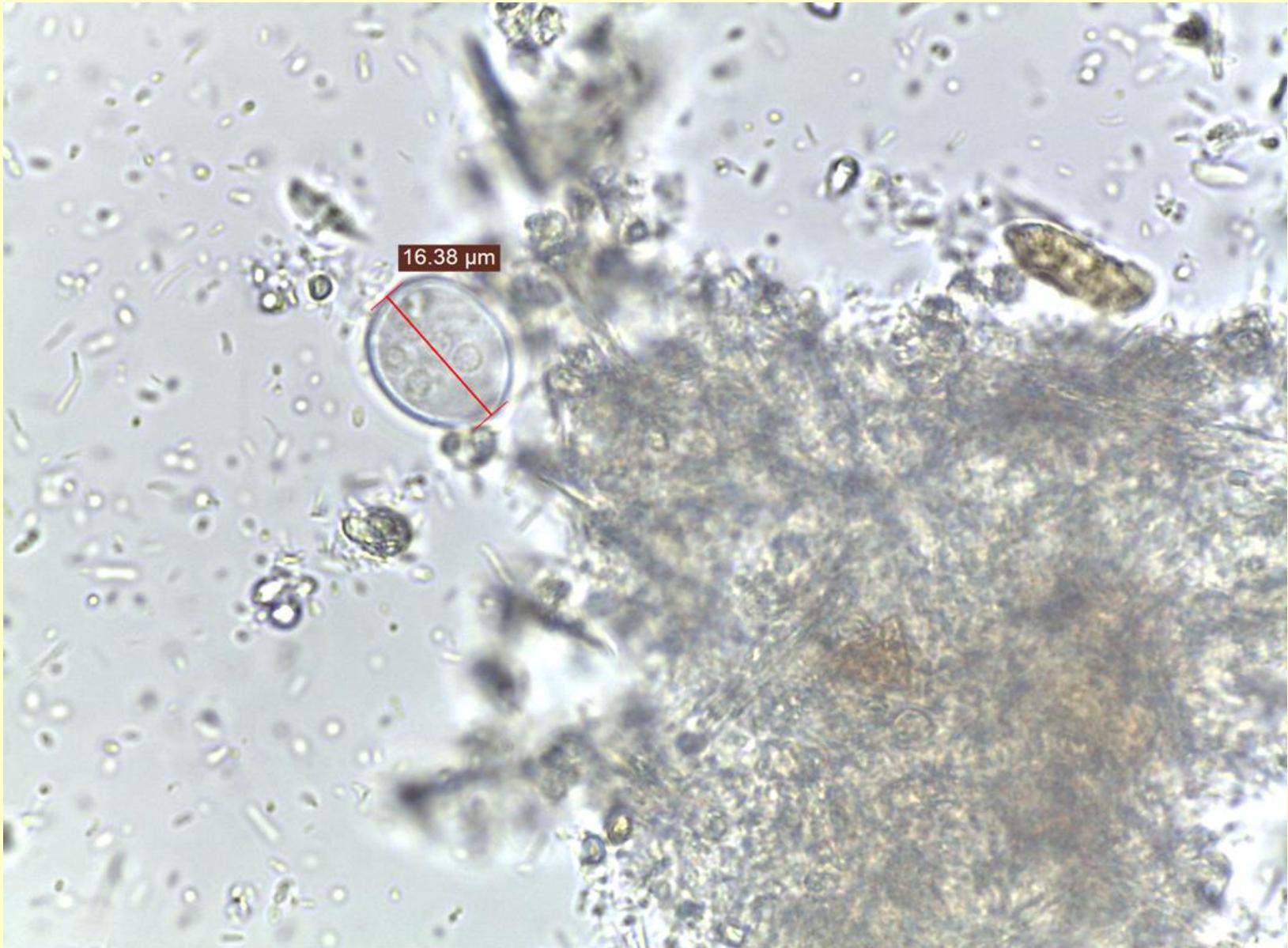
IL CAMPIONE 1 CONTIENE
CISTI DI
ENTAMOEBEA HYSTOLYTICA/DISPAR

CAMPIONE 2

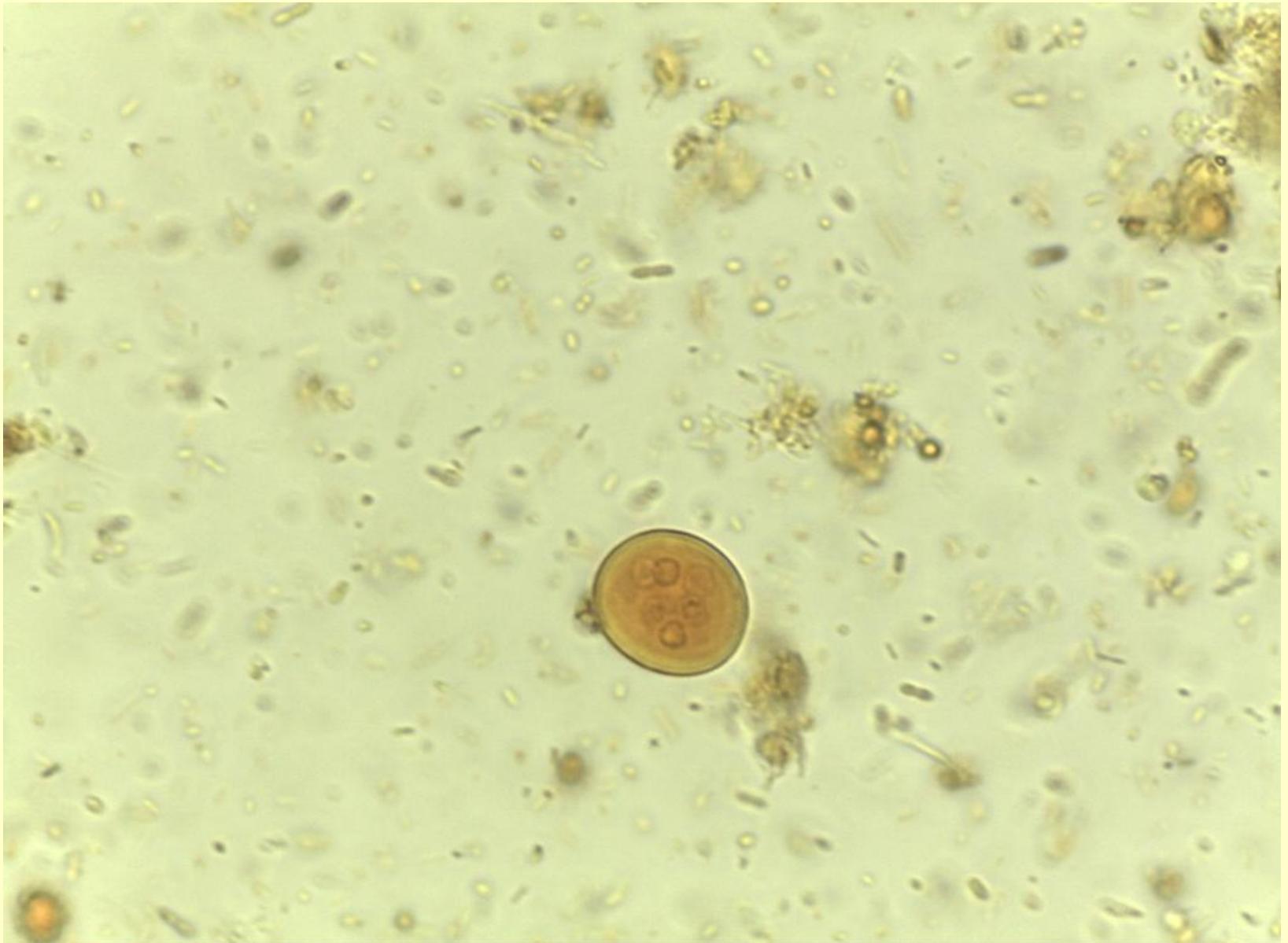
Esame di controllo in turista di ritorno da un viaggio in Bolivia. Feci molli.



