L'ESAME COPROPARASSITOLOGICO: INDICAZIONI DI BASE PER UNA ADEGUATA DIAGNOSTICA

Daniele Crotti * **, Francesco Bernieri *****, Annibale Raglio ** ****, Daniela Galli **

* Struttura Complessa di Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Perugia; ** Comitato di Studio per la Parassitologia-Associazione Microbiologi Clinici Italiani; *** Direzione Generale Sanità, Regione Lombardia, Milano; **** Laboratorio di Microbiologia Vivolenia Octobelli Provincia Provincia di Microbiologia (Vivolenia Octobelli Provincia)

Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedali Riuniti, Bergamo

Le presenti indicazioni sono rivolte ai Medici di Medicina Generale, e riguardano sia le motivazioni all'esame coproparassitologico, sia le modalità relative alla raccolta dei campioni per la ricerca di parassiti, o loro prodotti, emessi con le feci.

Scopo delle indicazioni è di supportare il medico curante nella prescrizione razionale dell'esame parassitologico delle feci e far sì che lo assistano nel migliore utilizzo dei servizi diagnostici specifici di laboratorio.

Introduzione: i parassiti intestinali umani

Le parassitosi intestinali sono causate da Protozoi, che sono microrganismi unicellulari, e da Elminti (o Vermi), che sono in vece organismi pluricellulari di dimensioni variabilissime.

Per semplicità tassonomica possiamo suddividere i protozoi in 4 gruppi principali: amebe, flagellati, ciliati e coccidi, e gli elminti in 3 gruppi: cestodi, trematodi e nematodi.

Рготого	ELMINTI
Amebe	
Flagellati	Cestodi
Ciliati	Trematodi
Coccidi	Nematodi

In queste note si fa riferimento alle principali parassitosi autoctone e di importazione (da Paesi endemici per le medesime) ascrivibili all'apparato gastro-intestinale nel suo complesso, rimandando a testi più esaustivi per le parassitosi rare o comunque non comuni.

I protozoi patogeni responsabili di infezione intestinale sono rappresentati da Entamoeba histolytica*, Giardia intestinalis (o Giardia lamblia, o Giardia duodenalis), Dientamoeba fragilis, Balantidium coli, Cryptosporidium parvum, Isospora belli, Cyclospora cayetanensis. Per queste infezioni è solitamente raccomandata una terapia specifica.

I protozoi non patogeni sono rappresentati da tutti gli altri come riportato nella Tabella schematica relativa. Il reperimento di questi protozoi saprofiti-commensali è significativo di contaminazione idroalimentare o ambientale. Non vanno mai trattati con farmaci antiparassitari. Per Blastocystis hominis, ameba "atipica", il ruolo per alcuni Autori è ancora controverso, nel senso che in talune circostanze può comportarsi da opportunista patogeno; solitamente è rinvenibile associato ad altri parassiti anche patogeni o, se osservato da solo, è espressione di una pregressa diversificata patologia in sede intestinale.

Gli elminti sono da ritenersi sempre patogeni, anche se possono causare infestazioni asintomatiche, o apparentemente tali. I più importanti vermi di interesse umano sono: Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Ancylostoma duodenale, Necator americanus, Enterobius vermicularis, Strongyloides stercoralis, Capillaria spp. (C. hepatica e C. philippinensis), Trichostrongylus spp., Schistosoma spp. (S. mansoni, S. japonicum, S. intercalatum, S. mekongi, S. haematobium), Clonorchis sinensis, Opistorchis spp., Paragonimus westermani, Fasciola hepatica, Metagonimus spp., Heterophyes spp., Taenia spp. (T. saginata e T. solium) Hymenolepis nana, Hymenolepis diminuta, Diphyllobothrium latum. Queste infestazioni da elminti vanno trattate con antielmintici specifici.

