

Diagnosi indiretta dell'infezione da *Trichinella* nell'uomo e negli animali

Maria Angeles Gómez Morales

*Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate
European Union Reference Laboratory for Parasites
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

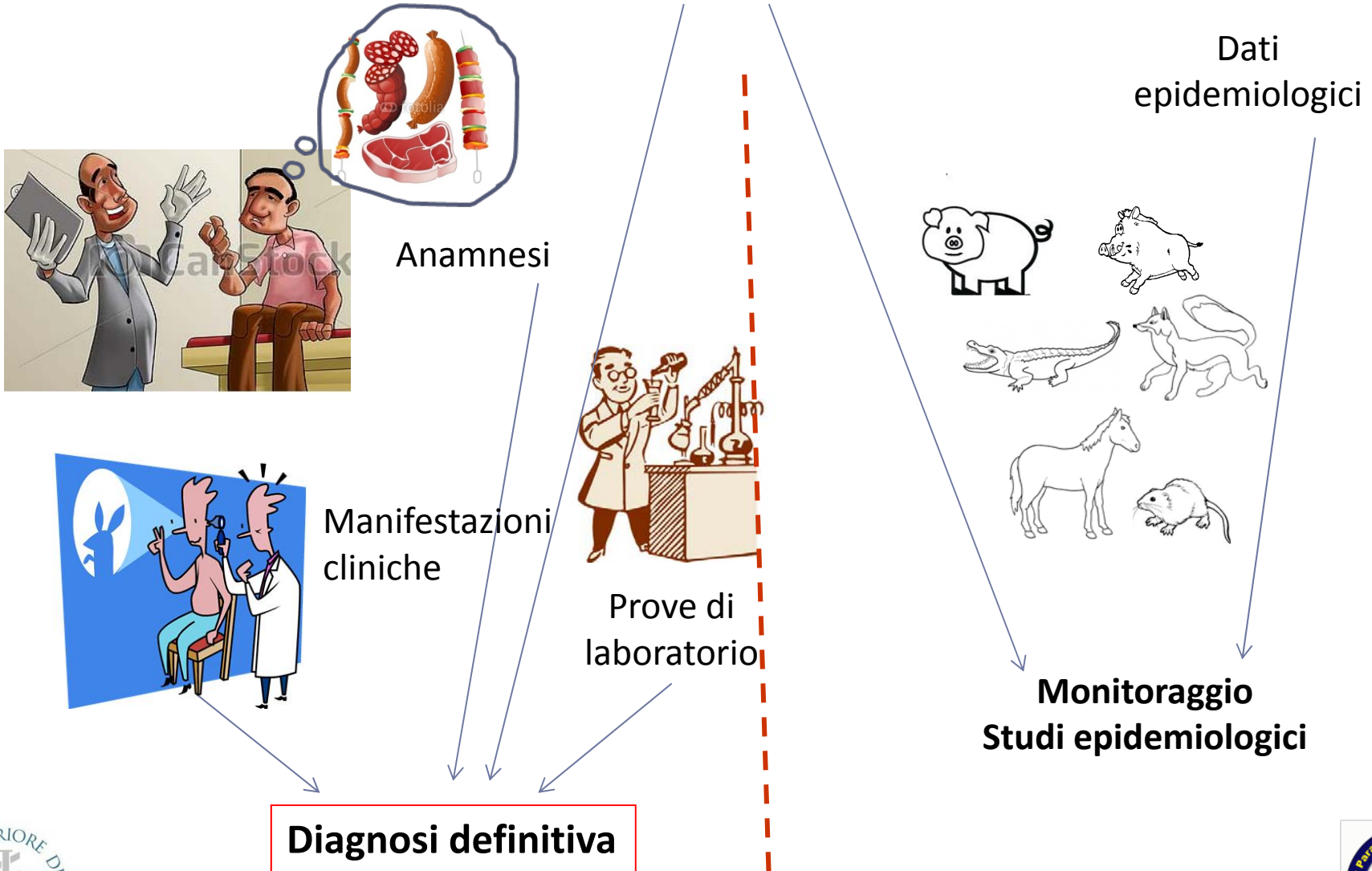
Diagnostica di laboratorio di *Trichinella*, 18 Marzo 2014



