

**INTRODUZIONE DELLE INDAGINI MOLECOLARI NELLA DIAGNOSTICA PARASSITOLOGICA DI ROUTINE DI DIENTAMOEBA FRAGILIS**

L. Clemente<sup>1</sup>, M. Pasut<sup>1</sup>, F. Fontana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio analisi, A.A.S. n. 2 "Bassa Friulana-Isontina", Monfalcone

**INTRODUZIONE**

*Dientamoeba fragilis* è un protozoo a localizzazione intestinale e a diffusione cosmopolita. Il suo ciclo vitale e le modalità di trasmissione sono sempre stati controversi (trasmissione tramite uova di elminti e oro-fecale).

La prevalenza nel mondo varia da 1,4% a 19% (in Italia da 0,1% a 21,4%), ma questi dati, ottenuti con la microscopia, sono sottostimati a causa della "fragilità" del protozoo, il tempo di sopravvivenza se non conservato in adeguato fissativo, e la difficoltà di riconoscimento. I trofozoiti infatti sono estremamente eterogenei e possono passare del tutto inosservati o essere confusi con altri parassiti.

Lo scopo di questo lavoro è confrontare le performance delle tecniche tradizionali in uso nel laboratorio con quelle della nuova metodica, al fine di migliorare la diagnostica di routine.

**METODI**

Sono stati processati 100 campioni fecali di 85 pazienti pervenuti in contenitore SDS For Unifix Zinc PVA (MCC). Dopo concentrazione secondo Ritchie modificato, si è effettuata l'osservazione microscopica diretta con colorazione estemporanea con soluzione di Dobell (soluzione di Lugol diluita 1:5), l'allestimento di un vetrino colorato con Giemsa e uno con Ziehl-Neelsen modificata. Sono state allestite sedute di amplificazione genica mediante One step Real-time PCR Allplex™ Gastrointestinal Panel Assay (Seegene) per l'identificazione simultanea di: *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis* e *Cyclospora cayetanensis*.

**RISULTATI**

La ricerca di *E. histolytica*, *Cryptosporidium* spp. e *C. cayetanensis* sono risultate negative.

*G. lamblia* è stato ritrovato in un solo paziente, ed è stato evidenziato sia con la microscopia che con la PCR, nonostante il basso numero di cisti presenti (paziente pediatrico già in terapia).

*B. hominis* è stato rinvenuto in 6 campioni con le tecniche tradizionali e in 8 con la biologia molecolare.

I 9 riscontri positivi per *D. fragilis* messi in evidenza con le tecniche molecolari non sono stati invece visti al microscopio se non in un caso, paziente in cui la PCR segnalava un'alta carica.

Le co-infezioni con *B. hominis* hanno riguardato il paziente con *G. lamblia* e 6 dei pazienti con *D. fragilis*.

**CONCLUSIONI**

Nonostante le indicazioni, sono stati invitati al laboratorio 3 campioni dello stesso paziente solo in 5 casi. Anche nella nostra ridotta casistica emerge quindi la scarsa sensibilità dell'esame microscopico, operatore-dipendente e time consuming.

La nuova metodica, al contrario, oltre a consentire la ricerca simultanea di patogeni diversi e infezioni multiple, presenta elevata sensibilità e specificità, positività anche a bassi livelli di infezione e non dipendente dal life-cycle del parassita. Consente inoltre di bypassare/ridurre il numero di test antigenici, sierologici e colorazioni permanenti, diminuisce il numero di campioni da analizzare, aumenta la sensibilità e la specificità della ricerca e permette una notevole diminuzione del TAT.