INDICAZIONI E MOTIVAZIONI ALLE RICHIESTE DI INDAGINE

I campioni fecali per la ricerca di parassiti sono utili nelle seguenti circostanze o situazioni:

 pazienti con disturbi intestinali aspecifici (sovente da lungo tempo);

^{*} NB: alla fine degli anni '70, Sargeaunt e collaboratori, studiando migliaia di ceppi provenienti da tutte le parti del mondo, svilupparono una tecnica capace di differenziare i ceppi di E. histolytica in 2 gruppi distinti dal punto di vista biochimico, denominati dagli autori dello studio come "patogeno" per l'uomo l'uno e "non patogeno" l'altro. Al primo gruppo appartenevano tutti i ceppi isolati da pazienti con patologia invasiva e alcuni ceppi isolati da portatori asintomatici, al secondo gruppo la maggior parte dei ceppi isolati da portatori asintotici, ma nessun ceppo isolato da pazienti con sintomatologia amebica. Le successive scoperte di differenze antigeniche e di differenze nel DNA tra i due gruppi di amebe ha portato alla formale distinzione dei due gruppi in due distinte specie Entamoeba histolytica "sensu strictu", patogena, e Entamoeba dispar, non patogena. L esame coproparassitologico standard non è in grado di differenziare le due specie che sono tra di loro morfologicamente identiche. Èsistono tecniche in ELISA o PCR (Polymerase Chain Reaction) in grado di distinguere tra le due specie, ma si tratta di tecniche utilizzabili solo in laboratori di riferimento e non per la normale routine diagnostica

Protozoi usualmente patogeni	
Amebe	Entamoeba histolytica
Flagellati	Giardia intestinalis Dientamoeba fragilis
Ciliati	Balantidium coli
Coccidi	Cryptosporidium parvum Isospora belli Cyclospora cayetanensis
Protozoi usualmente saprofiti (non patogeni)	
Amebe	Entamoeba dispar Entamoeba coli Entamoeba hartmanni Endolimax nana Iodamoeba buetschlii Blastocystis hominis
Flagellati	Chilomastix mesnili Trichomonas (o Pentatrichomonas) hominis Enteromonas hominis Retortamonas intestinalis
ELMINTI	
Nematodi	Ascaris lumbricoides Trichuris trichiura Ancilostomidi (A. Duodenale e N. americanus) Enterobius vermicularis Strongyloides stercoralis Capillaria spp. Trichostrongylus spp.
Trematodi	Schistosoma spp. Clonorchis sinensis Opistorchis spp. Paragonimus westermani Fasciola hepatica Metagonimus spp./Heterophyes spp.
Cestodi	Taenia spp. Hymenolepis nana Hymenolepis diminuta Diphyllobothrium latum

- pazienti con diarrea infettiva (più spesso "diarrea del viaggiatore");
- pazienti con ipereosinofilia (in caso anche con prurito, e talora con lesioni cutanee da trattamento);
- soggetti con anemia (ma solo immigrati da zone endemiche);
- soggetti asintomatici con uno dei seguenti elementi "di rischio":
 - provenienti o rientranti da paesi endemici per una più o meno svariata gamma di parassiti;
 - a contatto stretto con soggetti dimostratisi parassitari (scuole, famiglie, collettività chiuse);
 - in situazioni epidemiche (scuole, collettività chiuse, carceri, campeggi);
 - anziani da sottoporre a terapie cortisoniche (solo per S. stercoralis);
 - che riferiscono "elementi strani" emessi con le feci.

Si fa soprattutto riferimento a soggetti o pazienti immunocompetenti. Nei pazienti immunocompromessi sintomatici, a parte alcuni protozoi peculiari di tale stato immunitario (quali *Cryptosporidium parvum*), le infezioni parassitarie sono o possono essere più frequenti e, spesso, più gravi.

Mentre le parassitosi autoctone sono molto limitate e piuttosto rare, le parassitosi di importazione sono sicuramente più frequenti. In Italia sono segnalati essere tuttora presenti: *G. intestinalis, D. fragilis,* tra i protozoi (mentre *C. parvum* sembra essere più raro), *E. vermicularis* (se si esegue lo "scotch-test", vedi oltre), *S. stercoralis* (se si esegue una "ricerca mirata", vedi oltre), *Taenia* spp. (di fatto *T. saginata*) e, assai di rado segnalati, *A. lumbricoides* e *T. trichiura*, tra i vermi. La maggior parte dei parassiti importati proviene da paesi dell'Africa soprattutto sub-sahariana, Continente indiano ed Estremo Oriente, Centro e Sud-America, Est-Europa.

