

057

INFLUENZA DELL'EQUILIBRIO REDOX SULLE INFEZIONI DA *CANDIDA ALBICANS*Grosso S.¹; Lucini V.¹; Pannacci M.¹; Malandrini S.²; Scaglione F.¹¹Università degli studi di Milano, Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia Medica, Via Vanvitelli 32, 20129 Milano.²Laboratorio di Microbiologia, Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico, 20121 Milano.

Introduzione. Lo stato ossidoriduttivo dei macrofagi, sembrerebbe implicato nella regolazione del killing intracellulare di *Candida albicans* e dell'attivazione di geni pro-infiammatori.

Nel corso di un'infezione, gli antiossidanti, capaci in condizioni fisiologiche di contrastare efficacemente l'azione dei ROS, potrebbero però essere insufficienti.

Nel nostro lavoro, abbiamo esaminato, durante un'infezione da *C. albicans*, il ruolo svolto dal Glutatione (GSH) e l'eventuale correlazione tra l'antiossidante e la produzione di ossido nitrico (NO).

Metodi. Macrofagi murini J774A.1 infettati con *C. albicans*, vengono mantenuti per 60 min a 37°C in terreno contenente 5 mM di N-Acetil Cisteina (NAC, precursore del GSH), o 500 mM di Butionina-sulfossimina (BSO inibitore della sintesi di Glutatione), o 0.1 mM di H₂O₂. Le *Candide* vitali sono valutate, dopo incubazione per 48 ore a 37°C, mediante diluizione seriale su piastre di Sabouraud agar mentre la concentrazione di GSH è determinata spettrofotometricamente. Infine, l'espressione di iNOS (NO-sintasi inducibile), responsabile della produzione di NO, è studiata mediante Real Time PCR nei macrofagi infetti.

Risultati. J774A.1 trattate con H₂O₂ o BSO hanno evidenziato un aumento del numero di *Candide* vitali e una diminuzione della concentrazione di GSH (P<0.001). NAC ha determinato, invece, un'inibizione della crescita fungina e un aumento della concentrazione di GSH (P<0.001).

L'associazione NAC con H₂O₂ e BSO ha mostrato un aumentato killing e una maggior concentrazione di GSH. Il trattamento con H₂O₂ e con BSO ha evidenziato un'aumentata espressione di iNOS mentre NAC ne ha indotto una minore sintesi rispetto alle cellule non trattate (P<0.001). L'associazione ha portato a una diminuita espressione di iNOS.

Conclusioni. I risultati ottenuti indicano che il GSH potrebbe svolgere un ruolo importante nel killing intracellulare di *C. albicans* e nella regolazione dei livelli di iNOS in macrofagi murini.

La modulazione di GSH potrebbe, pertanto, avere importanti implicazioni cliniche nel controllo di infezioni fungine opportunistiche.

058

RESISTENZA AGLI ANTIFUNGINI IN STIPITI DI *CANDIDA SPP.* ISOLATI DA PAZIENTI ADULTI E PEDIATRICIMarchese A.¹, Gualco L.¹, Bandettini R.², Peri C.³, Cavallero A.³, Ossi M.C.³, Schito G.C.¹¹ Di.S.C.A.T. – Sezione di Microbiologia, Università di Genova² Laboratorio di Microbiologia Clinica, Istituto Giannina Gaslini, Genova³ Laboratorio di Microbiologia Clinica, Ospedale San Raffaele, Milano

Introduzione. L'incidenza di infezioni causate da miceti è aumentata drammaticamente nelle ultime due decadi, in particolare tra i pazienti immunocompromessi. Scopo di questo studio è stato determinare le percentuali di resistenza agli antifungini in stipiti di *Candida spp.* isolati recentemente da campioni clinici provenienti da pazienti adulti e pediatrici.

Metodi. Sono stati studiati 618 stipiti di *Candida spp.* (410 *C. albicans*, 108 *C. glabrata*, 46 *C. parapsilosis*, 43 *C. tropicalis* e 11 *C. krusei*) isolati nel periodo 2002-2005. La sensibilità a fluconazolo, itraconazolo, flucitosina e amfotericina B è stata determinata mediante la metodica della diluizione in brodo, mentre per voriconazolo è stato utilizzato il saggio di diffusione da disco (CLSI/NCCLS).