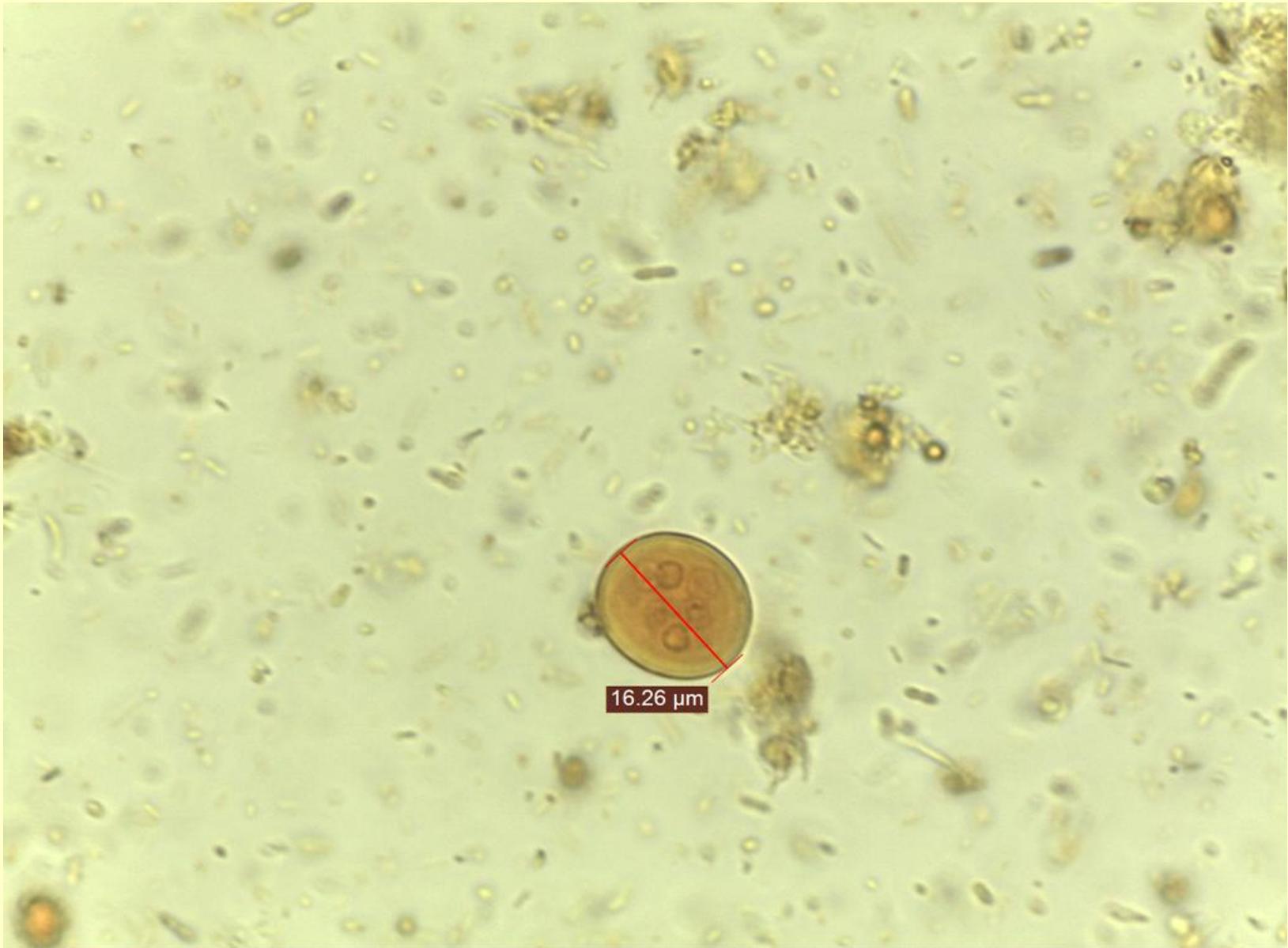
1000x A FRESCO



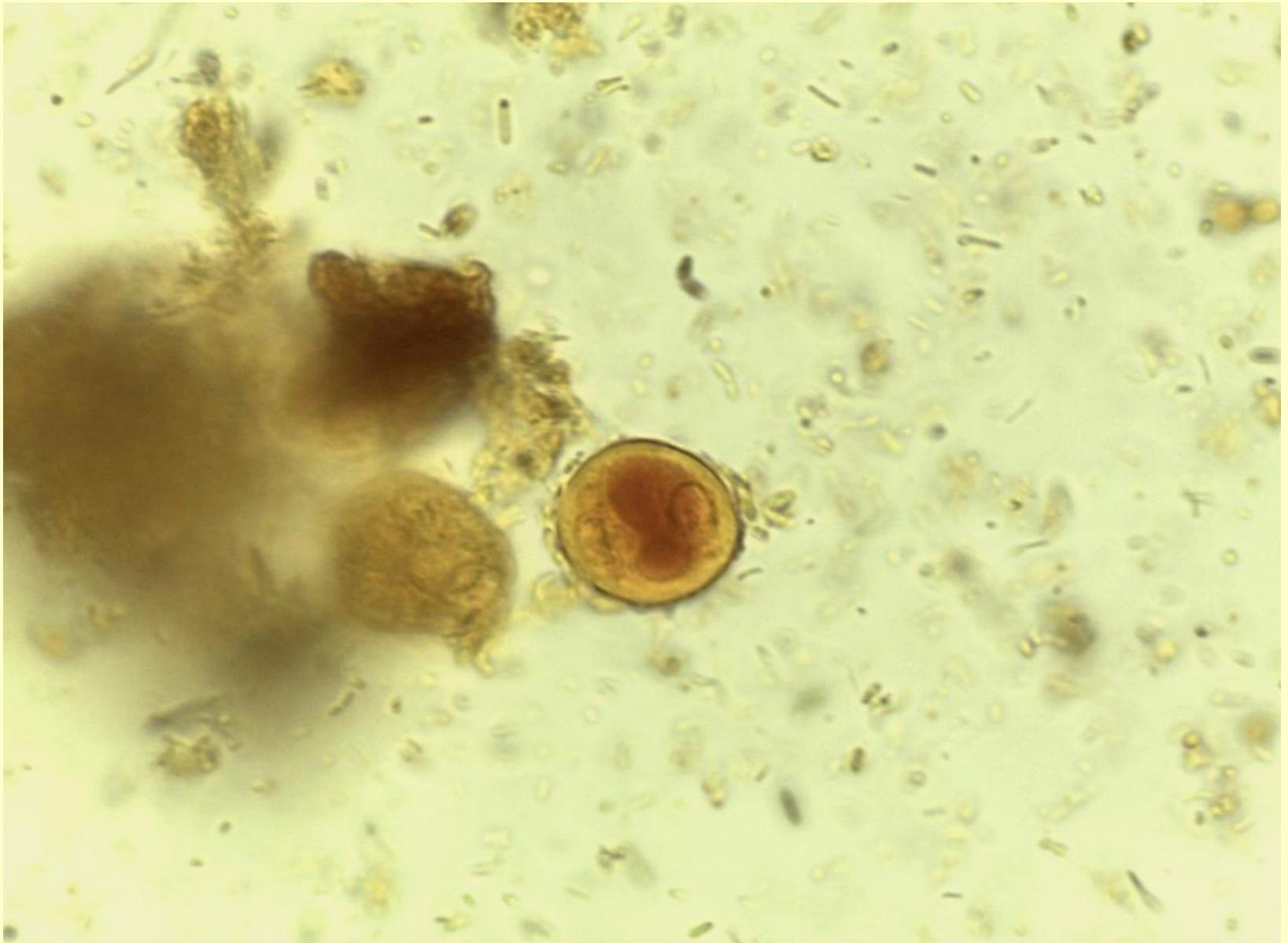
1000x A FRESCO



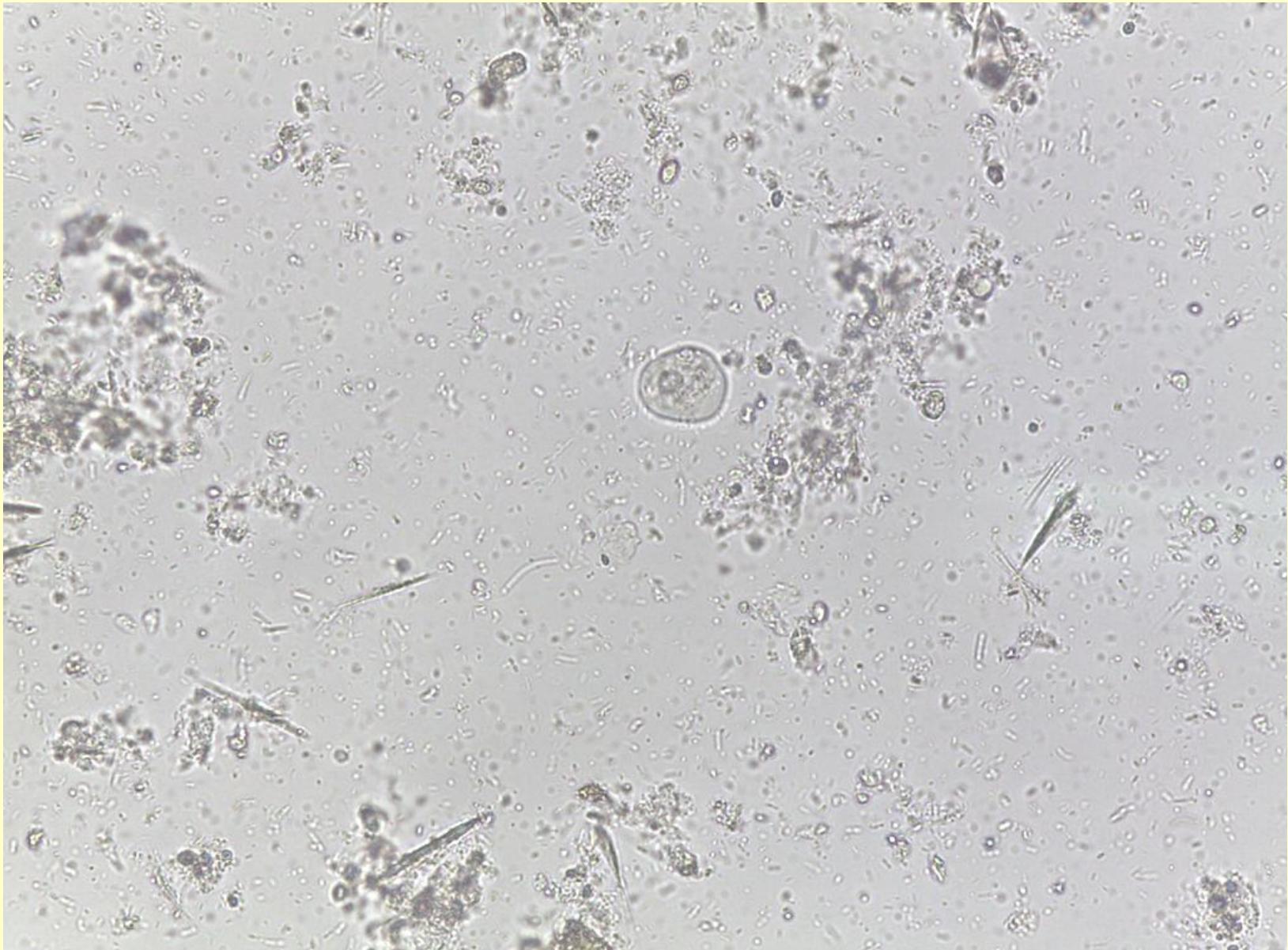
1000x CON DOBELL



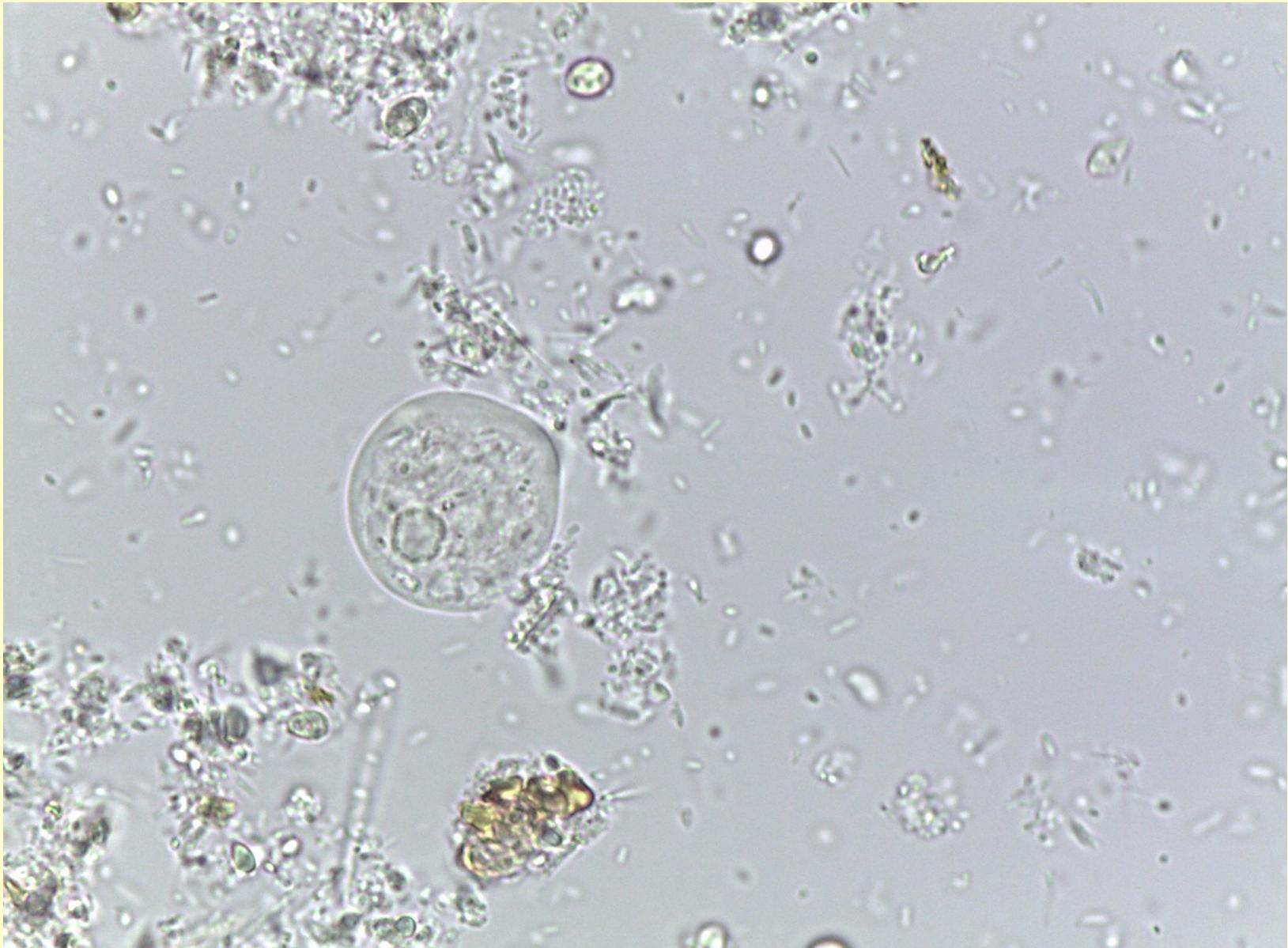
1000x CON DOBELL



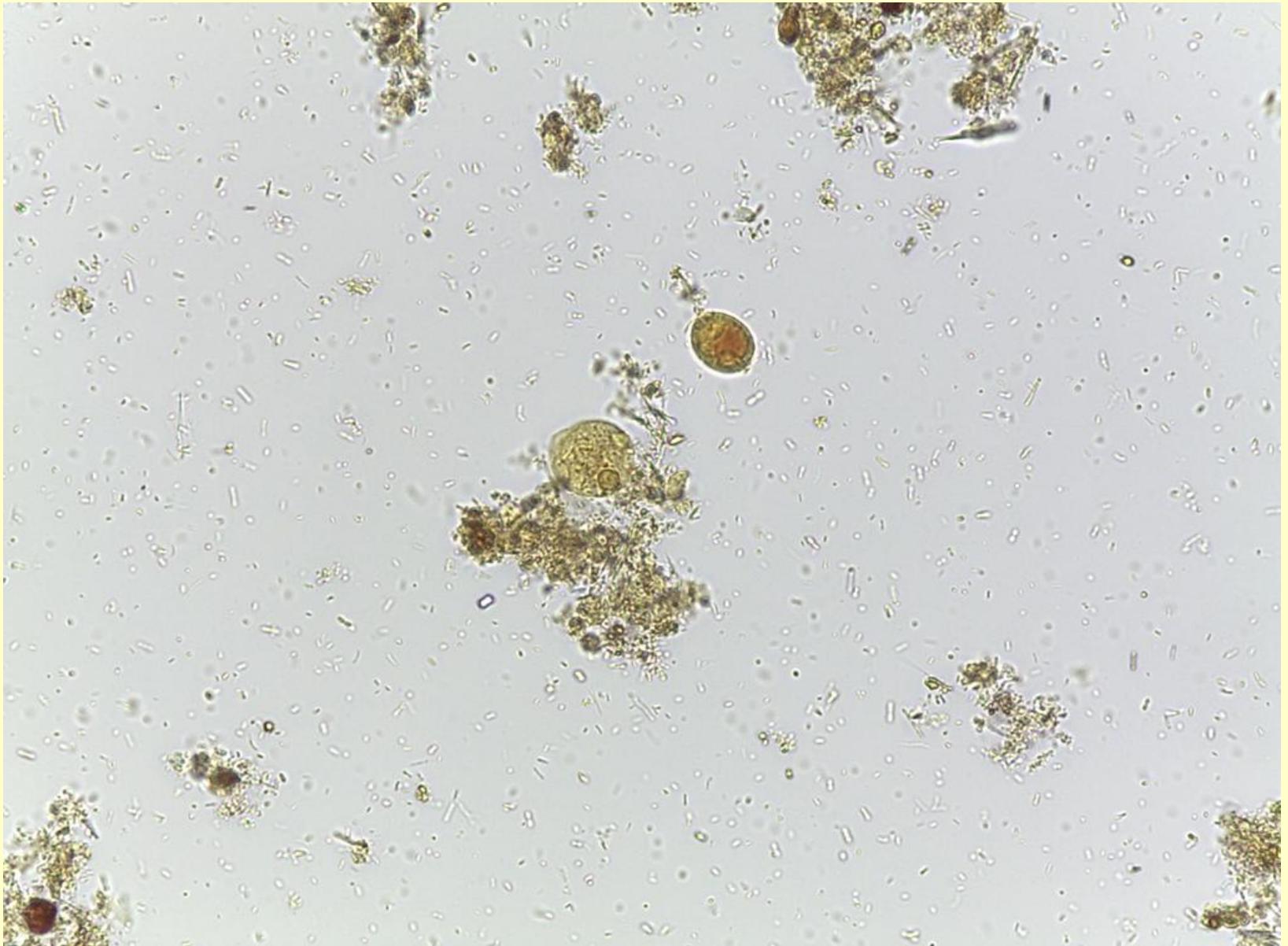
1000x CON DOBELL



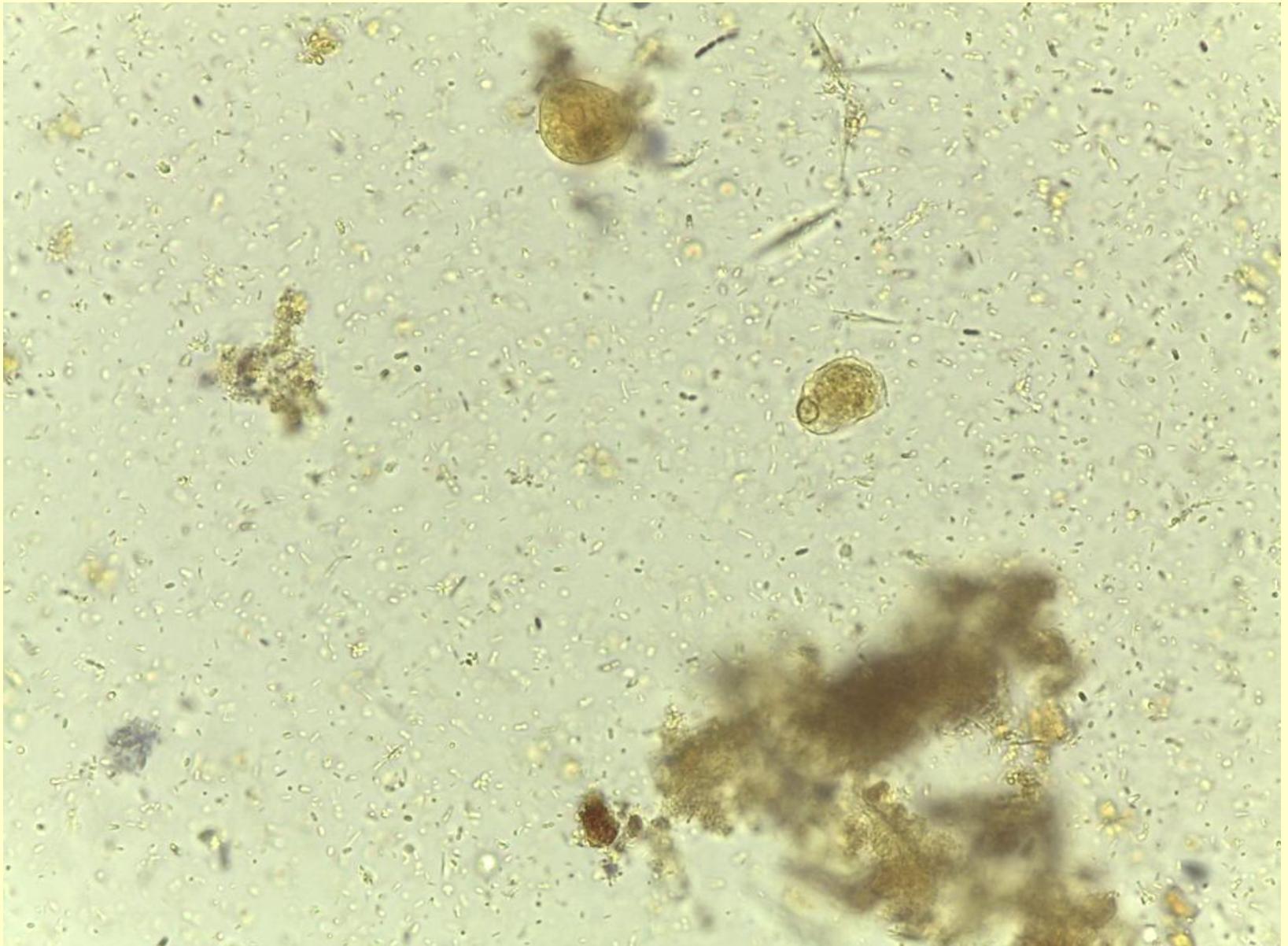