uomo

Diagnosi indiretta

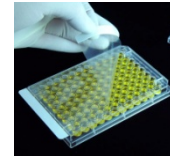
animali



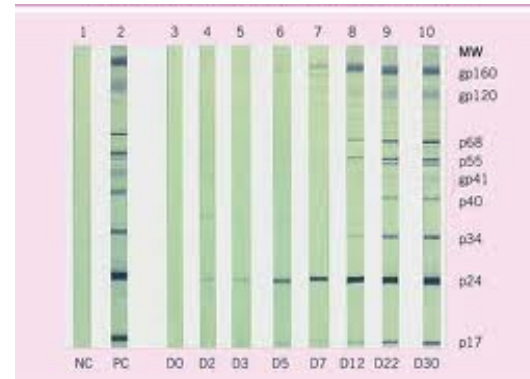
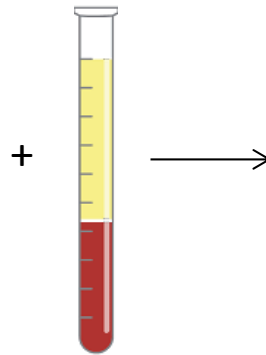
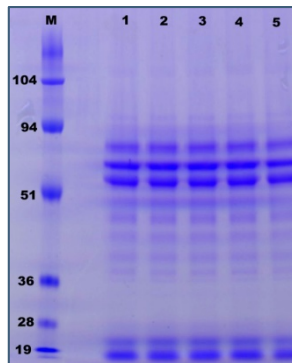
Diagnosi indiretta

TEST PIU' USATI

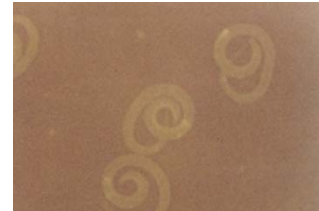
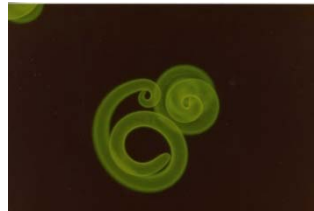
ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)