INDAGINI DIAGNOSTICHE RACCOMANDATE

Le indagini diagnostiche principali per le parassitosi dell'apparato gastro-intestinali sono rappresentate da:

- esame coproparassitologico standard: per più o meno tutti i parassiti;
- scotch-test (per E. vermicularis);
- ricerca mirata di S. stercoralis.

Per altre indagini, più specifiche, differenziate, particolari o supplementari, quali le colture per protozoi o la ricerca diretta di antigeni protozoari o il conteggio delle uova di elminti, si rimanda a testi più esaustivi.

Con l'esame coproparassitologico standard si possono rilevare sia cisti che trofozoiti di protozoi sia uova o larve di elminti.

L'esame coproparassitologico standard prevede la ricerca microscopica dei parassiti sia nel sedimento fecale dopo un opportuno trattamento di concentrazione sia in strisci fecali specificatamente colorati. La non esecuzione di strisci fecali colorati non permette di evidenziare alcuni protozoi quali ad esempio *D. fragilis*. Inoltre questo esame ha una scarsissima sensibilità nei confronti di *E. vermicularis* e *S. stercoralis*.

Lo scotch-test serve per la ricerca di uova di *E. vermi-cularis* (ossiuri) nelle pliche perianali.

La ricerca mirata di *S. stercoralis*, che prevede un campione abbondante di feci da poco emesse, va effettuata in situazioni specifiche di "rischio" per una strongyloidiasi, ovvero in soggetti, in genere anziani, che da giovani abbiano avuto ripetuti contatti, di solito camminando a piedi scalzi, con terreni caldo-umidi (particolarmente a rischio sono gli agricoltori). Va sottolineato come tale parassitosi sia sottostimata in Italia, ma va attentamente presa in considerazione, in quanto, in pazienti in terapia cortisonica, può risultare anche fatale.

In tutte le situazioni in cui si sospetta o si vuole escludere una parassitosi intestinale, è necessario raccoglie-

re e analizzare 3 campioni, meglio se a giorni alterni o, comunque, nell'arco di 7-10 giorni. Soltanto nelle enteriti è solitamente sufficiente un solo campione. Per contro, nel sospetto specifico di una giardiasi o di una enterobiasi è utile analizzare altri 3 campioni, se i primi erano negativi.

Talora è possibile osservare vermi interi o parte di essi, sia nei campioni fecali sia spontaneamente eliminati. Può così capitare di reperire vermi adulti di *E. vermicularis* o di *A. lumbricoides*, così come proglottidi

di *Taenia* spp. È opportuno fare pervenire sempre tali strutture, osservate dai soggetti stessi o da un familiare o dal medico curante, al Servizio di laboratorio parassitologico di afferenza per una identificazione corretta. Per potere eseguire un buon esame coproparassitologico è indispensabile che le feci vengano raccolte, conservate ed inviate al laboratorio in modo corretto. Di seguito sono riportate, a titolo di esempio, le modalità di raccolta delle feci per l'esame coproparassitologico standard, lo scotch-test e la ricerca mirata di *S. stercoralis*.

Istruzioni per la raccolta delle feci

ESAME COPROPARASSITOLOGICO STANDARD

N.B.: si raccomanda di raccogliere 3 campioni di feci emesse a giorni alterni.

- Le feci vanno raccolte su una superficie asciutta e pulita, tipo una padella da letto, oppure un foglio di cartone o giornale ripiegato, o da un sacchetto di plastica, posti sotto il copri water.
 N.B.: le feci non vanno contaminate né con le urine né con l'acqua del water.
- 2) Le feci vanno prelevate in punti diversi dell'intera evacuazione. Trasferire in un adeguato contenitore (di plastica, fornito dal laboratorio o acquistato in farmacia), utilizzando una spatola o una bacchetta di legno o una posata di plastica, una quantità di feci pari almeno al volume di una grossa noce.
 N.B.: se le feci sono non formate/diarroiche raccogliere almeno 5-10 ml di materiale fecale.
- 3) Chiudere molto bene il contenitore ed etichettarlo con cognome e nome, data di nascita, data e ora dell'emissione delle feci.
- 4) Consegnare il campione al laboratorio entro 2-4 ore dalla raccolta oppure conservarlo in frigorifero per non più di 24 ore.
 - ATTENZIONE: se le feci sono liquide il campione deve pervenire al laboratorio entro 30-60 minuti dalla loro emissione!