400x A FRESCO



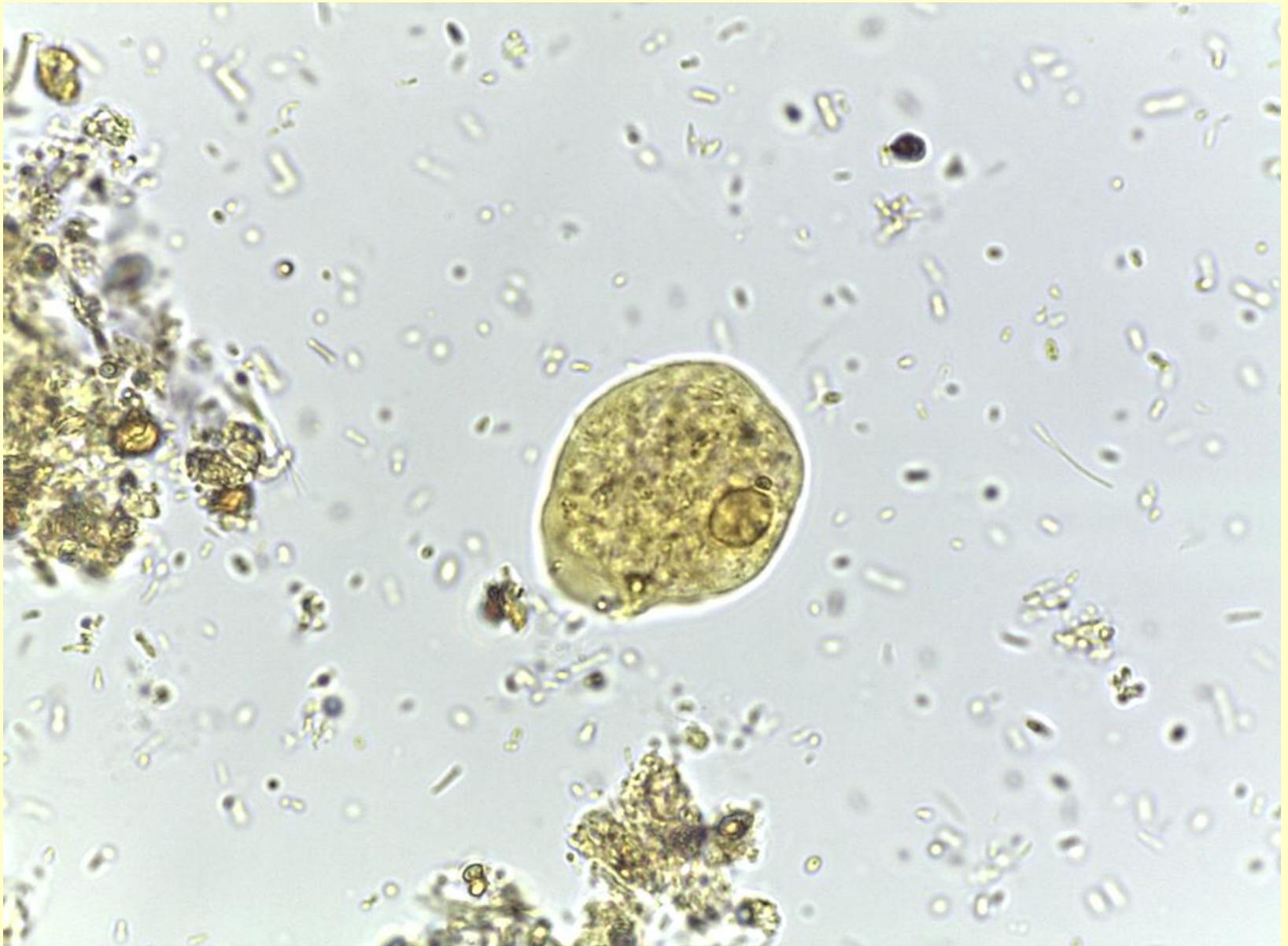
1000x A FRESCO



400x CON DOBELL



400x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



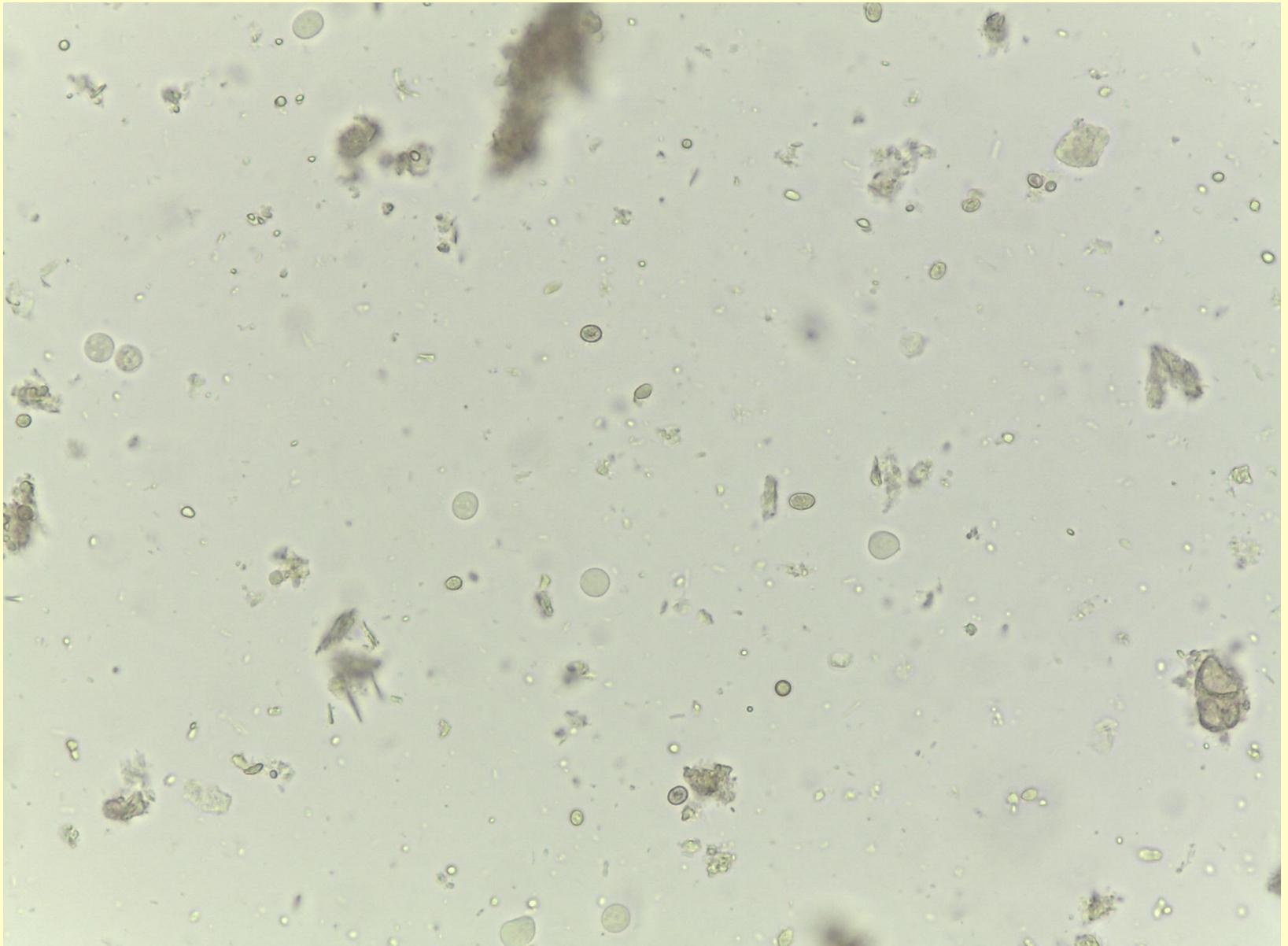
24.72 μm

1000x CON DOBELL

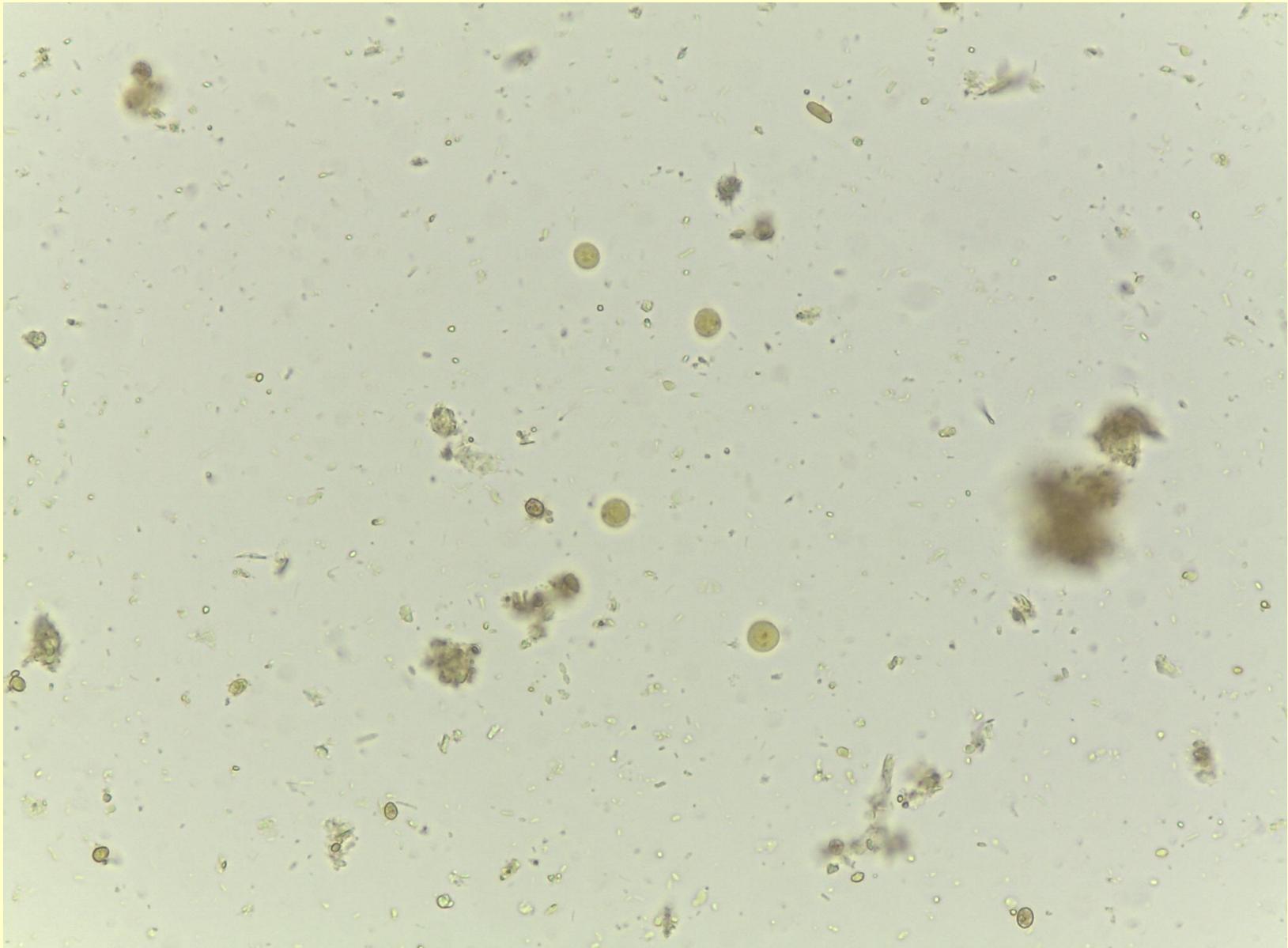
IL CAMPIONE 2 CONTIENE
CISTI E TROFOZOITI DI
ENTAMOEBIA COLI