Western blotting



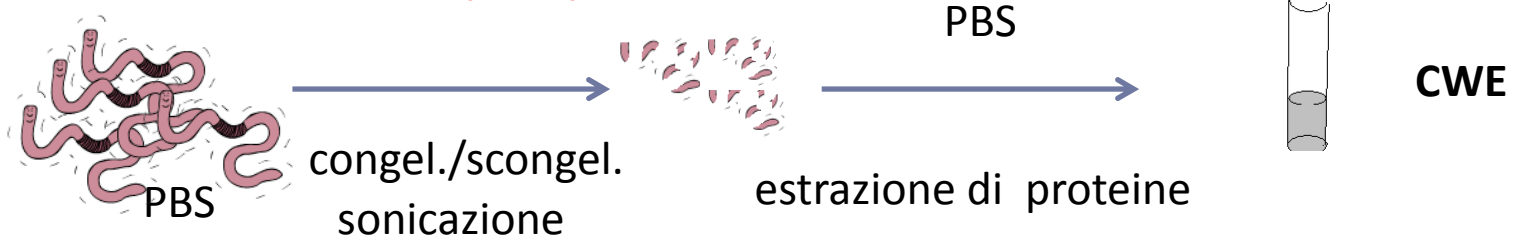
Immunofluorescenza



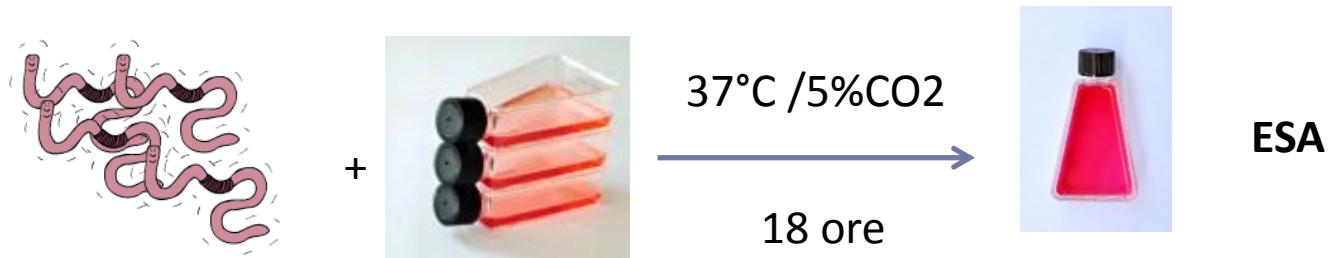
ANTIGENI USATI

Essendo il corredo antigenico condiviso fra tutte le specie di *Trichinella*, gli antigeni preparati con una specie possono essere usati come antigeni per la diagnosi delle infezioni causate dalle altre specie

•Estratto crudo di larve (CWE):



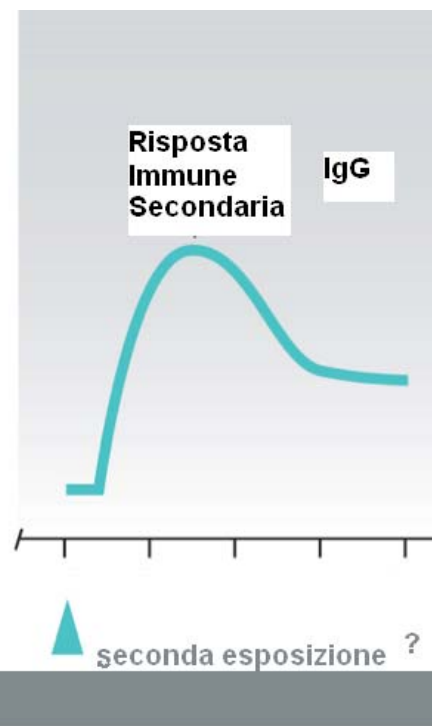
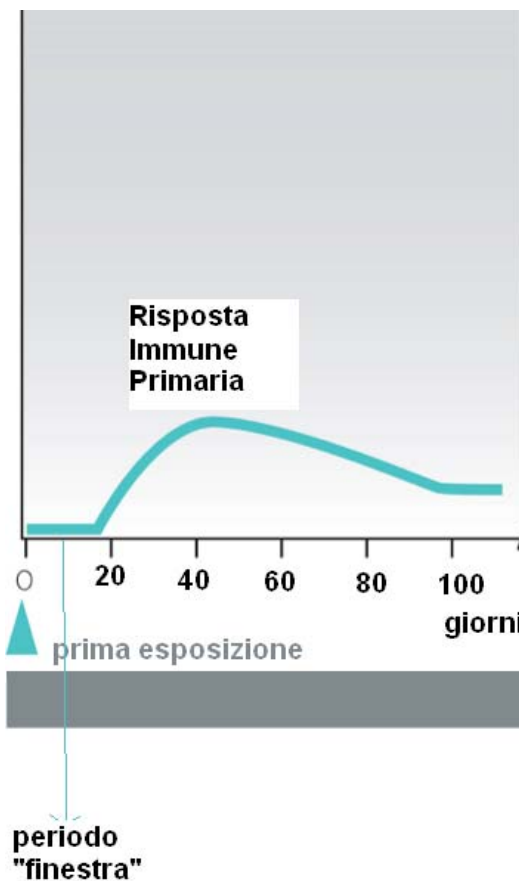
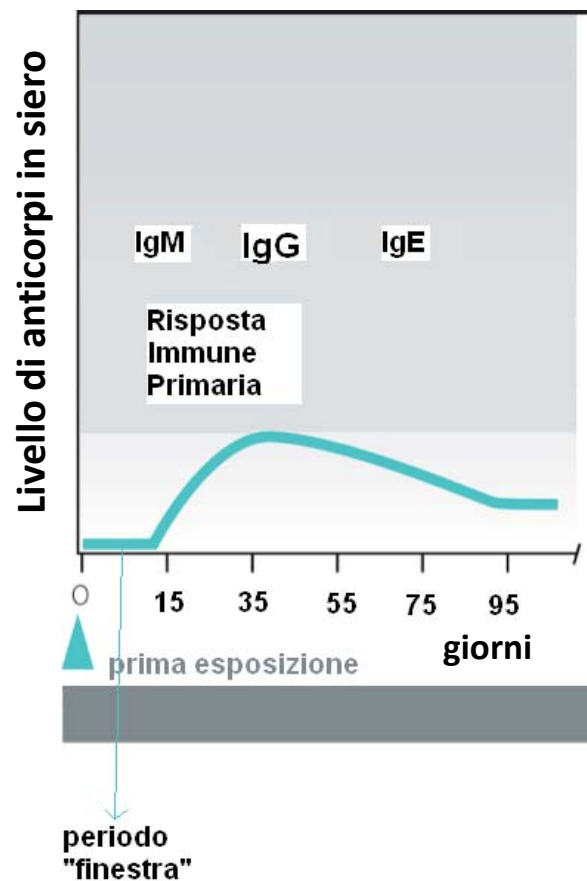
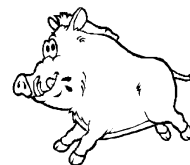
•Secrezione ed escrezione (ESA)



