

IDENTIFICAZIONE RAPIDA E VARIABILITÀ GENETICA DI STIPITI DI DIPODASCUS CAPITATUS ISOLATI A PALERMO

T. Fasciana¹, G. Aquilina¹, R. Immordino², T. Amato², S.A. Distefano², C. Calà¹, C. Bonura¹, G.L. Pitarresi², R. Chiaramonte², G. Seddio², D. Lipari¹, A. Giammanco¹

¹*Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile "G. D'Alessandro", Università degli studi di Palermo, Palermo*

²*Unità Operativa Complessa, Servizio Analisi di Microbiologia, Virologia e Parassitologia. A.O.U.P. "P. Giaccone" Palermo*

INTRODUZIONE

D. capitatus, forma teleomorfica di *Geotrichum capitatum*, appartiene alla divisione degli Ascomyceti ed è abitualmente isolato da fonte ambientale. E' un microrganismo che fa parte del normale microbiota della cute ed è anche frequentemente isolato dall'espettorato e dal tratto digestivo di soggetti sani. Negli ultimi due decenni, in seguito all'aumento di fattori predisponenti alle infezioni fungine, come ad esempio chemioterapie, terapie steroidee e cateterizzazione, anche il numero di infezioni dovute a questa specie emergente, ha subito un incremento.

Abbiamo isolato *D. capitatus*, da campioni respiratori di pazienti immunocompromessi, provenienti da alcuni reparti dell'A.O.U.P. "P. Giaccone" di Palermo.

Lo scopo di questo lavoro è quello di dimostrare la possibilità di utilizzare il CHROMagar, Candida (BD), quale test per l'identificazione di *D. capitatus*, la cui validità è stata confermata tramite sequenziamento. Al fine di valutare la correlazione clonale tra gli isolati, abbiamo anche effettuato la loro caratterizzazione genotipica.

METODI

I campioni biologici, sono stati seminati su CHROMagar Candida (BD) ed incubati a 37 °C. l'identificazione è stata comprovata mediante sequenziamento della regione ITS (Internal transcriber spacer regione). La tipizzazione molecolare è stata effettuata mediante random amplification of polymorphic DNA (RAPD) utilizzando la combinazione dei primers AP12h e W-80A e il singolo primer OPE-4 e mediante PCR fingerprinting utilizzando come primer la sequenza core del fago M13.

RISULTATI

Tutti gli isolati presentavano colonie di colore rosa chiaro e aspetto fimbriato e ruvido. L'esame microscopico ha rilevato la presenza di ife e conidiofori abbondantemente ramificati con cellule conidiogene e presenza di cicatrici nei punti ifali da cui originavano i conidi

con forma cilindrica o claviforme. La sequenza del DNA di tutti gli isolati si è appaiata con il gene 18S rRNA di *D. capitatus* (*Geotrichum capitatum*) del Database GenBank DNA (HQ014712).

I risultati della tipizzazione molecolare mediante RAPD-PCR e DNA fingerprinting mostrano che il potere discriminatorio, delle due metodiche e della differente combinazione di primers, è comparabile; questo ci ha permesso il rilevamento della correlazione genetica tra i due isolati di *D. capitatus* provenienti da due differenti reparti dell'A.O.U.P. "P. Giaccone" di Palermo.

CONCLUSIONI

Tramite il sequenziamento abbiamo potuto dimostrare che il CHROMagar Candida (BD) può essere considerato un sistema rapido in grado di identificare in tempi brevi e con un basso costo *D. capitatus*. Utilizzando la tipizzazione molecolare abbiamo invece mostrato una possibile correlazione clonale dei due isolati