CAMPIONE 3

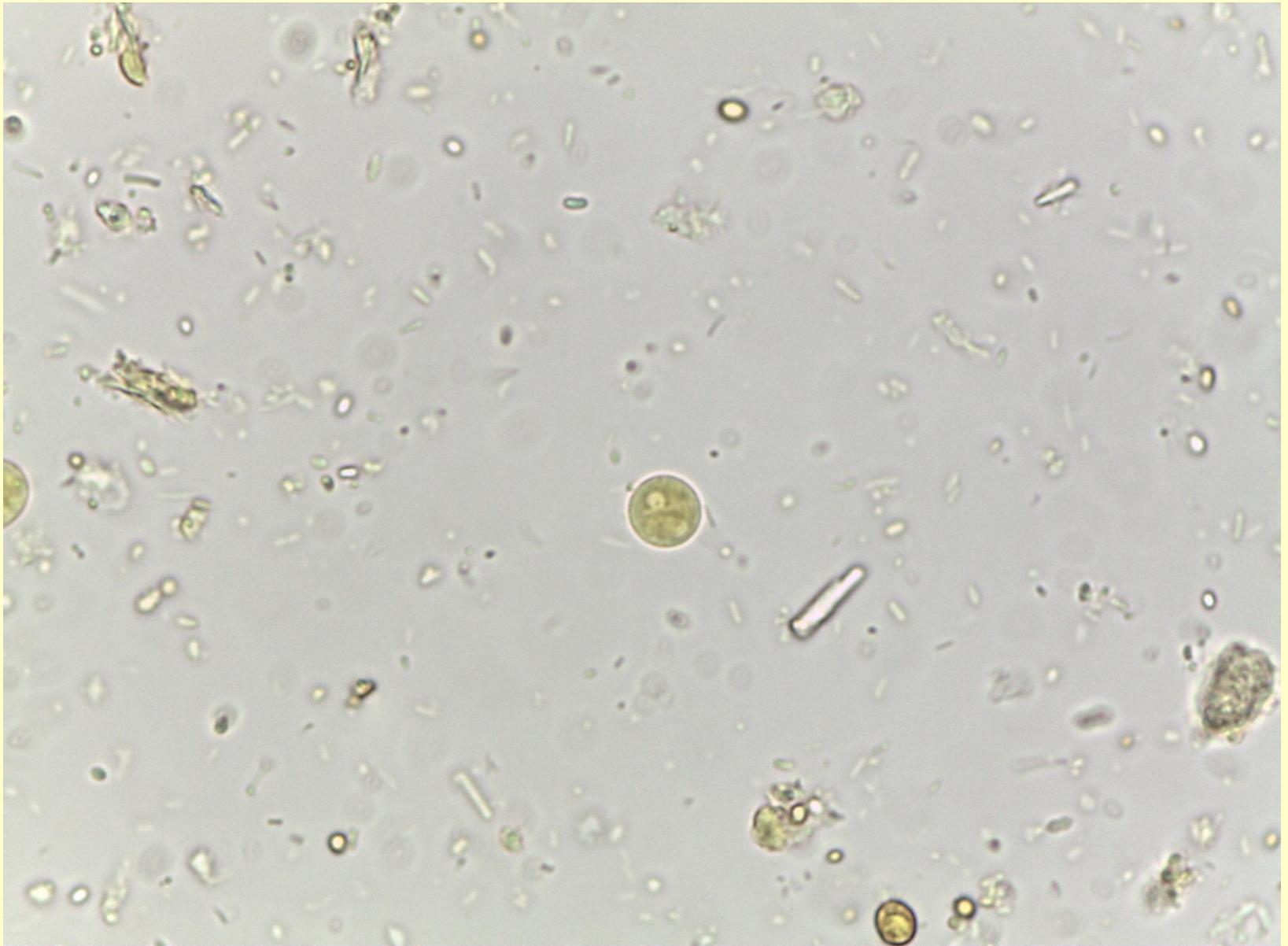
Esame per adozione internazionale in bimbo di 5 anni originario del Messico. Feci formate.



400x A FRESCO



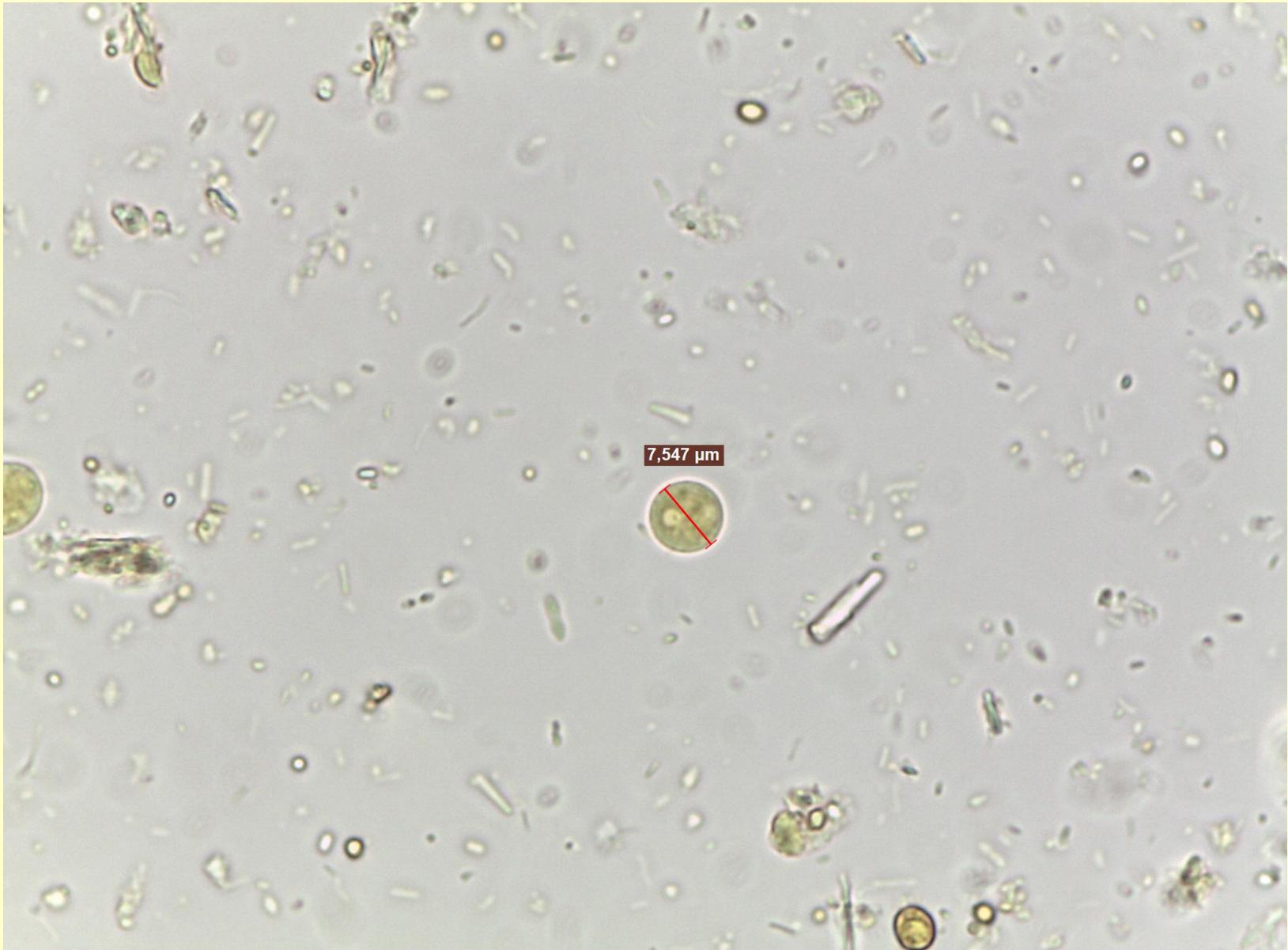
400x CON DOBELL



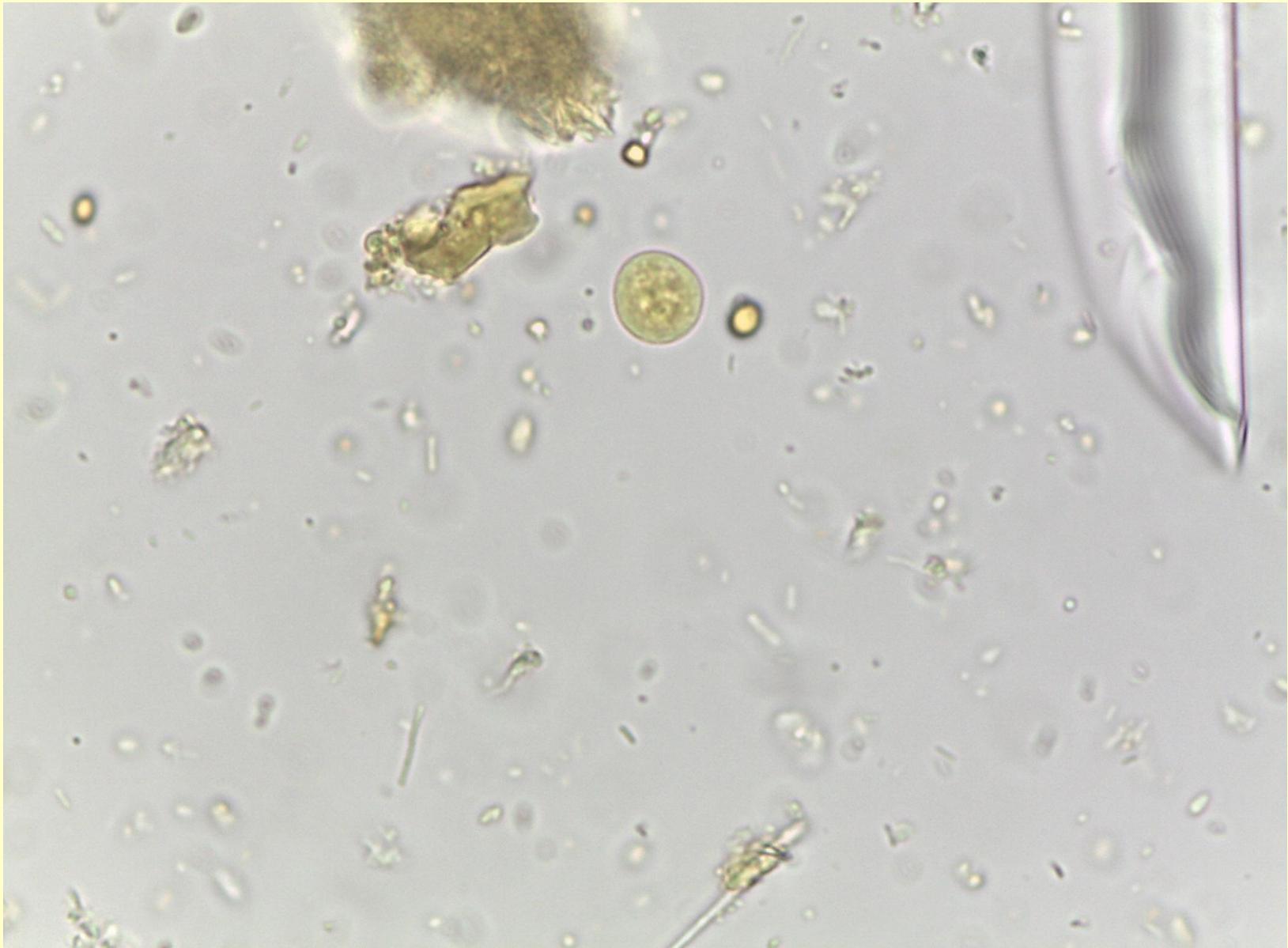
1000x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



