

Vittorio Ivagnes¹, Giulia Menchinelli², Elena De Carolis², Riccardo Torelli², Desy De Lorenzis¹, Cinzia Recine¹, Maurizio Sanguinetti¹, Brunella Posteraro¹

¹ Dipartimento di Scienze Biotecnologiche di Base, Cliniche Intensivologiche e Perioperatorie, Università Cattolica del Sacro Cuore - Rome (Italy)

² Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Infettivologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS - Rome (Italy)

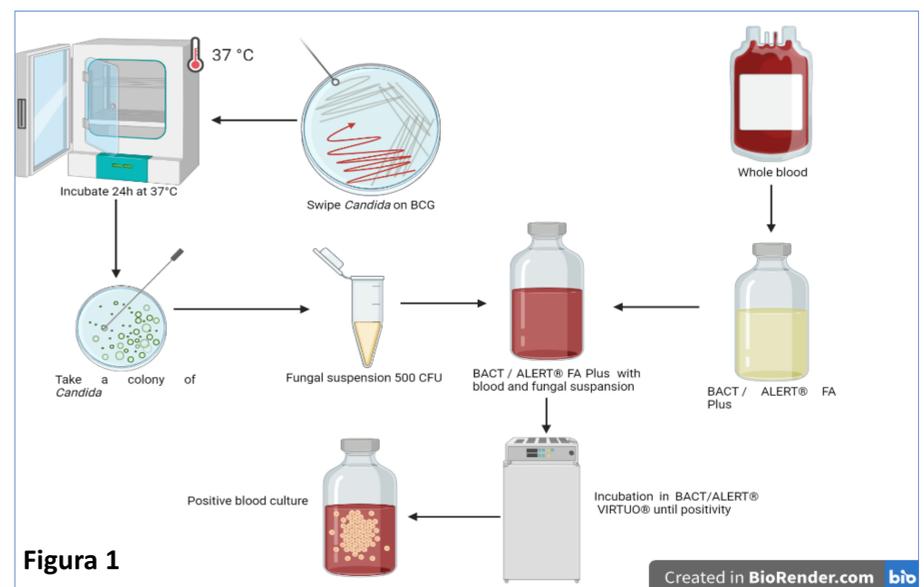
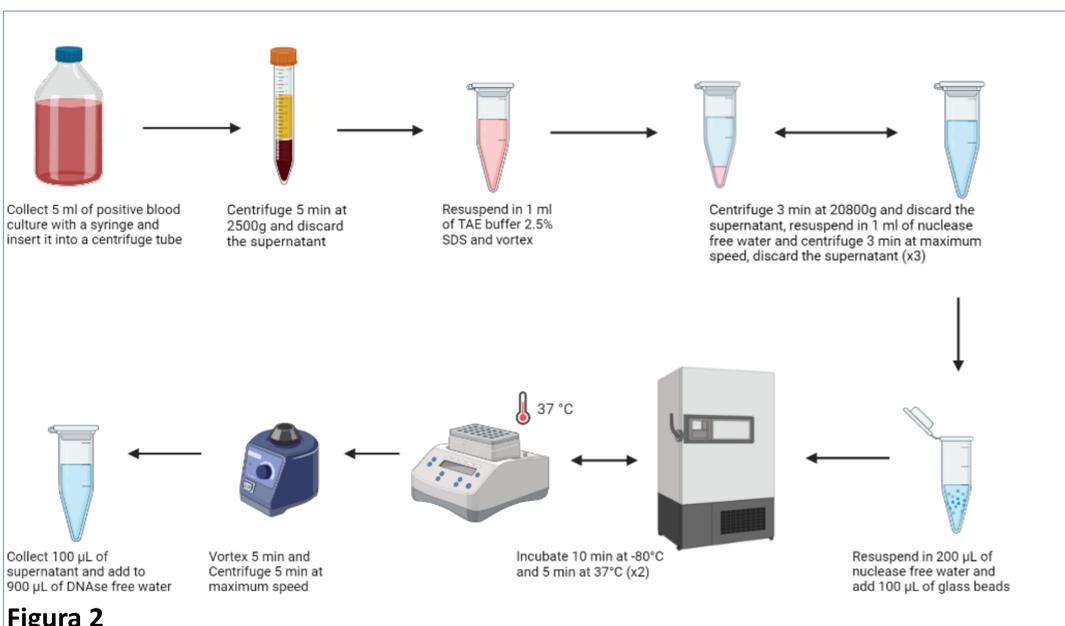
INTRODUZIONE

Candida è il quarto microrganismo causa di infezione del torrente circolatorio negli Stati Uniti e uno dei dieci microrganismi causa di infezione del torrente circolatorio in Europa. La diagnosi di candidemia si basa sull'emocoltura, ed è necessario eseguire una subcoltura prima di potere identificare il microrganismo infettante. Molecular Mouse (Alifax S.r.l.) è una nuova piattaforma basata su «real-time» PCR che consente di eseguire l'identificazione microbica direttamente su un chip.

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di utilizzare il chip Yeast Blood (YBL), previo protocollo «home-made» di estrazione del DNA fungino, per l'identificazione di specie di *Candida* clinicamente rilevanti da flaconi per emocoltura simulati positivi.