•**Tyvelosio**: (3,6-dideoxy-D-*arabino* β hexopyranosyl): residuo di una glicoproteina immuno-dominante presente nella larva



RISPOSTA UMORALE

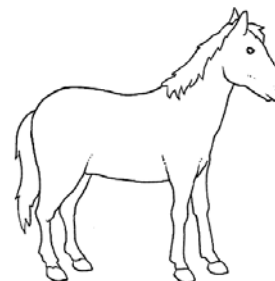


RISPOSTA UMORALE NELLE SPECIE ANIMALI



Sus scrofa

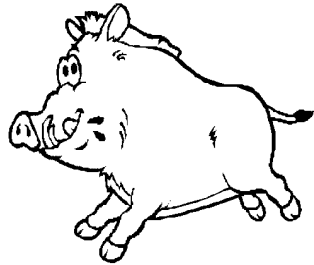
- Il tempo di siero conversione è inversamente proporzionale alla dose infettante
- Le infezioni da *T. spiralis* inducono una risposta anticorpale persistente
- Le infezioni da *T. pseudospiralis* e *T. britovi* presentano un tempo di siero conversione più lungo (8-9 settimane) delle infezioni da *T. spiralis*
- Le infezioni da *T. nativa*, *T. murrelli* e *T.6* inducono una risposta anticorpale di breve durata



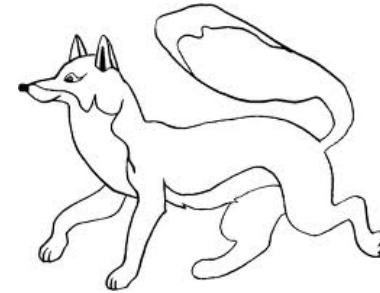
Equus caballus

- Il tempo di siero conversione è variabile, da 2-7 settimane e sembra non dipendere dalla dose infettante
- Le IgG specifiche persistono solo per poco tempo (circa 15 settimane), il loro livello inizia a declinare quando ancora sono presenti le larve nel muscolo
- **I metodi indiretti non sono raccomandati per questa specie animale**

