

Studio del ruolo di Cpar2_404800 nella virulenza di *Candida parapsilosis* mediante l'uso di un modello d'infezione murino

A. Vella¹, E. De Carolis¹, R. Torelli¹, B. Posteraro², A. Tavanti³ e M. Sanguinetti¹

¹Istituto di Microbiologia e ²Istituto di Igiene, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

³ Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, Pisa

Introduzione: Recentemente si è assistito ad un incremento delle infezioni provocate da *Candida parapsilosis*, soprattutto tra i pazienti immunocompromessi e i neonati. In particolare diversi studi di sorveglianza sanitaria condotti in Europa, Canada e Sud America hanno indicato *C. parapsilosis* come la prima *Candida non-albicans* ad essere isolata da emocoltura. La virulenza di *C. parapsilosis* sembra essere legata soprattutto alla sua capacità di aderire a materiale plastico, cateteri e dispositivi medici, e di formare biofilm. L'obiettivo del presente studio è stato valutare il ruolo dell'adesina putativa, Cpar2_404800, nel processo di colonizzazione del tratto urinario, mediante l'utilizzo di un modello di infezione murino. Successivamente è stato anche valutato il ruolo di tale proteina nella sopravvivenza di *C. parapsilosis* all'interno di macrofagi murini.

Metodi: Gli esperimenti sui topi BALB/c sono stati condotti secondo il protocollo etico approvato dall'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma. Sono stati saggiati tre ceppi di *C. parapsilosis*, forniti dall'Università di Pisa, l'ATCC 22019 wild-type (WT) per CPAR2_404800, il knock-out (KO) per tale gene ed il ricostituito. Per l'infezione del tratto urinario, le cellule fungine sono state contate e diluite in modo da inoculare 10⁸ blastoconidi direttamente nella vescica di 17 topi per ceppo. Dopo quattro giorni dall'infezione da ogni topo sono stati rimossi sterilmente la vescica e i reni, gli organi sono stati quindi pesati, omogenizzati e seminati su YPD agar; le piastre sono state incubate per 48h a 30°C. Il numero di lieviti cresciuti è stato espresso come CFU/gr di organo, e la significatività statistica è stata analizzata mediante il nonparametric Wilcoxon rank sum test (*P* value<0.5 è stato considerato significativo). Per la valutazione del killing macrofagico, è stata condotta un'infezione intraperitoneale con 10⁸ blastoconidi. Dopo 6 ore dall'infezione, i macrofagi intraperitoneali sono stati prelevati e piastrati in multiwell da 24 pozzetti in presenza di fungizone allo scopo di eliminare i lieviti extracellulari. A tempi stabiliti (8, 24, 48, 72h) i macrofagi sono stati contati, lisati e seminati su YPD agar. La sopravvivenza intracellulare è stata espressa come CFU/n° di macrofagi.

Risultati: Nel caso dell'infezione urinaria, dall'analisi delle CFU/gr di organo è emerso che il numero di lieviti ottenuti dagli organi prelevati dai topi infettati con il KO era significativamente minore rispetto al WT, 1,1x10³ vs 4,4x10³ (*P*=0,0093), e 8x10⁴ vs 9.7x10⁵ (*P*=0,0342) rispettivamente per vescica e reni. Invece per quanto riguarda la capacità di sopravvivere all'interno dei macrofagi non si è osservata una differenza significativa tra WT e KO.

Conclusioni: La riduzione del numero di CFU nei topi BALB/c infettati con il ceppo KO per l'adesina Cpar2_404800, indica un importante ruolo di tale proteina nel processo di colonizzazione del tratto urinario, di contro non sembra avere un ruolo nella capacità di *C. parapsilosis* di sopravvivere al killing macrofagico.