Precauzioni importanti

- a) Alcuni giorni prima e durante il periodo della raccolta delle feci non fare uso di lassativi, antidiarroici, antimicrobici, o di altre sostanze interferenti come bario, bismuto, oli minerali.
- b) Alcuni giorni prima e durante il periodo della raccolta delle feci si consiglia di seguire un regime dietetico che prevede di evitare: legumi e frutta secca, frutta e verdure a cuticola resistente (pesche, albicocche, pomodori, pere, fragole, fichi), carote e banane.

Istruzioni per l'esecuzione dello Scotch-Test

ESECUZIONE DELLO SCOTCH-TEST PER LA RICERCA SPECIFICA DI ENTEROBIUS VERMICULARIS (OSSIURI)

N.B.: si raccomanda di eseguire 3 scotch test preferibilmente a giorni alterni.

ATTENZIONE:

- La raccolta deve essere eseguita al momento del risveglio mattutino, prima che il soggetto defechi e si lavi;
- utilizzare nastro adesivo (scotch) trasparente;
- ritirare il materiale necessario (vetrini e abbassalingua) in laboratorio.
- 1) Tagliare con le forbici un pezzo di nastro adesivo (5-6 cm) un poco più corto del vetrino fornito dal laboratorio.
- 2) Con l'aiuto di un abbassalingua (o del manico di un cucchiaio) appoggiare il nastro adesivo sull'orifizio anale comprimendo bene sulle pliche perianali per circa 15-20 secondi.
- 3) Staccare il nastro adesivo dall'orifizio anale ed applicarlo ben steso sul vetrino.
- 4) Identificare il vetrino con cognome e nome e data del prelievo.
- 5) Consegnare il campione al laboratorio entro 2-4 ore dal prelievo oppure conservarlo in frigorifero per non più di 48 ore.

ATTENZIONE:

Dopo il prelievo lavarsi bene le mani (le uova sono spesso già embrionate e infestanti).

Istruzioni per la raccolta delle feci

RICERCA SPECIFICA DI STRONGYLOIDES STERCORALIS

N.B.: si raccomanda di raccogliere 3 campioni di feci emesse a giorni alterni.

- Le feci vanno raccolte su una superficie asciutta e pulita, tipo una padella da letto, oppure un foglio di cartone o giornale ripiegato, o da un sacchetto di plastica, posti sotto il copri water.
 N.B.: le feci non vanno contaminate né con le urine né con l'acqua del water.
- 2) Le feci vanno prelevate in punti diversi dell'intera evacuazione. Trasferire in un adeguato contenitore (di plastica, fornito dal laboratorio o acquistato in farmacia), utilizzando una spatola o una bacchetta di legno o una posata di plastica, una quantità abbondante di materiale fecale, corrispondente al peso di almeno 30-40 grammi. Ciò equivale a una quantità di feci pari al volume di un mandarino.
- 3) Chiudere molto bene il contenitore ed etichettarlo con cognome e nome, data di nascita, data e ora dell'emissione delle feci.
- 4) Consegnare il campione al laboratorio entro 6-12 ore dalla raccolta.

Precauzioni importanti

- a) Alcuni giorni prima e durante il periodo della raccolta delle feci non fare uso di lassativi, antidiarroici, antimicrobici, o di altre sostanze interferenti come bario, bismuto, oli minerali.
- b) Alcuni giorni prima e durante il periodo della raccolta delle feci si raccomanda di seguire un regime dietetico che prevede di evitare: legumi e frutta secca, frutta e verdure a cuticola resistente (pesche, albicocche, pomodori, pere, fragole, fichi), carote e banane.

PROTOCOLLI OPERATIVI E PROCEDURE DIAGNOSTICHE

Si riportano in successione gli schemi riguardanti la diagnostica delle parassitosi intestinali, su base epidemiologica e clinica.