RISPOSTA UMORALE NELLE SPECIE ANIMALI-2



Sus scrofa



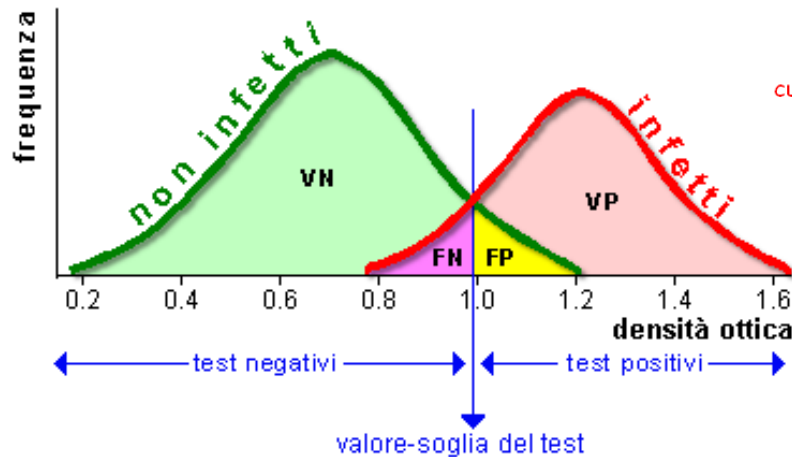
Vulpes vulpes

- Il tempo di siero conversione è di 3-4 settimane nelle infezioni da *T. spiralis* e più ritardato in quelle da *T. pseudospiralis*
 - Le infezioni da *T. spiralis* e *T. nelsoni* inducono un livello di IgG specifiche persistenti
 - Le infezioni da *T. nativa*, *T. murrelli* e T6 inducono una risposta anticorpale di breve durata
- Il tempo di siero conversione è variabile, da 2-6 settimane e sembra dipendere dalla dose infettante
 - Le IgG specifiche possono persistere fino alla fine della vita, considerando che la vita media della volpe è di 76 settimane (Nockler & Voight 1998)

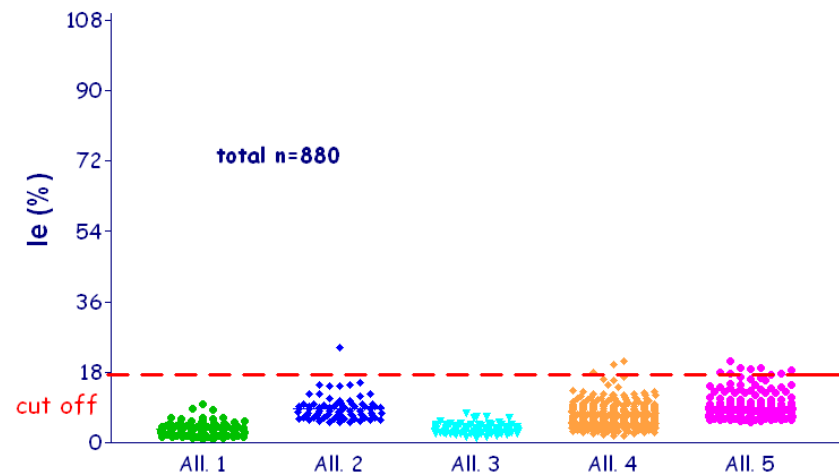
Interpretazione dei risultati dei metodi indiretti: ELISA

Determinazione del valore soglia o cut-off del test

Cut-off= Media OD \pm 3DS

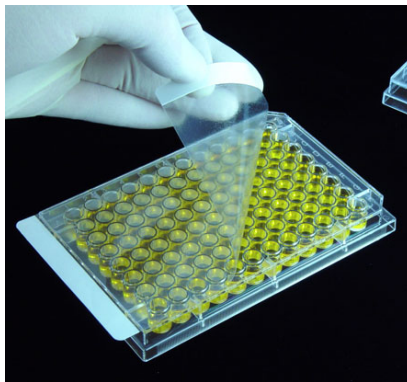


Livelli di IgG anti- *Trichinella* nel siero di
suini risultati negativi nella digestione
artificiale

