

## Immunofluorescenza diretta come metodo diagnostico per la rilevazione di *Pneumocystis jirovecii* nelle infezioni polmonari

**TRIMARCO SIMONA** <sup>1,2</sup>, **SCHISANO VALERIO** <sup>1,2</sup>, **FRALLICCIARDI FRANCESCO** <sup>1,2</sup>, **NATALE GIUSY** <sup>1,2</sup>, **D'AURIA ROSA** <sup>1,2</sup>, **STABILE MARIA** <sup>1,2</sup>, **CICCARELLI GIUSY** <sup>1,2</sup>, **DEL MONDO DANIELA** <sup>1,2</sup>, **DELLO RUSSO CARMELA** <sup>1,2</sup>, **MAIESE MARIA CARMELA** <sup>1,2</sup>, **FRASCADORE FABIANA** <sup>1,2</sup>, **VITIELLO MARIATERESA** <sup>1,2</sup>, **COLICCHIO ROBERTA** <sup>1,2</sup>; **SALVATORE PAOLA** <sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; <sup>2</sup>Dipartimento di Attività Integrata di Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, U.O.C Microbiologia Clinica, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli; <sup>3</sup>CEINGE, Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore s.c.a.r.l., Napoli.

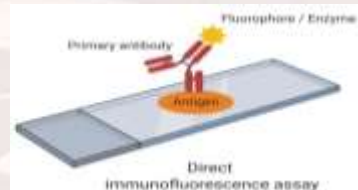
### Introduzione

*Pneumocystis jirovecii* è l'agente responsabile della polmonite da *Pneumocystis* (PCP), una delle più frequenti e gravi infezioni opportunistiche per i soggetti immunocompromessi. Nella PCP non trattata, il crescente coinvolgimento polmonare porta al decesso. Inizialmente classificato come protozoo, è stato riclassificato come fungo unicellulare sulla base di una maggiore omologia della sua sequenza di DNA con gli organismi micotici.



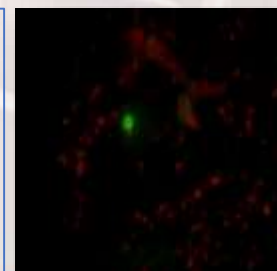
### Materiali e metodi

Viene utilizzato un test di immunofluorescenza diretta, che prevede una prima fase di concentrazione del campione per aumentare le probabilità di evidenziare cisti di PJ. Il sedimento viene distribuito sul corrispondente pozzetto del vetrino e, dopo averlo fatto asciugare all'aria, viene fissato il materiale con Acetone. Il reagente di ricerca contiene anticorpi monoclonali, marcati con fluoresceina, diretti contro antigeni della parete cellulare e della matrice citoplasmatica delle cisti, dei trofozoiti e degli sporozoiti di PJ. Gli anticorpi monoclonali si legano agli antigeni di PJ eventualmente presenti. Il vetrino viene lavato per eliminare l'eccesso di anticorpo-coniugato, montato con il fluido di montaggio ed esaminato al microscopio a fluorescenza.



### Risultati

La fluorescenza verde mela e la tipica morfologia di *PJP* sono indicative di una positività. Anche gli sporozoiti, i trofozoiti e la matrice extracellulare dovrebbero risultare fluorescenti, mentre il resto del vetrino ed il materiale di fondo vengono colorati in rosso-arancio dal colorante di contrasto. La tecnica ha una sensibilità del 96% e una specificità del 95%.



### Conclusioni

L'IFD è una tecnica diagnostica utile ed efficace per la rilevazione di *Pneumocystis jirovecii* nelle infezioni polmonari, ma la sua sensibilità può dipendere dalla qualità del campione e dalla carica micotica presente. Spesso viene utilizzata in combinazione con altri metodi diagnostici, come la PCR, per aumentare la sensibilità complessiva della diagnosi. Tuttavia, gli anticorpi specifici diretti verso *Pneumocystis* consentono una rilevazione mirata, riducendo la possibilità di falsi positivi, in grado di fornire risultati rapidi, rispetto ad altri metodi diagnostici.