



É il suino un serbatoio naturale di *Dientamoeba fragilis* causa della dientamoebiasi umana?

Is the pig a natural reservoir of *Dientamoeba fragilis* the etiological agent of human dientamoebiasis?

Manuali E., Crotti D., Crotti S., Sensi M., Stazzoni G., Grelloni V.

Abstract. *Dientamoeba fragilis* is a worldwide distributed protozoan parasite pathogenic for humans. A wide spectrum of gastrointestinal symptoms has been described in infected patients: diarrhoea, flatulence ("Irritable Bowel Disease"), colic and weight loss. However, asymptomatic infection has been also described. *D. fragilis* is still not well known; no cystic stage has been demonstrated and only the trophozoites are detected in stool samples. The presence of *D. fragilis* in swine faeces has been investigated to evaluate the possible role of pigs as reservoir of the parasite. For identifying this typically binucleate protozoan, is necessary to perform permanent stain (eg. Giemsa) on fresh stool specimens. This protozoan is extremely difficult to cultivate but molecular techniques such as the Polymerase Chain Reaction offer promise as a means of diagnosing infection. The presence of *Dientamoeba fragilis* in swine faeces has been reported for the first time in Central Italy by examination of Giemsa-stained stool samples. A total of 263 faecal samples were collected from pigs housed in farrow-to-finish herds. Simultaneously, the study was undertaken on human faeces to evaluate the presence of *D. fragilis* in pig breeders. The positivity was found in 151/263 (57.4%) swine faeces and in 5/12 (41.7%) human stool samples. The relationship if any between *D. fragilis* infection in pig and human dientamoebiasis remains to be clarified.

Riassunto. *Dientamoeba fragilis* è un protozoo flagellato causa di frequenti episodi di infezioni intestinali nella specie umana. Scarsa è la conoscenza relativa a questo parassita soprattutto per ciò che concerne la catena epidemiologica. Pazienti infettati da questo protozoo manifestano un'ampia varietà di sintomi che vanno da una sindrome diarroica acuta a coliche, perdita di peso e flatulenza (Sindrome del "colon irritabile"), ma vi possono essere anche forme asintomatiche. La diagnosi definitiva può essere effettuata mediante colorazioni permanenti (ad esempio colorazione Giemsa). Promettenti appaiono le metodiche di biologia molecolare utili anche per tipizzare il parassita. Nel suino, la presenza di *D. fragilis* è stata descritta per la prima volta in Italia Centrale, esaminando campioni fecali colorati con Giemsa. Da questa indagine è emerso un interessante dato epidemiologico che mostra una elevata presenza di *D. fragilis* nel suino (151/263 pari al 57.4%), evidenziando una correlazione statisticamente significativa in rapporto all'età dei soggetti. Si è ritenuto pertanto opportuno analizzare i campioni fecali di soggetti operanti all'interno degli allevamenti oggetto di studio, riscontrando il 41.7% (5/12) di positività. In una dinamica epidemiologica, stando alle conoscenze attuali, il potenziale ruolo zoonosico del suino aprirebbe una importante finestra su tale problematica. Un ulteriore e non meno suggestivo aspetto potrebbe essere anche quello della verifica o meno di genotipi condivisi dal suino, e/o altri animali, e dall'uomo.

Introduzione

Dientamoeba fragilis è attualmente una delle cause più frequenti di infezione intestinale umana sostenuta da agenti parassitari, ed in particolare da protozoi, specie nei Paesi cosiddetti tecnologicamente sviluppati, Italia compresa (1,2). Nell'uomo tale flagellato atipico è responsabile non solo di infezione intestinale spesso correlata alla "sindrome del colon irritabile" (Intestinal Bowel Syndrome o IBS) che può esprimersi con manifestazioni paucisintomatiche aspecifiche (tra cui anche una eosinofilia periferica con conseguente prurito generalizzato), ma può essere causa di disturbi intestinali più evidenti che si manifestano con diarrea acuta e/o protratta (3,4,5). Inoltre, *D. fragilis* può altresì albergare l'intestino umano senza causare danno apparente.

Data la estrema fragilità del parassita al di fuori dell'ospite abituale, la sua individuazione necessita di un approccio diagnostico tempestivo.