POPOLAZIONE AUTOCTONA

SOGGETTI SINTOMATICI

Diarrea acuta/protratta

esame coproparassitologico standard

Disturbi intestinali aspecifici

- esame coproparassitologico standard

Ipereosinofilia

- esame coproparassitologico standard
- ricerca mirata di S. stercoralis

Prurito anale

Scotch-test (raramente nell'adulto)

SOGGETTI ASINTOMATICI

Pazienti da sottoporre a terapia cortisonica (soggetti "a rischio anamnestico" per strongyloidiasi)

- ricerca mirata di S. stercoralis

Soggetti che riferiscono elementi strani emessi con le feci

- esame coproparassitologico standard

Soggetti all'interno di una situazione epidemica

esame coproparassitologico standard

Soggetti a stretto contatto con pazienti parassitari

esame coproparassitologico standard

VIAGGIATORE (da Paesi in via di sviluppo)

SINTOMATICO

Al momento del rientro

Diarrea acuta/protratta

esame coproparassitologico standard

Disturbi intestinali aspecifici

esame coproparassitologico standard

Dopo 1-3 mesi dal rientro

Disturbi intestinali aspecifici

esame coproparassitologico standard

Ipereosinofila

- esame coproparassitologico standard
- ricerca mirata di S. stercoralis

ASINTOMATICO

Dopo 3 mesi dal rientro

 esame coproparassitologico standard (sulla base di attente valutazioni anamnestiche)

IMMIGRATO

SINTOMATICO

Al momento dell'ingresso

Diarrea acuta/protratta - Disturbi intestinali aspecifici

- esame coproparassitologico standard

Ipereosinofilia

- esame coproparassitologico standard
- ricerca mirata di S. stercoralis

Anemia

- esame coproparassitologico standard

Prurito anale

- Scotch-test (raro negli adulti)

ASINTOMATICO

Entro 3 mesi dall'ingresso

- esame coproparassitologico standard

RACCOMANDAZIONE CONCLUSIVE

- La richiesta dell'esame coproparassitologico, dell'esecuzione dello scotch-test e della ricerca mirata di S. stercoralis, deve essere fatta quando clinicamente od oggettivamente indicata e motivabile.
- Il soggetto ambulatoriale deve essere istruito sulla modalità di raccolta dei campioni (feci, Scotch-test).
 A tal fine, oltre che seguire le raccomandazioni del proprio medico curante, è utile che il paziente si rivolga al laboratorio parassitologico che potrà fornirgli sia le istruzioni sia eventuali materiali utili alla raccolta dei campioni.
- Per qualsivoglia ulteriore indagine è molto importante che i pazienti, ma soprattutto i medici curanti, prendano contatto con i medici specialisti del laboratorio parassitologico di afferenza per suggerimenti ed indicazioni.

Bibliografia

Bernieri F, Galli D, Crotti D, Del Sante M. Studio Policentrico dell'AMCLI-CoSP sulla diffusione delle parassitosi intestinali in Italia: parassitosi intestinali nell'immigrato. G It Med Trop 1996;1:97-9.

Bernieri F, Galli D, Giordano S. Indagine nazionale AMCLI-CoSP sulla diffusione delle parassitosi intestinali. Microb Med 1996;11:463-72.

Bernieri F, Crotti D, Galli D, Raglio A. Manuale illustrato di diagnostica parassitologica. Pavia: Edizioni Selecta Medica 2001.

Cancrini G. Parassitologia medica illustrata. Roma: Lombardo Editore 1996.

Crotti D. Parassitosi intestinali autoctone nella seconda metà degli anni '90: considerazioni critiche diagnostiche. Microb Med 2001;17:7-13.

Crotti D, D'Annibale ML. Dientamoeba fragilis e dientamoebosi: aspetti di parassitologia clinica e diagnostica di laboratorio. Parassitologia 2001;3:133-8.

De Carneri I. Parassitologia generale e umana. XI Ed. Milano: Casa editrice Ambrosiana 1992.

Garcia LS. Practical Guide to Diagnosric Parasitology. Washington D.C.: ASM Press 1999.