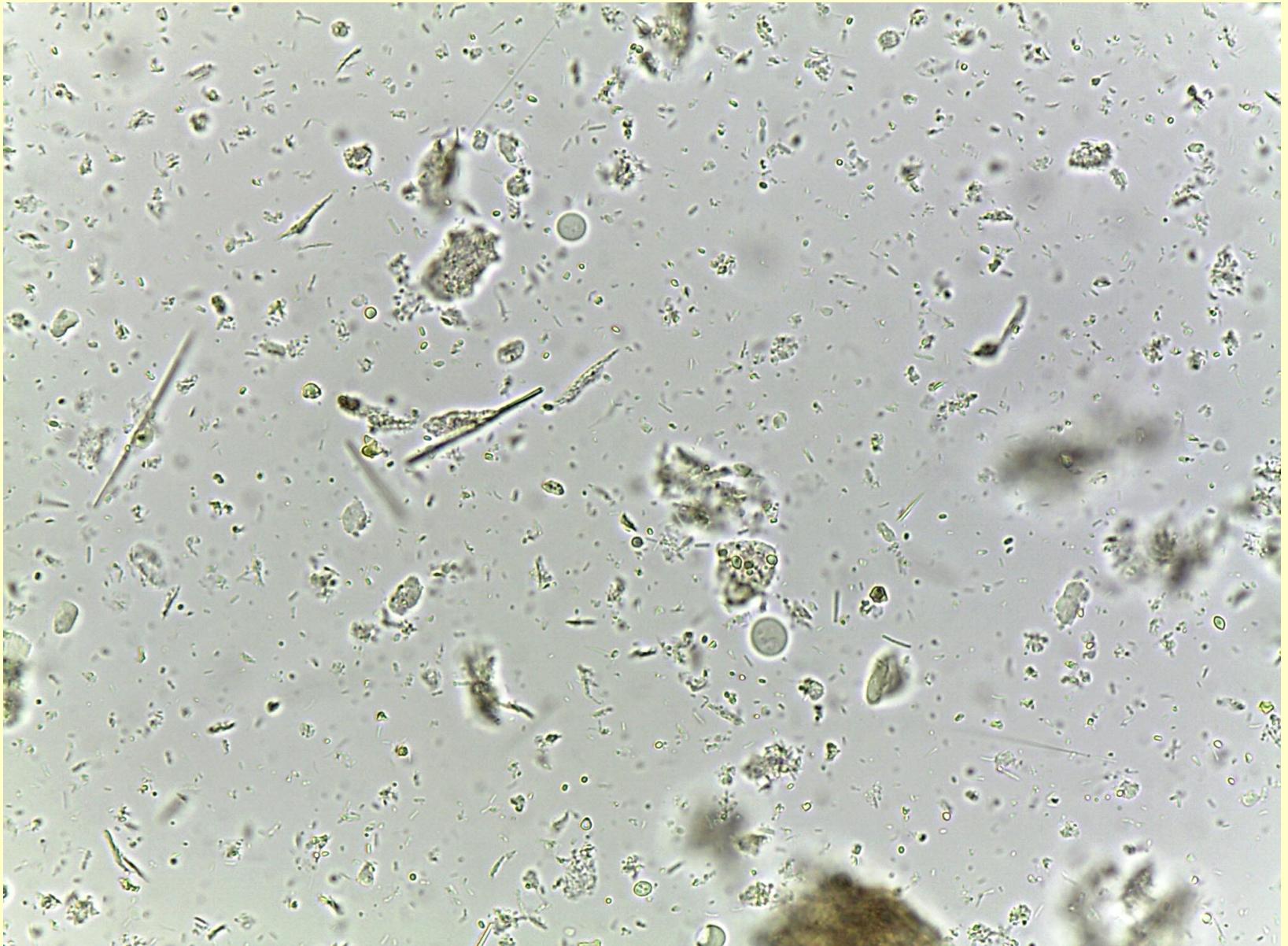
9,156 μm

1000x CON DOBELL

IL CAMPIONE 3 CONTIENE
CISTI DI
ENTAMOEBIA HARTMANNI

CAMPIONE 4

Diarrea in paziente di 36 anni. Coprocoltura positiva per *Salmonella* spp.