MATERIALI E METODI

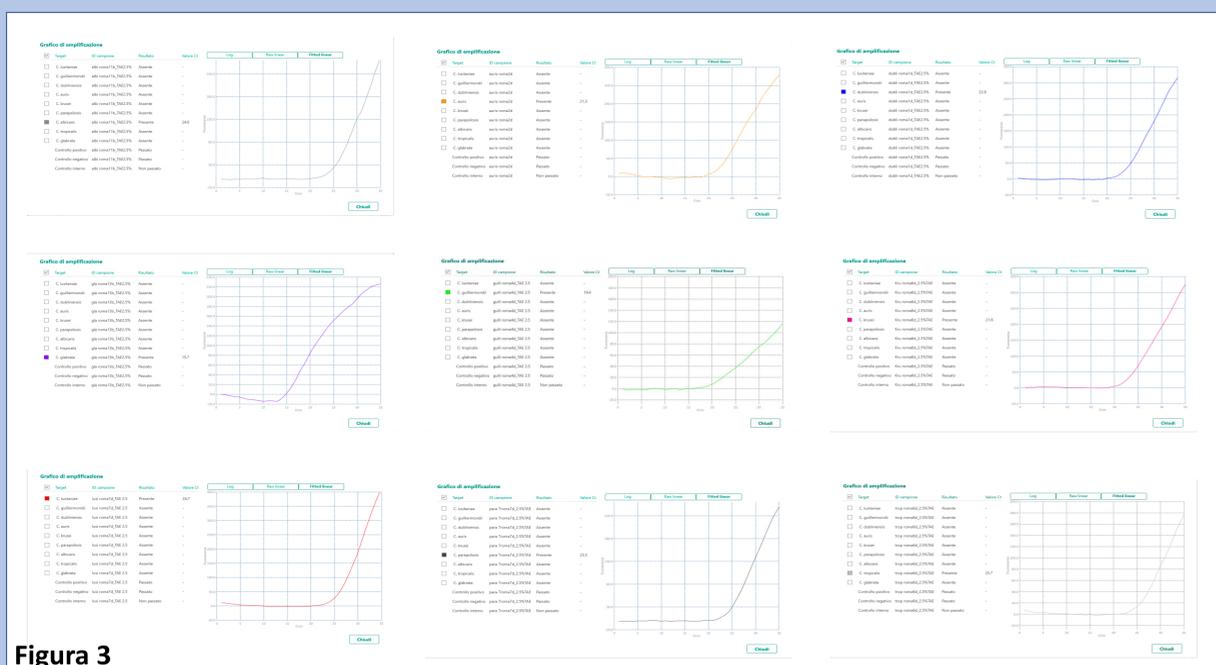
Le emocolture simulate sono state preparate, seguendo il protocollo riportato in **Figura 1**, utilizzando 63 ceppi di *Candida* ben caratterizzati: *C. albicans* (n=7), *C. glabrata* (n=7), *C. parapsilosis* (n=7), *C. tropicalis* (n=7), *C. krusei* (n=7), *C. auris* (n=7), *C. guilliermondii* (n=7), *C. lusitaniae* (n=7) e *C. dubliniensis* (n=7).



Le emocolture simulate, dopo essere state segnalate positive per la crescita microbica, sono state processate seguendo il protocollo messo a punto per l'estrazione del DNA fungino come descritto in **Figura 2**, e sono state saggiate utilizzando il chip YBL integrato nello strumento Molecular Mouse.

RISULTATI

Il saggio molecolare (chip YBL insieme con il protocollo «home-made» di estrazione del DNA fungino) è stato in grado di identificare correttamente 62 (98.4%) di 63 ceppi di *Candida* nelle emocolture simulate. L'unico ceppo non identificato appartiene alla specie *C. lusitaniae*.



Complessivamente, il valore medio (\pm deviazione standard) del ciclo soglia (Ct) di PCR è stato 22.15 (\pm 3.05). Nello specifico, i valori medi di Ct sono stati 16.16 (\pm 1.15) per *C. glabrata*, 18.66 (\pm 2.00) per *C. guilliermondii*, 22.50 (\pm 1.41) per *C. auris*, 22.61 (\pm 0.77) per *C. krusei*, 23.01 (\pm 1.13) per *C. parapsilosis*, 23.44 (\pm 0.80) per *C. albicans*, 24.07 (\pm 0.49) per *C. lusitaniae*, 24.29 (\pm 2.46) per *C. dubliniensis* e 24.90 (\pm 0.64) per *C. tropicalis*. Questi risultati correlano con le curve di amplificazione sigmoidali o esponenziali mostrate in **Figura 3**.

DISCUSSIONE

Lo sviluppo e l'adozione di nuove piattaforme di identificazione rapida è di cruciale importanza nel laboratorio di microbiologia clinica. I risultati ottenuti mostrano che il saggio YBL, combinato con un semplice protocollo di estrazione del DNA fungino, ha il potenziale per essere considerato un metodo affidabile per la diagnosi di candidemia. Studi su campioni di emocolture positive ottenute dai pazienti sono stati pianificati al fine di definire il ruolo del saggio YBL nei processi diagnostici di infezione del sangue.