Non si conosce al momento altro ospite al di fuori dell'uomo, sebbene sia stato ipotizzato di poter transitoriamente reperire *D. fragilis* anche in altri mammiferi, in particolare nel suino (6). Recentemente la sua presenza è stata dimostrata in campioni di feci di gorilla che mostrava sintomi IBD-like (7). La delicata e fragile vitalità di questo protozoo non spiega altresì la via di trasmissione da uomo a uomo e, nell'eventualità possa trattarsi di una zoonosi, da animale a uomo e viceversa. Infatti, oltre la ipotizzabile ma difficilmente spiegabile via idroalimentare, si è anche osservato che può trasmettersi da soggetto a soggetto indovata all'interno di uova di elminti, non soltanto strettamente umani, quale *Enterobius vermicularis* (8,9), ma anche agenti di zoonosi o comunque geelminti, quali ascaridi e tricocefali.

Da tali premesse è stato impostato uno studio per verificare il ruolo del suino in tale protozoo e, in questa segnalazione, riportiamo le osservazioni al riguardo.

Materiali e metodi

Sono stati esaminati 263 campioni fecali di suini provenienti da allevamenti a ciclo aperto e a ciclo chiuso della provincia di Perugia suddivisi per categorie di età: 89 magroncelli, 82 individui all'ingrasso e 92 scrofe (riproduttori). Tutti i campioni, trasportati in laboratorio entro due ore dal prelievo, sono stati analizzati utilizzando la colorazione permanente di Giemsa al 10% e la lettura è stata eseguita al microscopio ottico (obiettivo 100x).

Sono stati analizzati in modo analogo 14 campioni fecali di soggetti operanti all'interno degli allevamenti oggetto di studio, onde verificare un'eventuale inaspettata infezione da *D. fragilis*.

Ogni campione è stato inoltre sottoposto ad esame parassitologico standard seguendo i comuni protocolli diagnostici, e una aliquota è stata congelata a -80°C per future indagini biomolecolari sia di conferma diagnostica che di tipizzazione epidemiologica.

Risultati

D. fragilis è stata osservata in 151 campioni suini, pari al 57.4% dei soggetti analizzati. Nella Tabella 1 sono riportate le positività non soltanto per *D. fragilis*, scopo di tale indagine, ma anche quelle riscontrate per tutti i protozoi osservati e presuntivamente identificati. Nei campioni umani *D. fragilis* è stata riscontrata in 4 soggetti, pari al 28.6 %, come riportato in Tabella 2.

Spesso sono stati reperiti, come si evince dalla tabella, altri protozoi, in particolare *Iodamoeba buetschlii* e *Blastocystis hominis* (protozoi stimati non patogeni), sia in associazione tra loro sia in associazione varia con *D. fragilis*. La morfologia era variabile e variabili erano le dimensioni: da elementi molto piccoli (5-6 μm) ad elementi decisamente più grandi (anche oltre 20 μm). *D. fragilis* si presentava come trofozoite con citoplasma colorato in azzurro (da grigio-azzurro chiaro ad azzurro intenso) e nucleo in rosso scuro-violetto (Figura 1); spesso sono state osservate forme binucleate, morfologia di più frequente di riferimento, seppure in alcune circostanze sono state osservate forme mono-nucleate, ma comunque bene identificabili dalla morfologia, dal tipo di colorazione e soprattutto dal nucleo, mai compatto ma sovente frammentato.

Tabella 1. Risultati complessivi nei suini: percentuali di positività				
Protozoo	Percentuali di positività			
	su tot. camp.	Magroncelli	Ingrasso	Scrofe
<i>D. fragilis</i>	57.4%	70.4%	60.3%	40.2%
<i>Iodamoeba buetschlii</i>	61.2%	37.7%	63%	83.7%
<i>Blastocystis hominis</i>	32.3%	46.9%	38.9%	11.9%
<i>Endolimax nana</i>	39.9%	26.5%	50.0%	46.7%
<i>Enteromonas suis</i>	18.7%	21.4%	30.5%	7.7%
<i>Chillomastix mesnili</i>	8.7%	10.2%	13.9%	3.3%
<i>Entamoeba polecki</i>	3.8%	5.1%	4.2%	2.2%
<i>Giardia spp.</i>	1.1%	1	-	2.2%
<i>Entamoeba hartmanni</i>	0.4%	-	1.4%	-