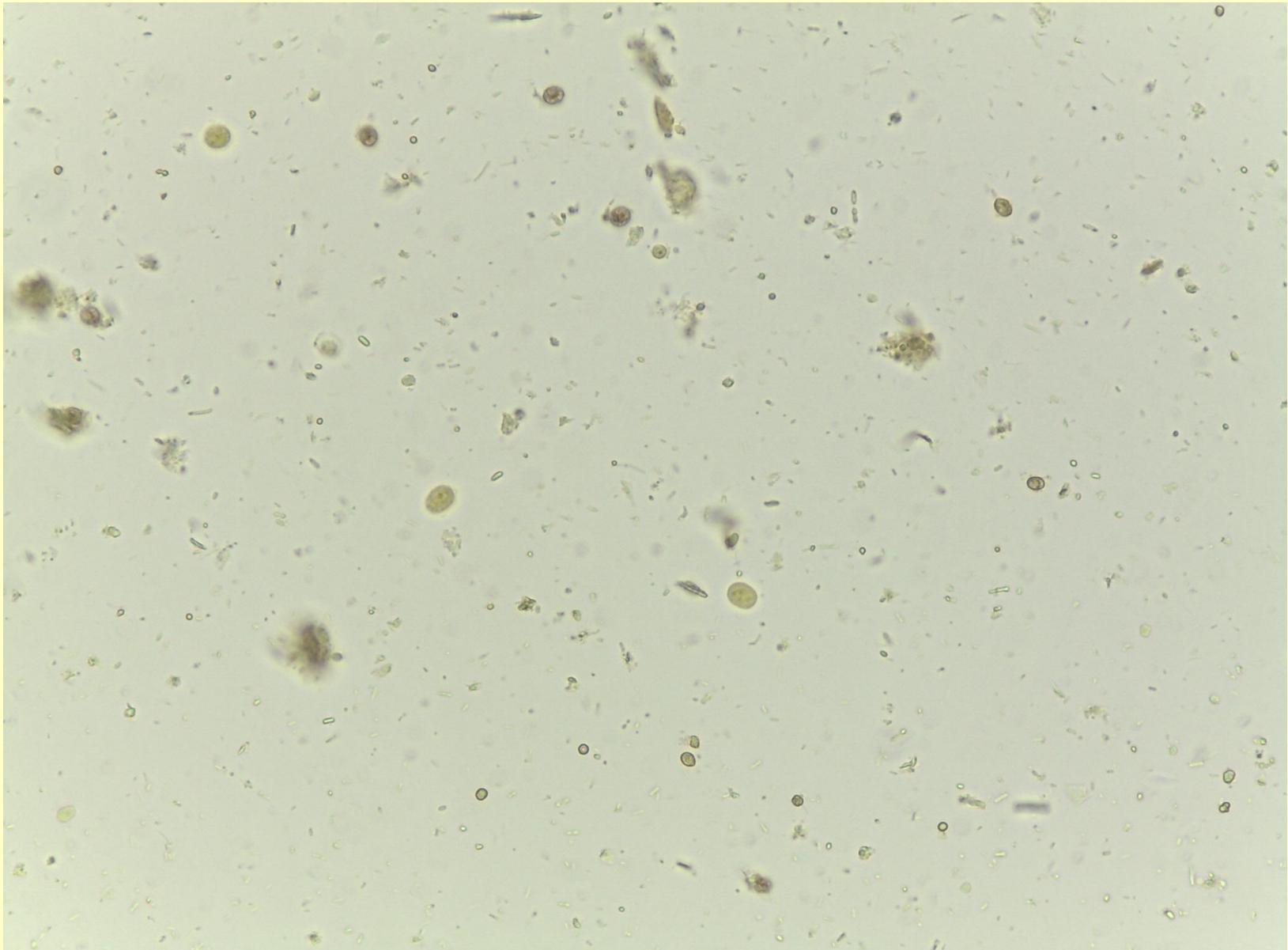


400x A FRESCO

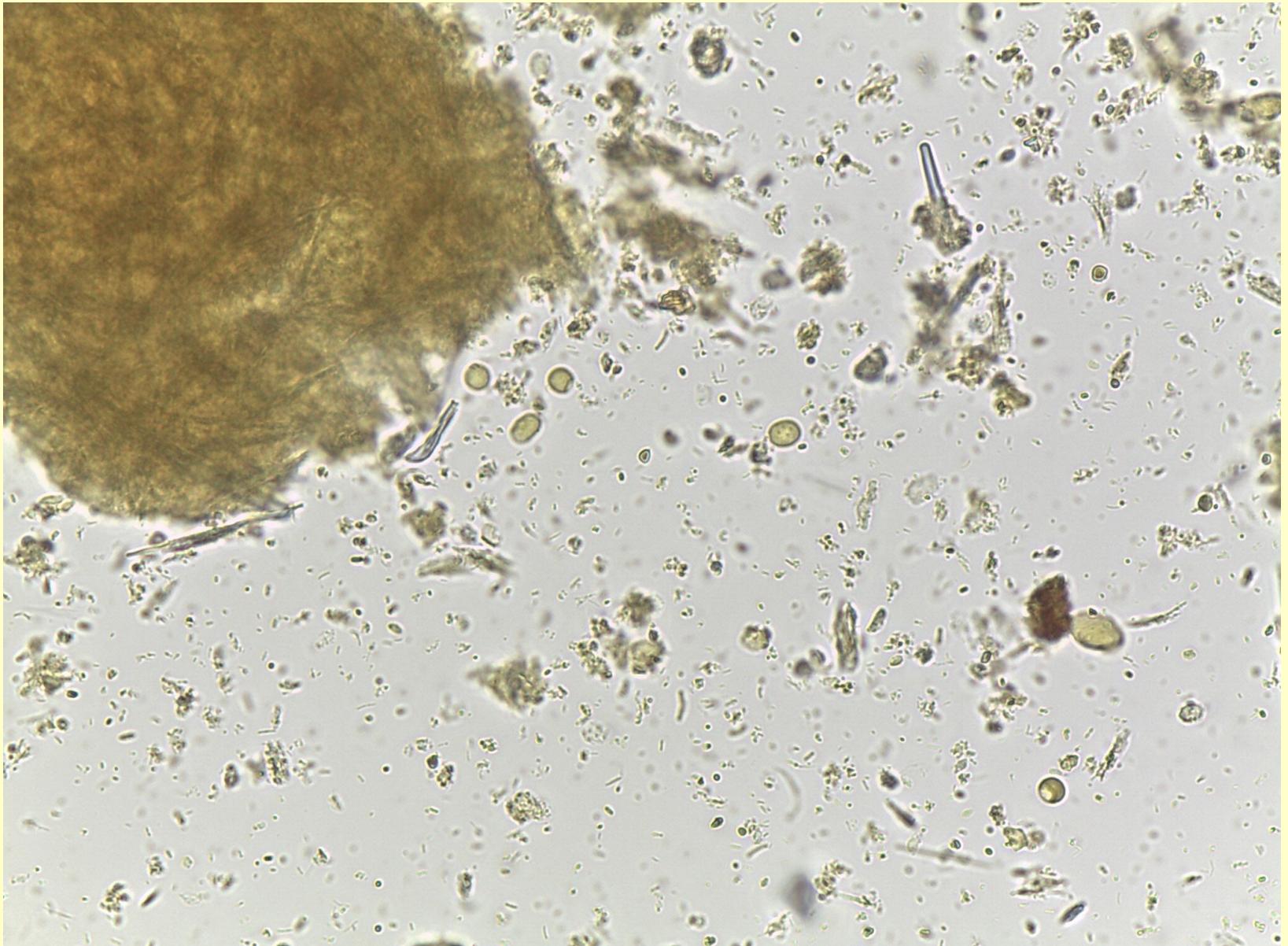


400

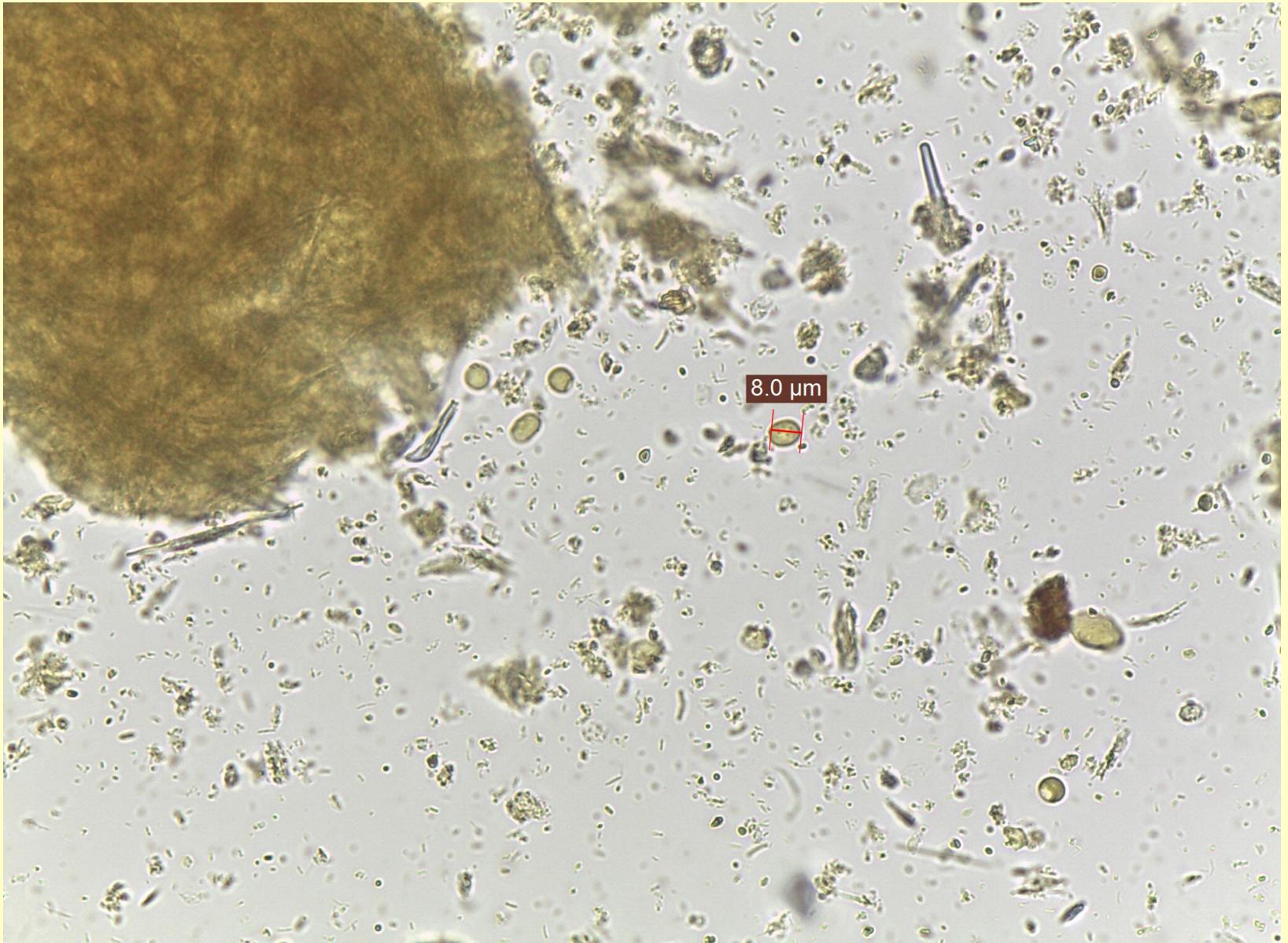
A FRESCO



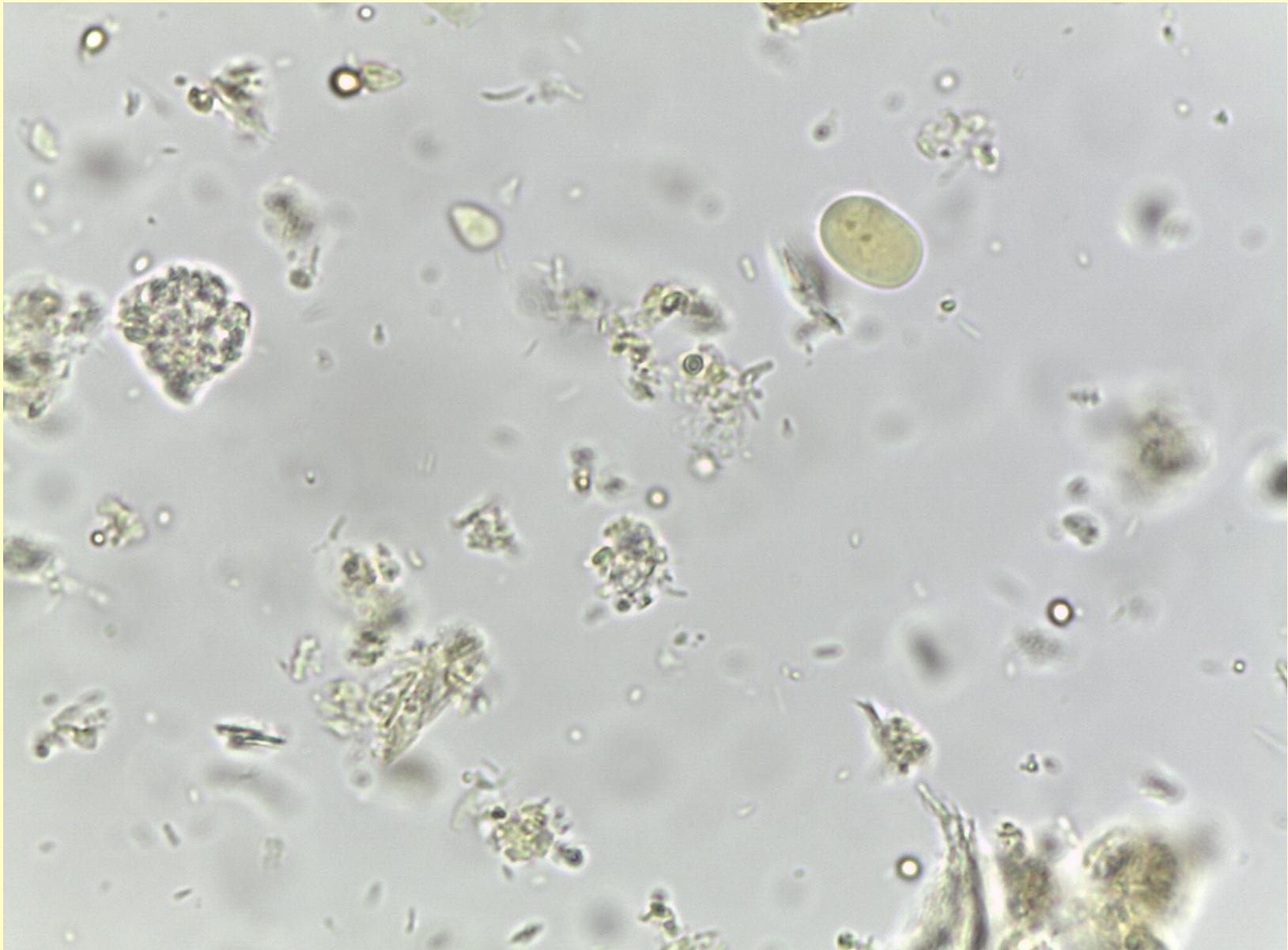
400x CON DOBELL



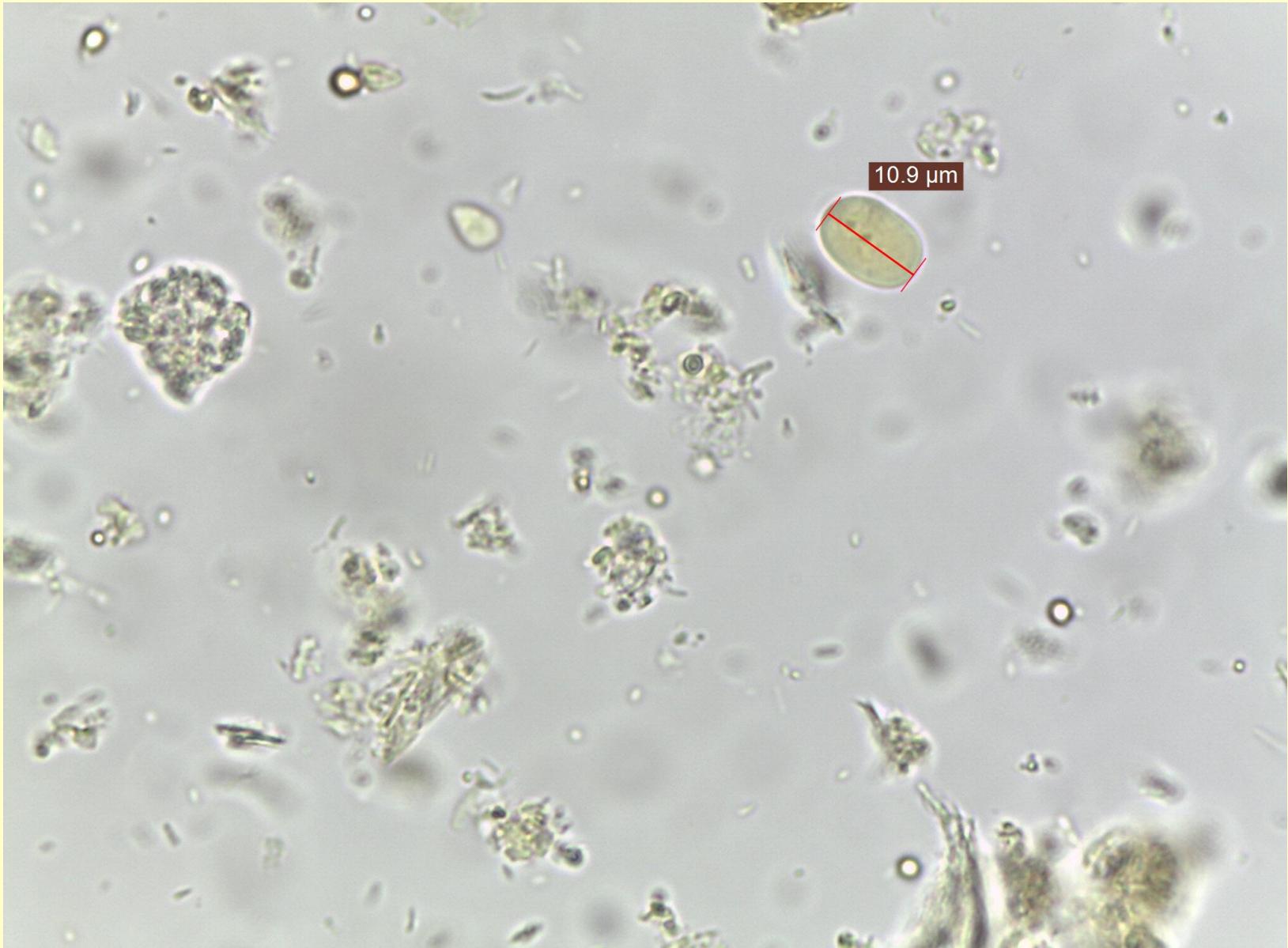
400x CON DOBELL



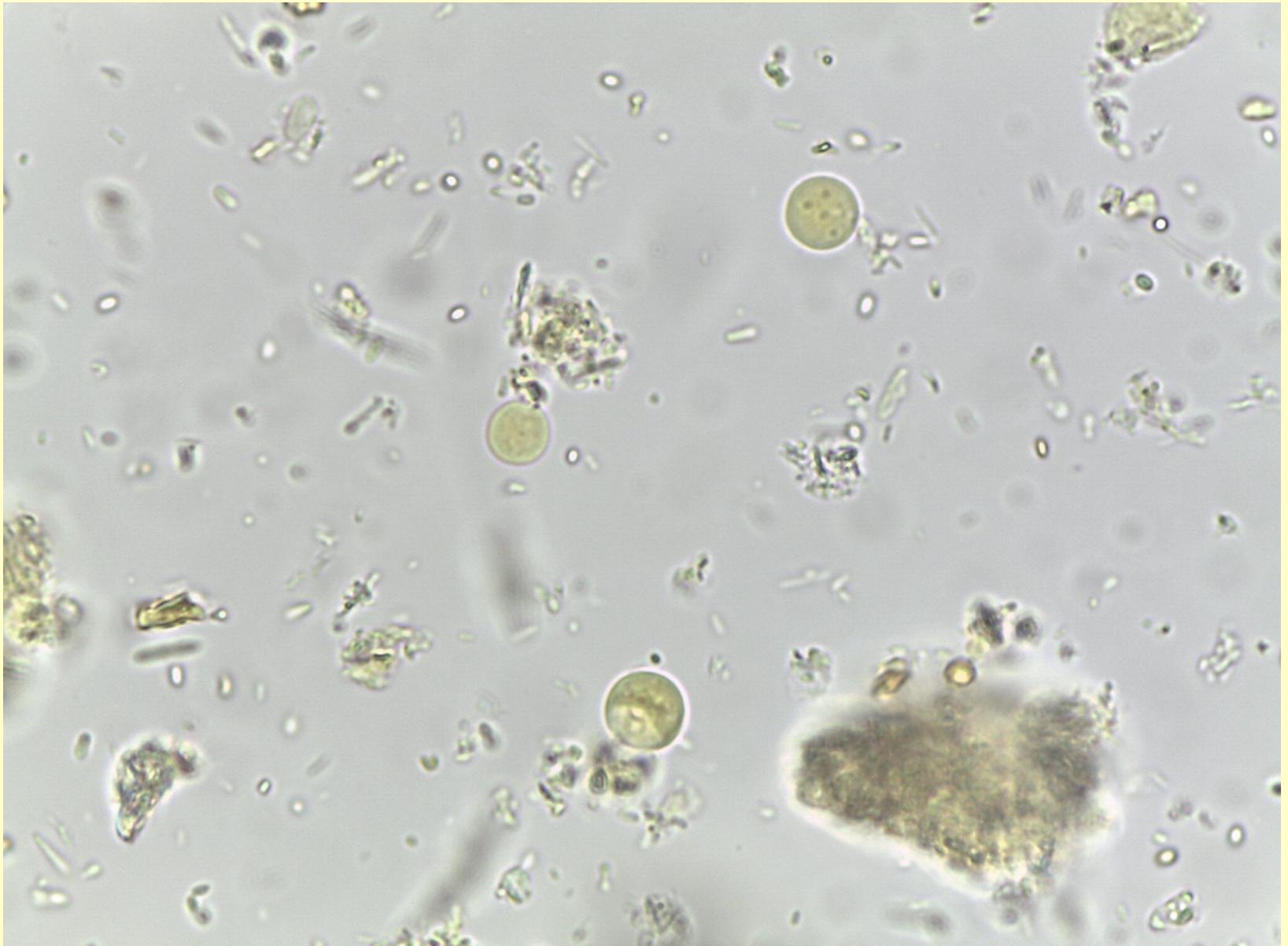
400x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