Risultati. Nessuna differenza significativa è stata osservata nelle percentuali di stipiti resistenti in dipendenza dell'età del paziente, con l'eccezione di *C. albicans* e itraconazolo (p<0.001). Amfotericina B si è dimostrato il più potente antimicotico nei confronti di tutte le specie studiate. Solo lo 0.7% di *C. albicans* ed il 3.7% di *C. glabrata* è risultato refrattario al fluconazolo. Le più elevate percentuali di resistenza in *C. albicans* a fluconazolo, itraconazolo e flucitosina sono state osservate tra gli stipiti isolati da urine e tessuti molli (1.7, 1.7, 0.9 e 7.1, 5.0, 10.0 rispettivamente). Tutti i microrganismi, inclusi quelli resistenti a fluconazolo ed itraconazolo, sono risultati sensibili a voriconazolo.

Conclusioni. Non sono state osservate differenze significative per la sensibilità agli antifungini negli stipiti isolati sia da soggetti adulti che pediatrici. Globalmente l'attività degli antimicotici saggiati nelle diverse specie di *Candida* risulta ancora soddisfacente.

059

SENSIBILITÀ AGLI ANTIFUNGINI DI CEPPI DI *C. ALBICANS* ISOLATI DA VULVOVAGINITI RECIDIVANTI (RVVC).

Paccagnella S.*, Bertoloni G., Rassa M.°, Scarin M.*

*Microbiologia e Virologia Azienda Ospedaliera di Padova, Via Giustiniani 2, 35127 Padova;

°Microbiologia Ospedale S. Bortolo di Vicenza, Via Rodolfi 37, 36100 Vicenza;

Dipartimento di Istologia e Microbiologia e Biotecnologie Mediche, Via A. Gabelli 63, 35121 Padova.

Introduzione. *C. albicans* può essere responsabile di vulvovaginiti in circa tre donne su quattro, in età fertile, in particolare nel corso di gravidanza o nel diabete. Nel 5% dei casi, nonostante il trattamento con antifungini, si verificano alme-

no 4 episodi nell'arco di un anno che vengono definiti come vulvovaginiti recidivanti (RVVC).

Gli antifungini impiegati, quali azolici e polienici, esplicano la loro azione inibendo la sintesi o interagendo direttamente con l'ergosterolo, principale componente della membrana cellulare dei funghi.

In questo studio è stata determinata l'attività di: Amfotericina B, Fluconazolo, Itraconazolo, Ketoconazolo, 5-Fluorocitosina e Voriconazolo, in 138 ceppi di *C. albicans* isolati nell'arco di un anno da pazienti in età fertile con RVVC.

Materiali e metodi. Per la determinazione della MIC è stato utilizzato un metodo microdiluzione in piastra (Sensititre Yeastone) e come ceppi di riferimento *C. krusei* ATCC 6258 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. La lettura dei risultati dopo incubazione a 35° per 24 h e 48h. I risultati sono stati interpretati sulla base delle linee guida NCCLS (A27M3 2003).

Risultati. Un solo ceppo è risultato resistente all'Itraconazolo, il 5.07% sensibile-dose-dipendente nei confronti di almeno un farmaco. Il 21,7% è sensibile-dose-dipendente nei confronti di Fluconazolo e 5-Fluorocitosina e il 4.34% nei confronti dell'Itraconazolo. La MIC₅₀ e la MIC₉₀ hanno confermato l'ampia sensibilità dei ceppi di isolamento genitale.

Conclusioni. Possiamo quindi concludere che: i) i valori di MIC ottenuti non si discostano dai dati di letteratura; ii) la vulvovaginite recidivante non è associata ad aumento della resistenza agli antifungini, nonostante il 30% delle pazienti, all'anamnesi, dichiarava di aver effettuato una terapia con azoli. Le recidive sembrano essere imputabili ad altri fattori, fra cui condizioni legati al paziente: dismicrobismo, variazioni di pH, ormonali, immunitarie o ad una corretta terapia.

060

BAMBINO CON TINEA CAPITIS DA TRICHO-PHYTON SOUDANENSE: CASE REPORT

Passera M.¹, Arosio M.¹, Di Landro A.², Grossi A.³, Bergamaschi S.³, Bargiggia G.¹, Raglio A.¹, Vailati F.¹, Grigis A.¹, Passerini Tosi C.¹

¹USC Microbiologia e Virologia,

²USC Dermatologia,

A.O. Ospedali Riuniti di Bergamo, Largo Barozzi 1, 24128 Bergamo

³Laboratorio Analisi, A.O. Treviglio e Caravaggio.