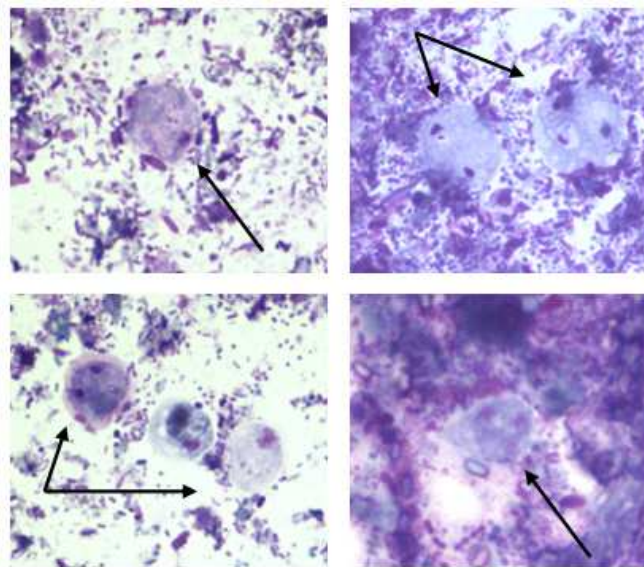


Fig. 1a - *D. fragilis* in campioni di feci suine

Tabella 2. Risultati nei soggetti umani a contatto con i suini			
campioni fecali umani di soggetti a contatto con allevamenti suini	n.	Positivi per <i>D. fragilis</i>	Positivi per altri protozoi
Soggetti complessivi (allevatori/mogli/figli)	14	4 (28.6%)	6 (42.9%)
Soggetti a contatto stretto/ continuo con gli animali (allevatori)	11	4 (36.4%)	5 (45.5%)

