

che viene chiamata “*sick building syndrome*”, dovuta all’inalazione di conidi (soprattutto di *Stachybotrys* spp.) da parte di persone che vivevano in ambienti pesantemente contaminati da questo micete. Alcuni ceppi di questo micete sono in grado di produrre micotossine molto potenti, che possono causare gravi disturbi e, in alcuni casi, portare a morte.

S8.2

LA BIOLOGIA MOLECOLARE IN MICOLOGIA

¹Faggi E., ²Andreoni S.

¹Dipartimento di Sanità Pubblica

- Sezione Microbiologia, Università di Firenze

²Azienda Ospedaliera Maggiore della Carità, Novara

La biologia molecolare, nell’ambito della micologia medica, può essere impiegata sia a scopo diagnostico che epidemiologico.

In campo diagnostico le biotecnologie possono essere utilizzate per la ricerca dei miceti direttamente nel materiale patologico permettendo di arrivare ad una diagnosi più rapida rispetto all’impiego delle metodiche classiche (esame colturale) e si possono rivelare particolarmente utili nella diagnosi di micosi profonde quali aspergillosi, candidosi, criptococcosi, istoplasmosi, pneumocistosi.

La PCR è la metodologia più ampiamente impiegata. Essa può essere utilizzata in combinazione con altre tecniche (PCR-ELISA, PCR-Restriction Enzyme Analysis ecc) o non in combinazione (semplice PCR, Nested PCR). I primers sono per lo più ricavati da sequenze di geni nucleari codificanti per proteine, sequenze di regioni ITS del DNA nucleare, sequenze rDNA nucleare, sequenze rDNA mitocondriale. La varietà di metodologie e la varietà di primers ha portato però a risultati non sempre ben confrontabili; inoltre un international consensus (Clin. Infect. Dis. 2002, 34, 7-14) sconsiglia l’impiego della PCR per la diagnosi di aspergillosi a causa delle false positività e di metodi commerciali non standardizzati. Nuove prospettive si aprono con l’impiego della real-time PCR.

In campo epidemiologico la biologia molecolare può essere utilizzata per identificare e tipizzare stipti funghi.

A partire dagli anni ‘80, con il presupposto che l’identificazione del genoma corrisponda alla identificazione di uno stipte, ha trovato un sempre più vasto favore la tipizzazione genotipica. Da allora, diversificazioni intraspecie tali da consentire una biotipizzazione genotipica sono state ottenute fondamentalmente: i) mediante cariotipizzazione, a seguito di separazione elettroforetica in campo pulsante di molecole di DNA di grandezza cromosomica; ii) ponendo in evidenza e

confrontando bande elettroforetiche di frammenti di DNA-ribosomale e di DNA-mitocondriale ottenuti con l’impiego di endonucleasi (DNA-polimorfismo da enzimi di restrizione); iii) mediante ibridizzazione con sonde DNA o RNA e, più recentemente, mediante iv) PCR fingerprinting e v) sequenziamento genomico.

I differenti approcci metodologici, le finalità degli indirizzi di ricerca, l’avvento di nuove tecnologie, rendono difficoltoso un inquadramento di questi sistemi di tipizzazione, così come eventuali correlazioni o confronti.

La validazione di un sistema di tipizzazione dovrebbe prevedere una valutazione delle prestazioni in base ai criteri di tipizzabilità, riproducibilità, stabilità, potere discriminante, nonché costo, rapidità e facilità di esecuzione. Nel considerare e selezionare il marcatore molecolare ottimale andrebbero attentamente considerati anche i concetti di spazio e tempo. Questi criteri dovrebbero essere valutati ogni volta che una nuova metodologia viene applicata o vengono modificati i parametri in un protocollo sperimentale.

S8.3

IL MONITORAGGIO DELLA TERAPIA ANTIFUNGINA

¹Manso E., ²Fazii P.,

¹Sezione di Microbiologia, Laboratorio di Analisi. Azienda Ospedaliero Universitaria. Ospedali Riuniti Umberto I°, G.M. Lancisi, G. Salesi. Ancona

²Sezione di Microbiologia, Laboratorio di Analisi. Ospedale Civile S. Spirito, Pescara

Dal 1970 il tasso di infezioni fungine è aumentato significativamente, in associazione con diversi cambiamenti nella pratica clinica (estensione delle terapie immunosoppressive, frequenza dell’uso di antibiotici ad ampio spettro a volte in modo indiscriminato, utilizzo di cateteri intravascolari) e con la comparsa dell’AIDS.

Inoltre, stanno diventando sempre più comuni le infezioni fungine opportunistiche da funghi resistenti agli antifungini. I test di laboratorio eseguiti con i farmaci antifungini servono a determinare la minima concentrazione del farmaco necessaria ad inibire lo sviluppo *in vitro* di un particolare fungo o per misurare le concentrazioni dell’antifungino nel siero dei pazienti in terapia. Gli agenti antifungini usati comunemente nel trattamento delle infezioni superficiali (ad es. nistatina e griseofulvina) non richiedono monitoraggio di laboratorio. Un grosso sforzo è stato eseguito per sviluppare metodi standardizzati, riproducibili e clinicamente rilevanti per studiare la suscettibilità dei funghi ai farmaci antifungini. La resistenza antifungina comprende nell’attualità l’emergenza di specie resistenti natural-