Introduzione. Il *Trichophyton soudanense* è un dermatofita antropofilo comune in Africa ma di raro isolamento nei paesi occidentali, correlato ai fenomeni immigratori. Il contagio di solito interumano interessa soprattutto i bambini, determinando abitualmente Tinea capitis piuttosto che Tinea corporis.

Case Report. Descriviamo un caso autoctono di un bambino nigeriano di 7 aa., nato e vissuto in Italia con familiari che negavano viaggi recenti nel loro paese d'origine. Giungeva alla nostra osservazione per la comparsa di chiazze di alopecia multiple del capillizio, ad estensione rapida, insorte da 20 giorni, asintomatiche, di varie dimensioni, alcune isolate ma la maggior parte confluenti, con capello tronco ad alcuni mm dall'ostio. Non erano presenti segni di flogosi. L'esame microscopico a fresco evidenziava la pre-

senza di ife multiple lungo il fusto del pelo e spore raggruppate, che facevano porre diagnosi di tinea capitis. L'esame culturale era positivo per *Trichophyton soudanense*. La terapia con Griseofulvina per os e Amorolfina come topico ha portato alla regressione completa del quadro dopo 75gg. L'esame clinico della famiglia non ha evidenziato manifestazioni sospette nei genitori, né nella sorellina di 7 mesi mentre nella sorella di 18 anni si sono osservate delle aree squamose della regione frontale, non alopeciche, dalle quali si è eseguito un prelievo per esame culturale, che è in corso.

Metodi. Colonie piatte, a lenta crescita (10-15 gg), sfrangiate, color albicocca, finemente vellutate tendenti al cotonoso ed al giallo, verso della colonia dal giallo al rosso bruno; *reflexive hiphae*, frammentazione in artroconidi delle ife, macroconidi assenti, microconidi a goccia identificano per *T.soudanense*.

L'identificazione veniva confermata al sequenziamento della regione D2 della subunità LSU ribosomiale (MicroSeq D2, Applied Biosystems).

Conclusioni. Negli ultimi anni si osserva un incremento delle segnalazioni di isolamento in Italia di *T. soudanense*, ceppo "tipicamente" africano, da importazione. Il nostro caso non sembrerebbe correlato al fenomeno migratorio anche se la Letteratura riporta l'esistenza di portatori asintomatici di *T. soudanense* al capillizio.

060A

COMPARAZIONE DELLA SENSIBILITÀ DI CANDIDA ALBICANS NEI SAGGI MIC E IN GEL DI COLLAGENE

Cagnacci S.¹, Anatali L.¹, Palenzona A.¹, Marchese A.¹, Debbia E.A.¹, Corvò R.², Rossi L.¹.

¹DISCAT sez. Microbiologia, Università di Genova.

²Centro di Radioterapia, Università di Genova.

Introduzione - La grande rilevanza clinica delle micosi ha stimolato lo sviluppo di nuovi tests per valutare l'efficacia agli antimicotici. A questo scopo stiamo lavorando alla definizione di un modello di crescita di *C. albicans* in gel di collagene. Questo supporto tridimensionale favorisce le diverse transizioni morfologiche degli organismi dimorfici come la Candida. Inoltre, offre l'opportunità di valutare una serie di parametri quantitativi e morfologici importanti per la definizione dei saggi di sensibilità agli antimicotici.

Metodi - Il modello base è la crescita cellulare in gel di collagene tipo I. È stato utilizzato un ceppo di *Candida albicans* isolato da un paziente immunocompromesso, sensibile all'Amfotericina B (AmB, MIC 0.25 µg/ml) e resistente al Ketoconazolo (Kc, MIC > 2 µg/ml). Le Candide sono state inserite nel collagene e trattate con varie dosi di farmaco. La sopravvivenza è stata valutata con la conta delle CFU.

Risultati

- 1) Nel gel di collagene le Candide sono cresciute come organismi sessili esprimendo le diverse morfologie filamentose tipicamente presenti nei biofilm;
- 2) Migrando sulla superficie plastica le cellule sono diventate planktoniche proliferando come forme yeast;
- 3) Kc ha inibito la crescita delle Candide sessili (p<0.0001 rispetto al controllo), in particolare bloccando l'espressione delle forme filamentose;
- 4) AmB non sembra interferire con le forme sessili in quanto il numero di Candide sopravvissute era simile nel trat-