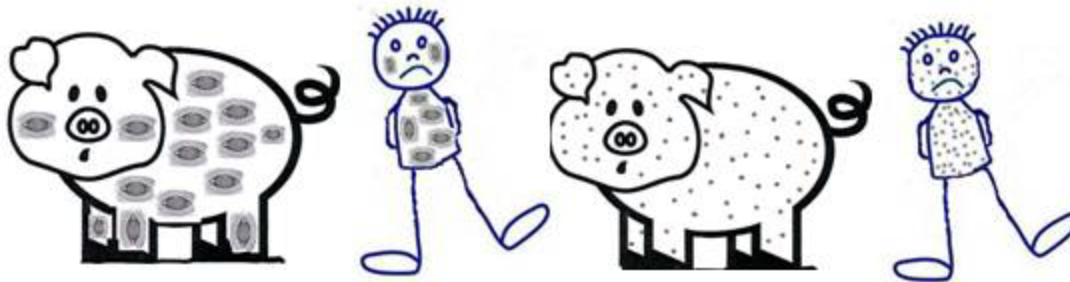
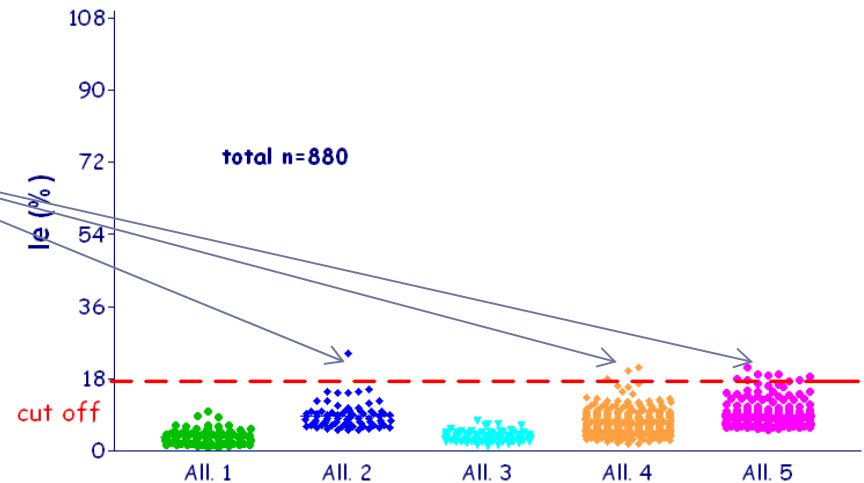


Interpretazione dei risultati dei metodi indiretti: ELISA

Livelli di IgG anti-*Trichinella* nel siero di suini risultati negativi nella digestione artificiale



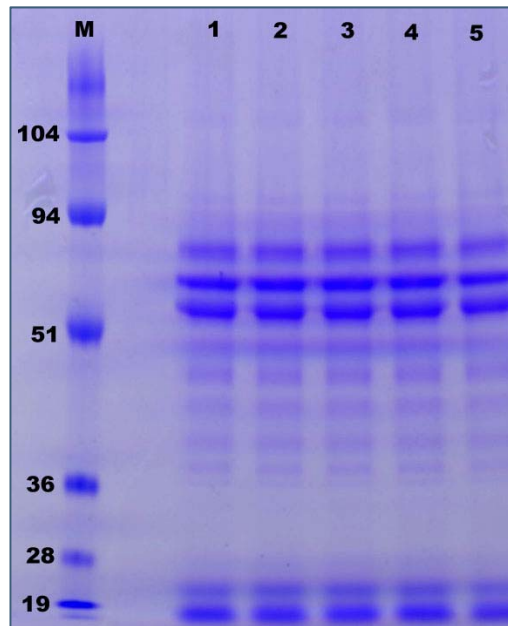
+



Diagnostica di laboratorio di *Trichinella*, 18 Marzo 2014

Interpretazione dei risultati dei metodi indiretti: Western Blotting

Definizione di un modello distintivo di reattività dell'ESA con sieri di soggetti infetti da *Trichinella*



470 sieri umani: 150 con infezione confermata
20 non infetti
300 con altre infezioni

230 sieri di suini: 30 infettati sper. con *Trichinella*
90 infettati natural. con *Trichinella*
90 suini sani

