

ANISAKIASI	
1. Diagnosi clinica e definizioni di caso	
Agente eziologico	<i>Anisakis</i> spp.
Sospetto clinico	
Criteri clinici	<p>Forma acuta</p> <p><u>Forma esofagea</u> - Insorge poche ore dopo il pasto, provoca:</p> <ul style="list-style-type: none"> • disfagia • bruciore • reflusso gastro-esofageo <p><u>Forma gastrica</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • dolore all'epigastrio • nausea, vomito • forme orticarioidi diffuse <p><u>Forma intestinale</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • coliche • nausea, vomito, diarrea • manifestazioni infiammatorie • eosinofilia <p>Forma cronica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lesioni granulomatose o ascessuali • Difficoltà allo svuotamento gastrico • Occlusione intestinale • Versamento peritoneale • Coliti • Sangue occulto nelle feci <p>Forma extra gastro-intestinale/ectopica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Perforamento della parete gastro-intestinale • Dolori addominali diffusi <p>Manifestazioni allergiche</p> <p>Nel caso il soggetto abbia avuto un precedente contatto con il parassita:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Forma gastro-allergica • Reazione anafilattica
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	<p>Esposizione ad alimenti:</p> <p>Consumo di pesce di mare, calamari o gamberi crudi, poco cotti o trattati in modo inadeguato (congelati, salati, marinati, affumicati a freddo). Il parassita soccombe a temperature superiori a 60°C per oltre 10 minuti o a temperature di congelamento per 24 ore a -20° C.</p>
Caso possibile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.	

2.1 Conferma di laboratorio – CASO PROBABILE

Tipo di campione: Siero

Modalità di prelievo	<ul style="list-style-type: none"> • Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante • Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia
Modalità di trasporto e conservazione	<ul style="list-style-type: none"> • Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	<ul style="list-style-type: none"> • Saggi immunologici
Criteri di laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Positività dei saggi immunologici per la ricerca di IgE specifiche dirette contro i determinanti antigenici dell'<i>Anisakis</i>

2.2 Conferma di laboratorio – CASO CONFERMATO

Tipo di campione: Larva

Modalità di prelievo	<ul style="list-style-type: none"> • Prelievo del parassita effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi durante le procedure videoguidate
Modalità di trasporto e conservazione	<ul style="list-style-type: none"> • Trasportare in laboratorio e processare nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare in etanolo al 70%.
Tipo di esame	Identificazione della larva mediante: <ul style="list-style-type: none"> • osservazione microscopica • metodiche molecolari PCR/RFLP
Criteri di laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Identificazione del parassita mediante osservazione microscopica e identificazione dell'acido nucleico di <i>Anisakis</i> spp. con metodiche molecolari PCR/RFLP

Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.

Anisakiasi – Note tecniche

Saggi immunologici:

Ricerca di IgE totali e anticorpi specifici anti-*Anisakis* (la positività non indica necessariamente la presenza della malattia) con metodiche ELISA, RIA e immunofluorescenza.

Identificazione della larva

E' importante l'isolamento e il riconoscimento del parassita mediante visualizzazione microscopica effettuata su materiale biotico, endoscopico, reperti istologici, campioni di feci e vomito e proseguire con l'individuazione delle caratteristiche molecolari del parassita. La procedura si basa su tre fasi operative:

- esame visivo per la ricerca delle larve di parassiti
- allestimento dei preparati microscopici
- identificazione delle larve

L'osservazione microscopica permette di valutare alcuni elementi tassonomici delle larve isolate che consentono di differenziare il genere *Anisakis* da altri generi riscontrabili nei pesci marini.

Metodiche molecolari di PCR/RFLP:

La PCR/RFLP è una metodica si basa sull'analisi dei frammenti di restrizione ottenuti dopo l'amplificazione della regione genomica nucleare che comprende la subunità ribosomiale 5.8 S ed i due spaziatori ITS-1 e ITS-2. Questa metodica molecolare permette un utile approccio per l'identificazione di specie appartenenti al genere *Anisakis*, sia vicine che distanti dal punto di vista genetico, in quanto gli spaziatori ribosomiali mostrano alti livelli di mutazioni puntiformi interspecifiche in presenza di variazioni intraspecifiche molto basse.

Per l'estrazione del DNA si sfrutta la sua capacità di adsorbirsi a particelle di silice in presenza di sali caotropici come guanidina idrocloruro o guanidina isotiocianato.

L'amplificazione del DNA avviene mediante PCR e la successiva restrizione enzimatica viene effettuata con l'utilizzo di due enzimi di restrizione: HhaI e HinfI.

Successivamente i prodotti della digestione vengono rilevati mediante elettroforesi su gel d'agarosio e i profili di digestione ottenuti consentono di risalire alle nove specie appartenenti al genere *Anisakis*: *A.simplex s.s.*, *A.pegreffii*, *A.berlandi*, *A.typica*, *A.ziphidarium*, *A.nascettii*, *A.physeteris*, *A.brevispicultata*, *A.paggiae*.

[Versione 1.1]



DOWNLOAD DA WEB

