

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

**Dottorato di Ricerca
in Microbiologia e Virologia
XIX ciclo**

**Metodi molecolari per la diagnosi di laboratorio e
lo studio epidemiologico delle infezioni
da *Entamoeba histolytica* e da *Entamoeba dispar***

**Coordinatore:
Chiar.mo Prof. Carlo Chezzi**

**Tutore:
Chiar.ma Prof.ssa Adriana Calderaro**

**Dottoranda:
Dott.ssa Chiara Gorrini**

Al piccolo Matteo

Indice generale

	Pagina
Introduzione	1
1. I protozoi	2
2. Le amebe	4
3. Breve premessa e cenni storici sull'amebiasi	4
4. <i>Entamoeba histolytica</i> ed <i>Entamoeba dispar</i>	5
5. Ciclo vitale e morfologia	6
6. Patogenesi e manifestazioni cliniche dell'infezione da <i>E. histolytica</i>	8
7. Cenni di terapia e prevenzione	11
8. Diagnosi di laboratorio delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i>	12
8.1. Diagnosi di laboratorio mediante metodi diretti	
8.1.1. Esame microscopico	
8.1.2. Esame colturale	
8.1.3. Analisi degli zimodemi	
8.1.4. Saggi per la ricerca degli antigeni	
8.1.5. Saggi per la ricerca degli acidi nucleici	
8.2. Diagnosi di laboratorio mediante metodi indiretti	
9. Epidemiologia delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i>	23
10. Diversità genetica intraspecifica in <i>E. histolytica</i>	24
Scopo della tesi	30

	Pagina
Materiali e Metodi	37
1. Valutazione di due saggi di PCR per la diagnosi di laboratorio delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i>	38
1.1. Campioni biologici	
1.2. Esame microscopico ed esame colturale per la ricerca di amebe intestinali	
1.3. Estrazione del DNA di amebe	
1.4. Saggi molecolari per la ricerca e la differenziazione del DNA di <i>E. histolytica</i> e di <i>E. dispar</i> (PCR convenzionale e real-time PCR)	
1.5. Ottimizzazione e determinazione della sensibilità e della specificità analitiche dei saggi di PCR e real-time PCR	
1.6. Confronto tra i risultati dei saggi molecolari e dei saggi tradizionali (esami microscopico e colturale) per la diagnosi di laboratorio delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i>	
1.7. Sequenziamento dei prodotti di amplificazione	
2. Studio della prevalenza delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i> nell'area di Parma nel periodo 2003-2007 mediante saggi molecolari	45
2.1. Campioni biologici	
2.2. Saggi molecolari per lo studio epidemiologico delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i>	
3. Genotipizzazione dei ceppi di <i>E. histolytica</i> identificati nel periodo 2003-2007	46
3.1. Saggi di PCR per la genotipizzazione di ceppi di <i>E. histolytica</i>	
3.2. Sequenziamento e analisi di sequenza dei prodotti di amplificazione	
3.3. Assegnazione del genotipo	

	Pagina
Risultati	48
1. Valutazione di due saggi di PCR per la diagnosi di laboratorio delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i>	49
2. Studio della prevalenza delle infezioni da <i>E. histolytica</i> e da <i>E. dispar</i> nell'area di Parma nel periodo 2003-2007 mediante saggi molecolari	52
3. Genotipizzazione dei ceppi di <i>E. histolytica</i> identificati nel periodo 2003-2007	53
4. Genotipizzazione comparativa di ceppi di <i>E. histolytica</i> identificati in campioni di feci e di liquido aspirato da ascesso epatico di pazienti con amebiasi intestinale-extraintestinale (studio collaborativo)	55
Discussione e conclusioni	58
Bibliografia	73
Pubblicazioni <i>in extenso</i> prodotte nel corso del Dottorato di Ricerca	85