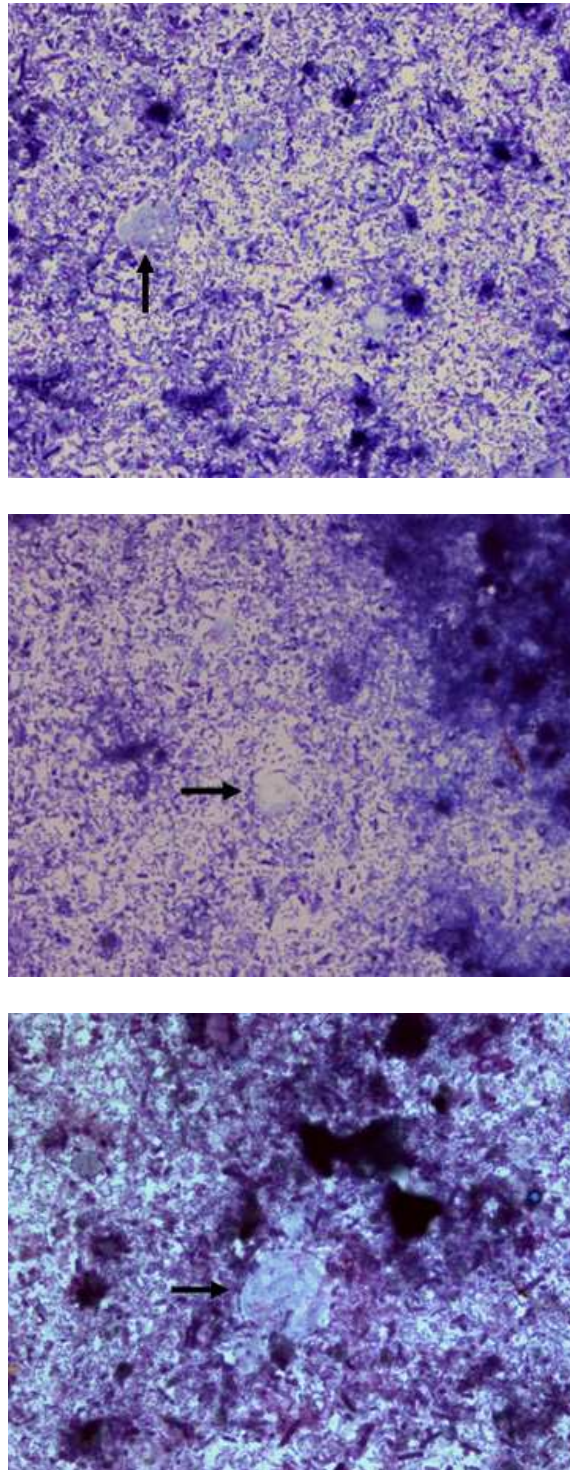


Fig. 1b - *D. fragilis* in campioni di feci umane

Conclusioni

D. fragilis è presente nelle popolazione suina con frequenze complessivamente elevate: oltre la metà dei campioni è risultata positiva per tale flagellato atipico. Esso è più spesso binucleato, seppure non di rado sia mononucleato e con dimensioni variabili, da 5-6 μm a oltre 20 μm . La morfologia si è mostrata varia: da trofozoiti tondeggianti a bizzarre forme ameboidi con pseudopodi più o meno evidenti. La intensa positività per *D. fragilis* nei campioni suini abbinata alla frequenza, sia pur relativa, della stessa in campioni fecali di soggetti umani a stretto e continuo contatto con i suini, può essere elemento importante per ipotizzare che tale mammifero possa potenzialmente o

realmente essere un serbatoio, forse naturale, di tale protozoo. La presenza relativamente elevata anche di *B. hominis* e di *I. buetschlii* (quest'ultima la cosiddetta "ameba del maiale"), sia nei campioni suini che in quelli umani, avvalorerebbe queste valutazioni e potrebbe essere espressione di una certa facilità di trasmissione dall'animale all'uomo attraverso vari meccanismi, non ultimo la possibile aerosolizzazione dei materiali fecali durante le pulizie e lavaggi degli ambienti con conseguente successiva inalazione ed ingestione da parte degli operatori addetti agli allevamenti.

Bibliografia

- Crotti D., D'Annibale ML., Fonzo G., Lalle M., Cacciò SM., Pozio E. (2005) "*Dientamoeba fragilis* is more prevalent than *Giardia duodenalis* in children and adults attending a day care centre in Central Italy". *Parasite* 12: 165-170.
- Crotti D. Sensi M., Crotti S., Grelloni V., Manuali E. et al. (2007) "*Dientamoeba fragilis* in swine population: a preliminary investigation" *Vet. Parasitol.* 145: 349-351.
- Girginkardesler N. Kurt O, Kilimcioğlu AA, Ok UZ. (2008) "Transmission of *Dientamoeba fragilis*: evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*" *Parasitol. Int. Mar*; 57(1):72-5.
- Lankester F., Kiyang JA, Bailey W, Unwin S. (2010) "*Dientamoeba fragilis*: initial evidence of pathogenicity in the western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*)" *J. Zoo and Wildl Med.* 41(2): 350-352.
- Ockert G., Schmidt T. (1976) " On the epidemiology of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell 1918" 4th communication: evidence of *Dientamoeba fragilis* in *Enterobius* eggs using isoelectric point determination" *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 20:76-81.
- Stark D., van Hal S, Marriott D, Ellis J, Harkness J. (2007) "Irritable bowel syndrome: a review on the role of intestinal protozoa and the importance of their detection and diagnosis". *Int. J. Parasitol.* 37:11-20.
- Stark D., Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. (2010) "A review of the clinical presentation of *Dientamoebiasis*". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 82(4): 614-619.
- Windsor J.J., Rafay AM, Shenoy AK, Johnson EH. (1998) "Incidence of *Dientamoeba fragilis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis". *Br. J. Biomed. Sc.* 55: 172-175.
- Yakoob J., Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, Khan R. (2010) "*Blastocystis hominis* and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria" *Parasitol. Res.* DOI 10.1007/s00436-010-1918-7.

Affiliazioni:

Manuali E. (a), Crotti D. (b), Crotti S. (a), Sensi M. (a), Stazzoni G. (a), Grelloni V. (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche

(b) Libero Professionista in Parassitologia



É il suino un serbatoio naturale di *Dientamoeba fragilis* causa della dientamoebiasi umana? by [Manuali E., et al.](#) is licensed under a [Creative Commons Attribution 2.5 Italia License](#).
 Permissions beyond the scope of this license may be available at <http://indice.spvet.it/adv.html>.

	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy / http://www.izsum.it
Centralino Istituto	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047
Biblioteca	Tel. / Fax +39 075 343217 e-mail: bie@izsum.it
Rivista SPVet.it ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: editoria@izsum.it http://spvet.it / http://indice.spvet.it
U. R. P.	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: URP@izsum.it