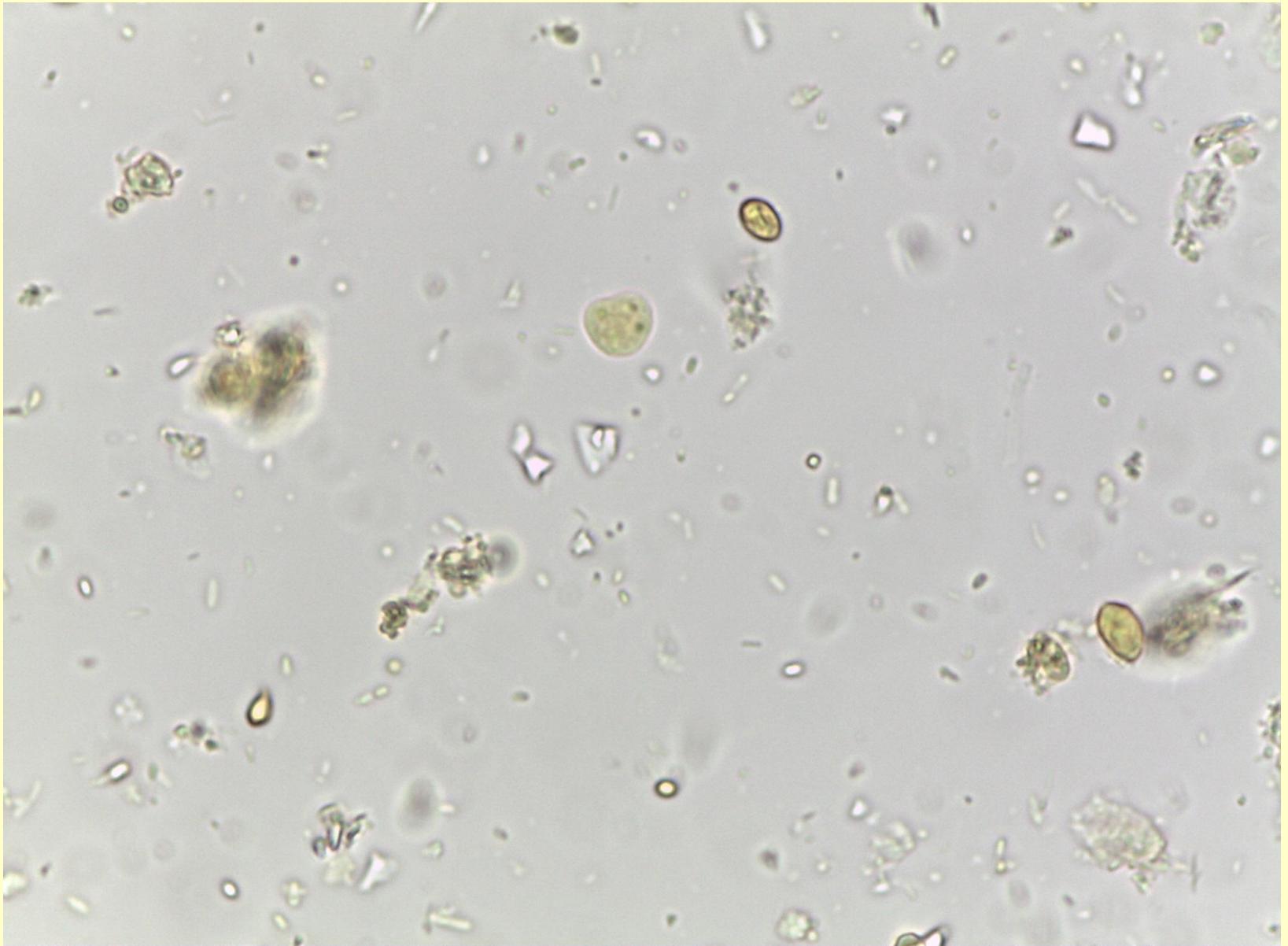
1000x CON DOBELL



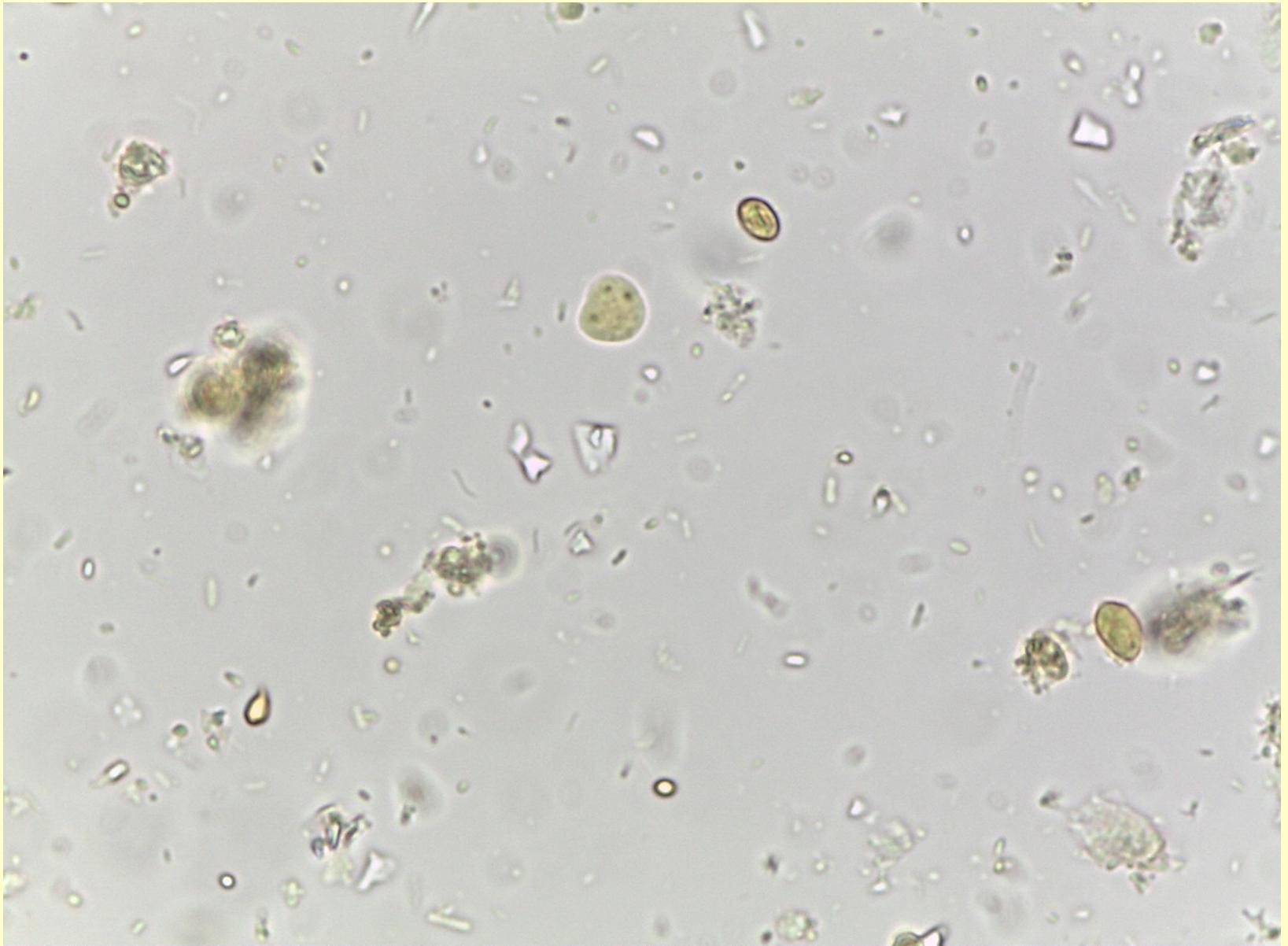
1000x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



1000x CON DOBELL

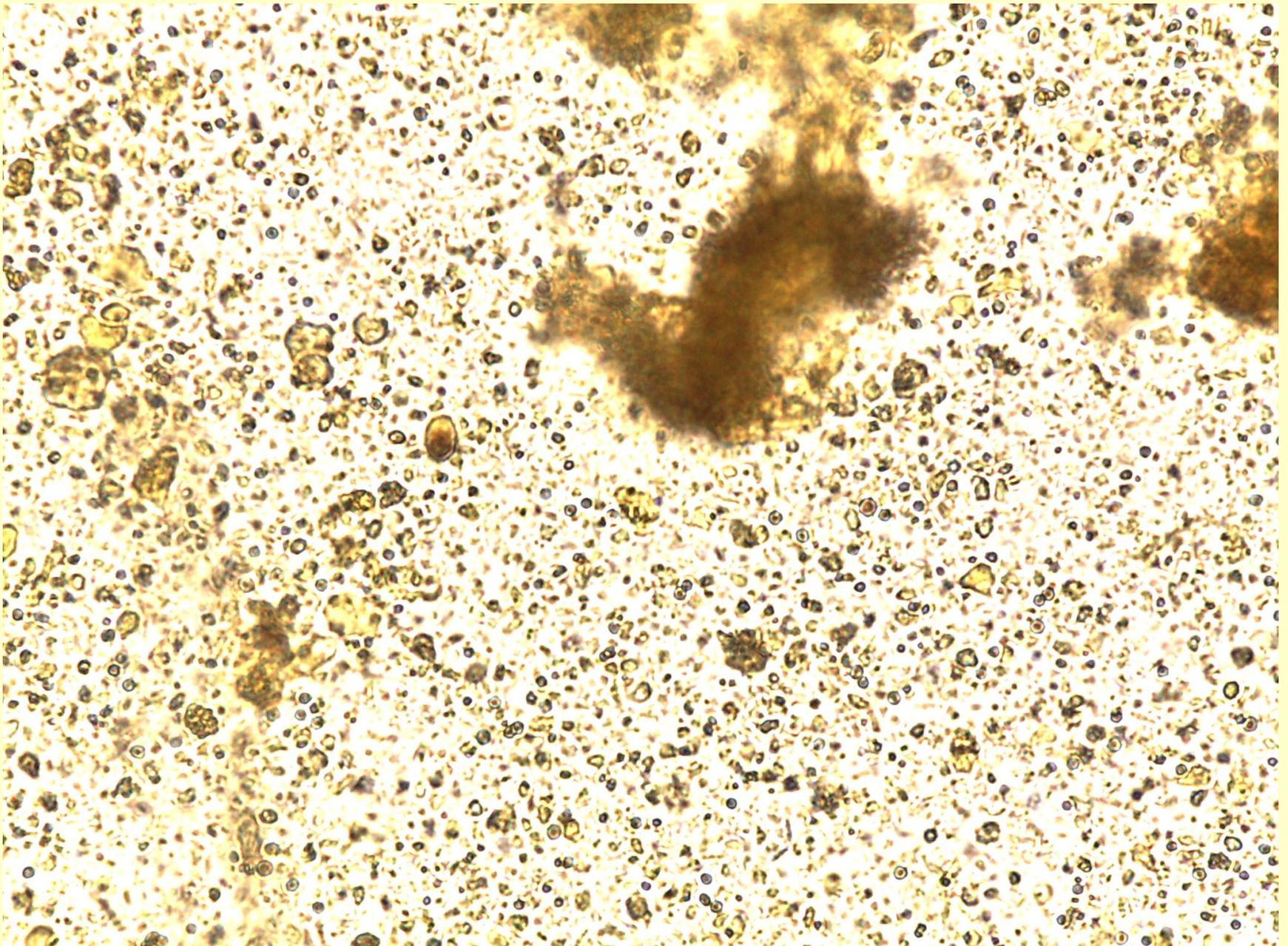


1000x CON DOBELL

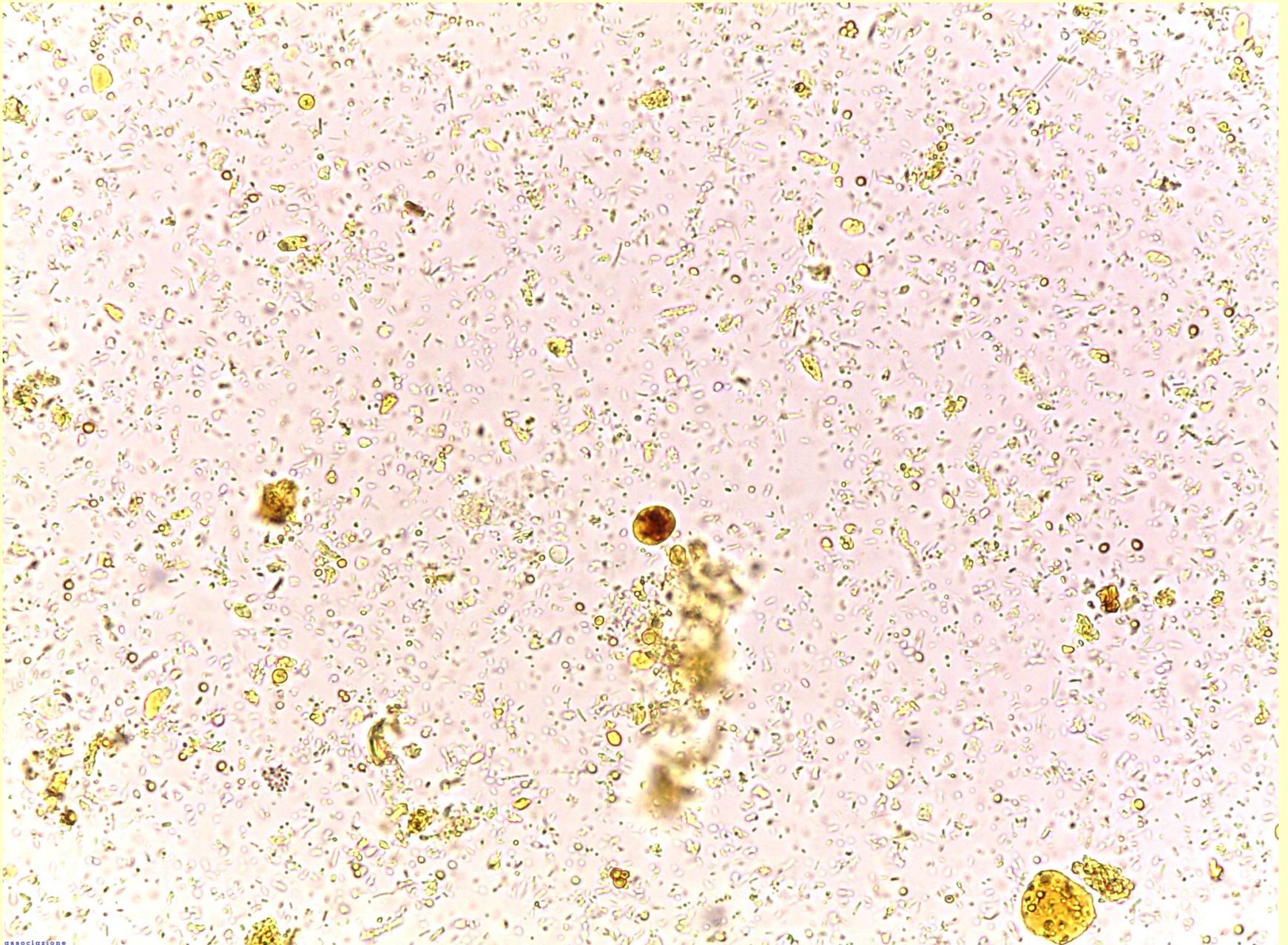
IL CAMPIONE 4 CONTIENE
CISTI DI
ENDOLIMAX NANA