SDS-PAGE di *Trichinella spiralis* ESA

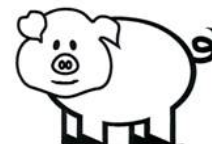
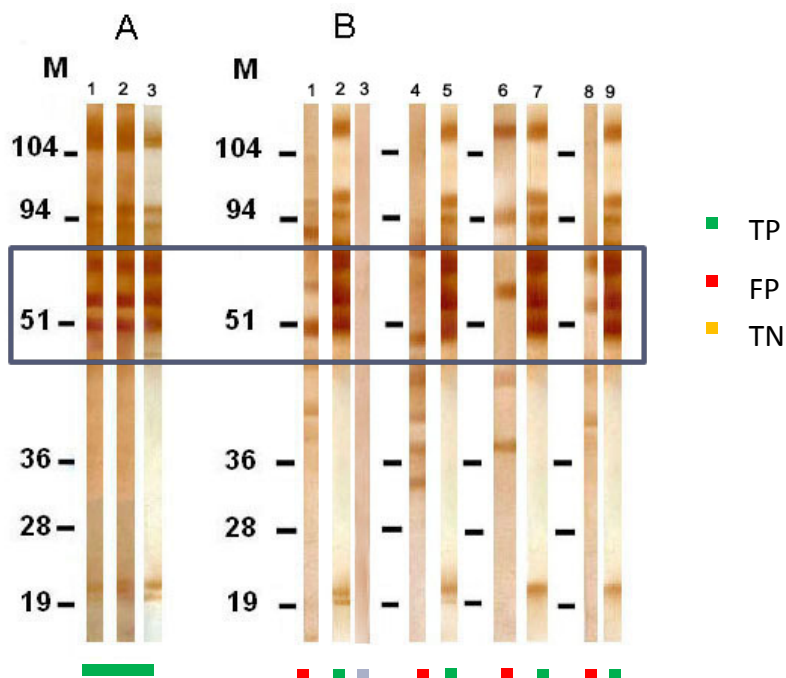
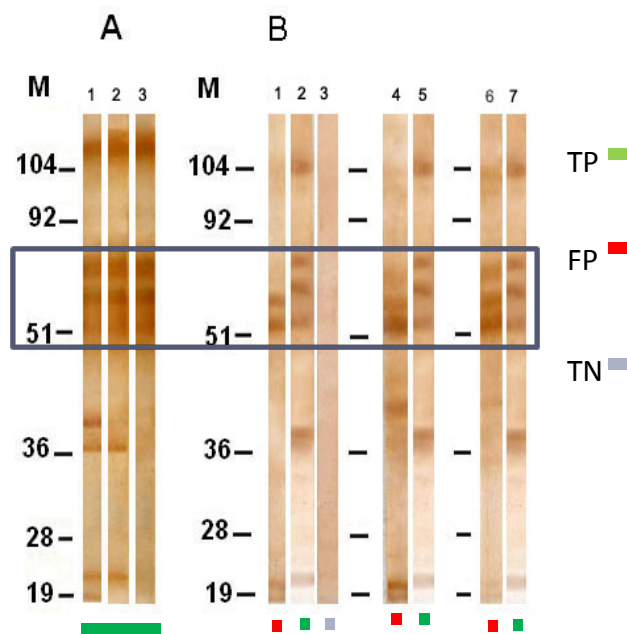
RESULTATI: sieri umani

Pesi Molecolari (Kd) delle proteine identificate in <i>Trichinella</i> ESA	Sieri di persone con infezione confermata (%)	Sieri di persone con altre infezioni (%)
125-130	47	3
117-120	42	3
104-111	84	25
96-100	58	19
81-87	45	19
77	26	28
67-70		5.5
59-62	100	38.8
53-55		29.1
48	58	55
38-42	71	43
33-35	66	44
25	50	5
23	26	1
21	66	15
18-20	50	48

RESULTATI: sieri suini

Pesi Molecolari (Kd) delle proteine identificate in <i>Trichinella</i> ESA	Suini infettati naturalmente (%)	Suini infettati sperimentalmente (%)	Suini da regioni endemiche per <i>Trichinella britovi</i> e negativi alla digestione artificiale (%)
131-137	5	76	20
122-127	55	94	15
105-106	90	94	4
90-94	70	53	6
88	20	18	16
64-72			40
59-63	100	100	32
48-55			38
47	65	41	25
42	35	47	18
41	-	41	23
38	20	41	30
35	20	47	25
32	-	53	12
24	5	53	10
21	70	53	45

Interpretazione dei risultati dei metodi indiretti: Western Blotting



Algoritmo per la diagnosi indiretta dell'infezione da *Trichinella spp*