CAMPIONE 5

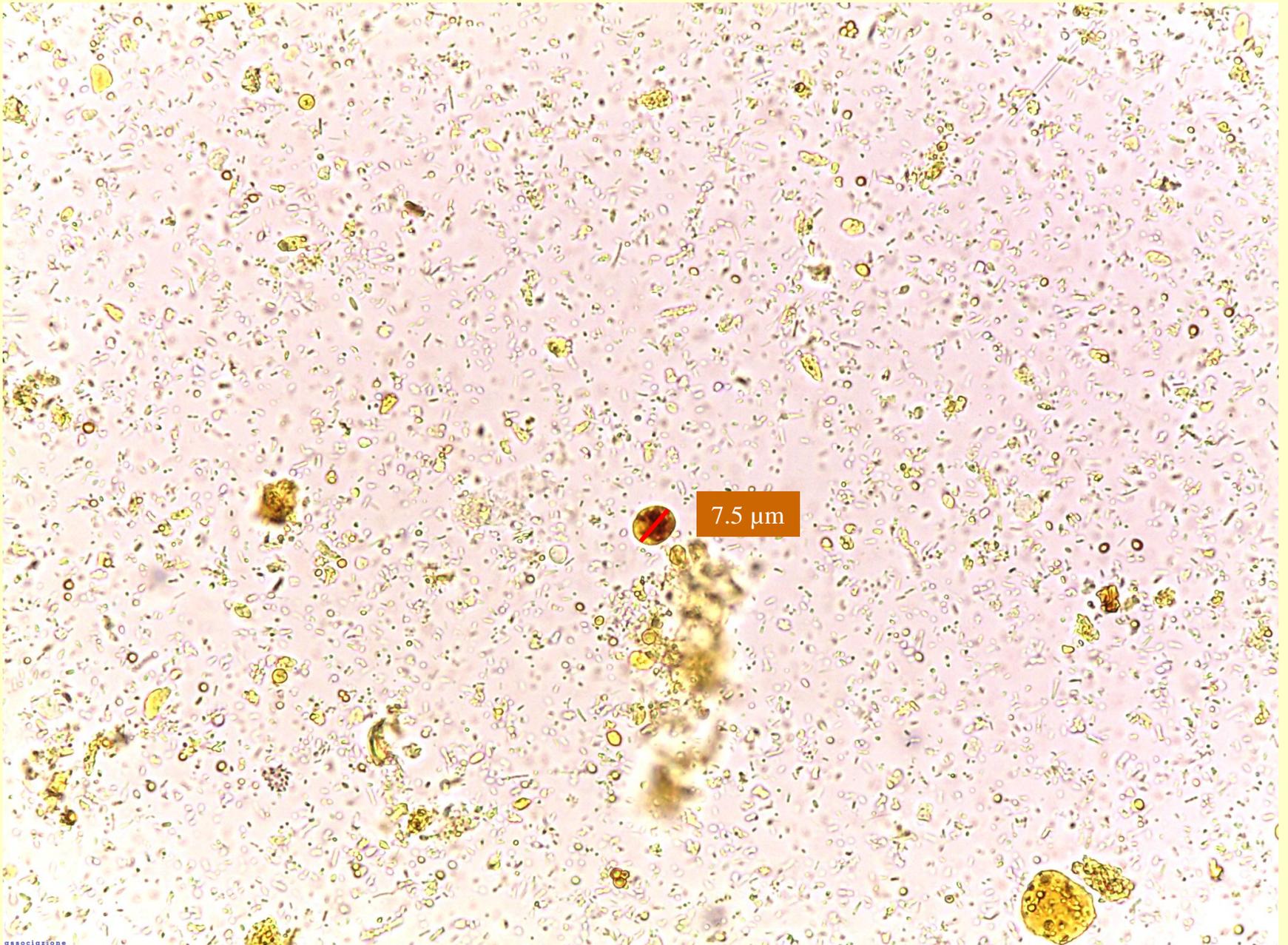
Immagini contrassegnate con JS sono da:
Swierczynski G, Milanese B.
Atlante dei protozoi intestinali umani.



400x CON DOBELL

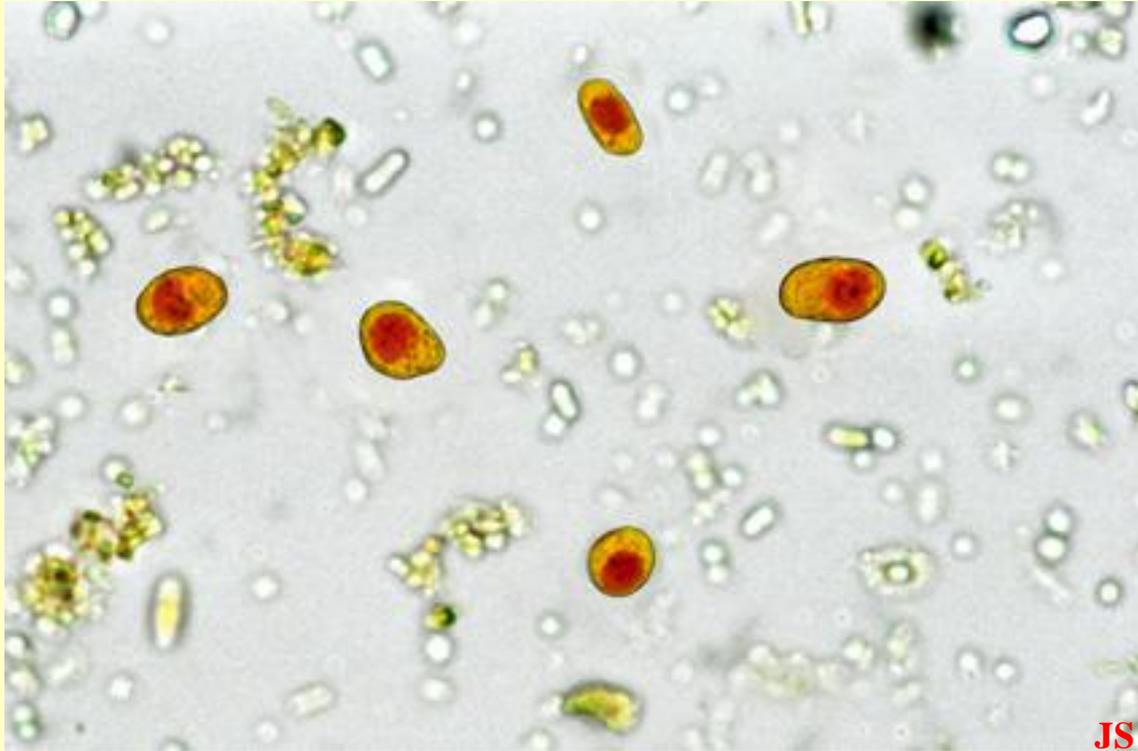


400x CON DOBELL

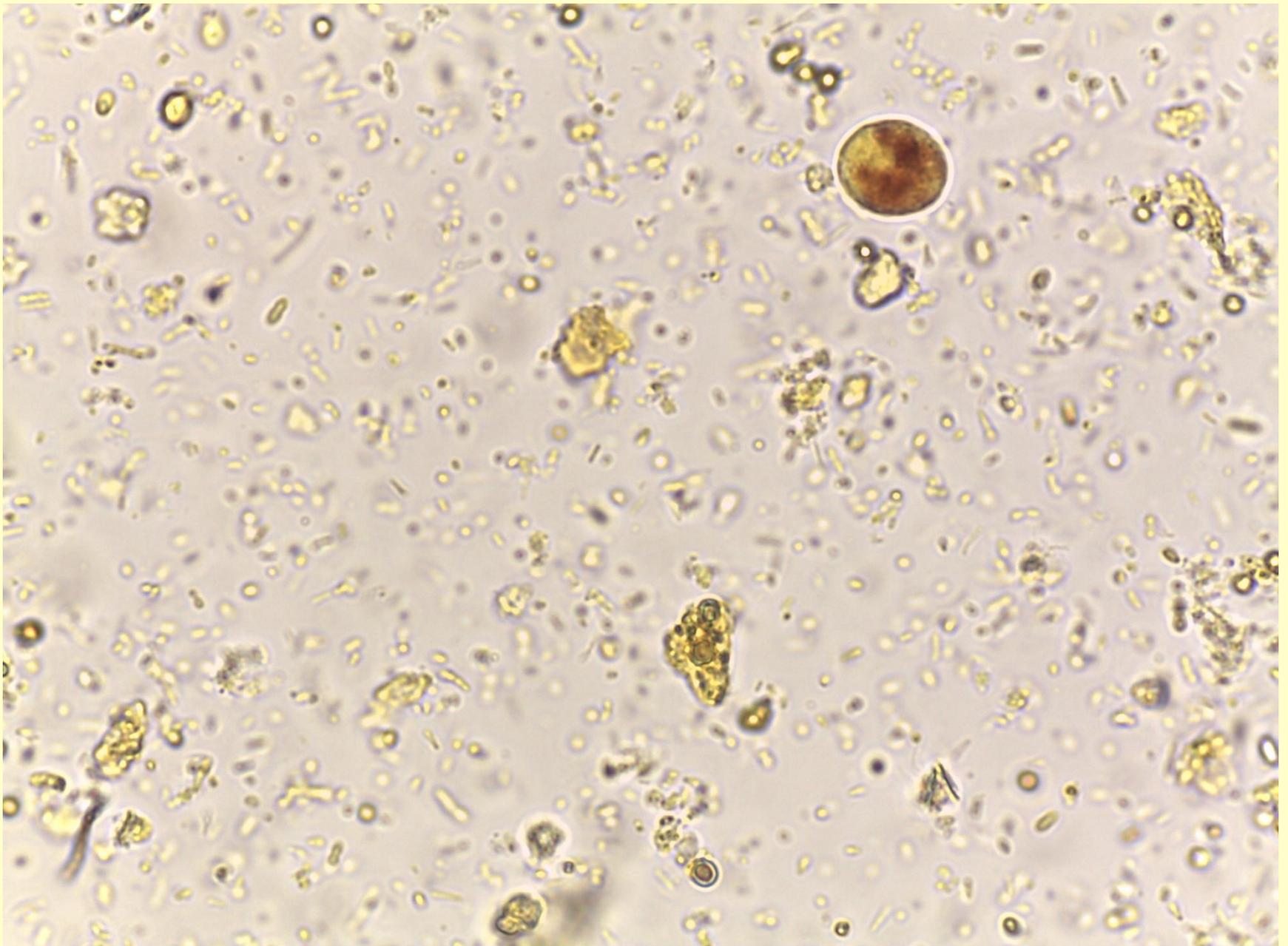


7.5 μm

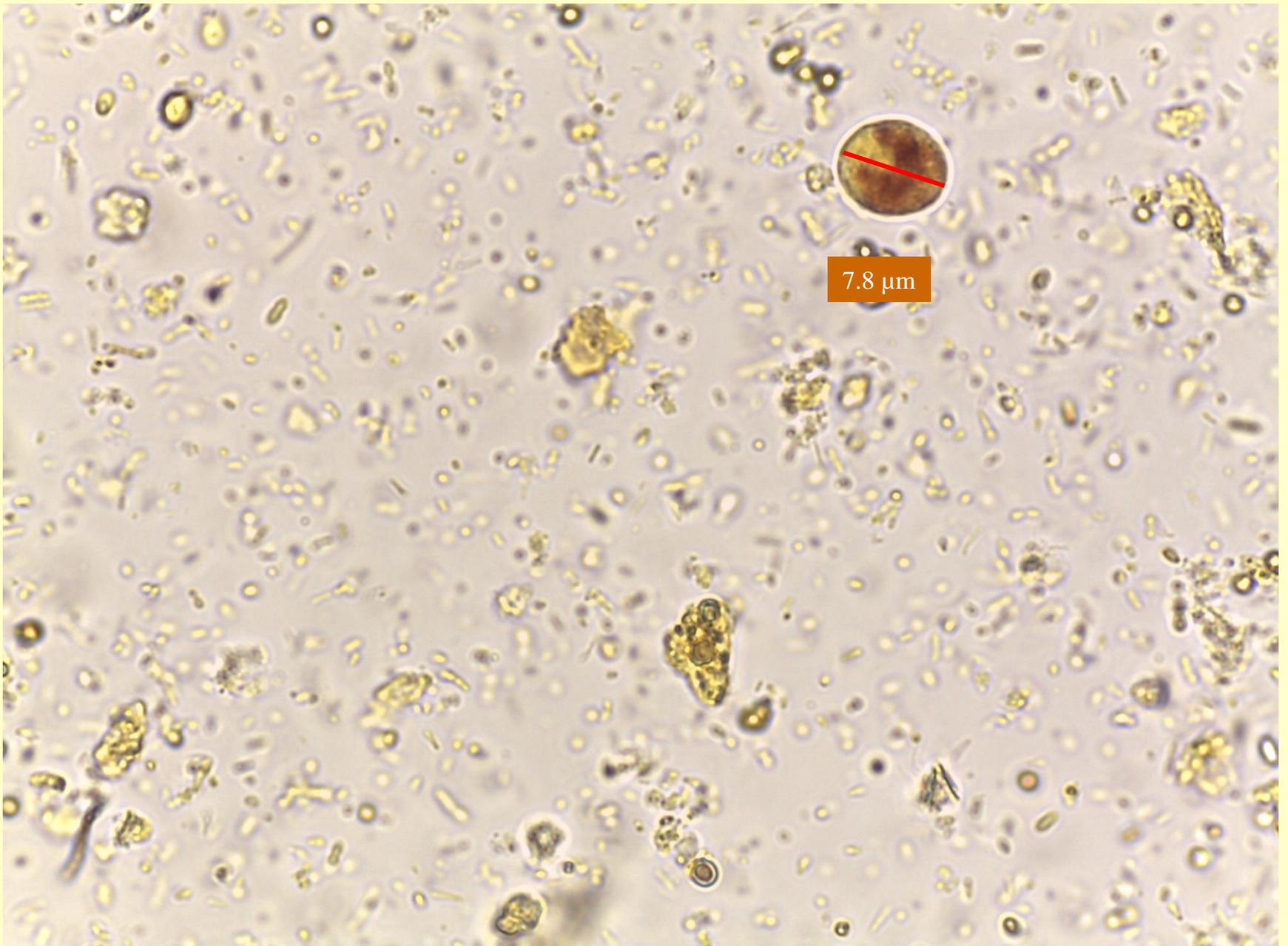
400x CON DOBELL



400x CON DOBELL



400x CON DOBELL



400x CON DOBELL



1000x CON DOBELL



JS

1000x A FRESCO

IL CAMPIONE 4 CONTIENE
TROFOZOITI E CISTI DI
IODAMOEBEA BÜTSCHLI



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

