

**ASPERGILLUS SPP.: TECNICHE DI IDENTIFICAZIONE E VALUTAZIONE DELLA SUSCETTIBILITA' AGLI ANTIFUNGINI**

m. Cosentino<sup>1</sup>, D. Guarneri<sup>1</sup>, f. Vailati<sup>1</sup>, m. Passera<sup>1</sup>, g. Ortalli<sup>1</sup>, C. Farina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>USC Microbiologia e Virologia, ASST "Papa Giovanni XXIII", Bergamo

**INTRODUZIONE**

La relativa difficoltà ad isolare ceppi di *Aspergillus* spp. da campioni clinicamente significativi correlata, tuttavia, alla diffusione ambientale dei conidi che rendono possibile la condizione di colonizzazione fungina delle coane nasali giustifica l'opportunità di studiare il profilo di sensibilità agli antifungini in quegli stipiti aspergillari isolati nel corso delle ordinarie attività di screening microbiologico di soggetti appartenenti a categorie "a rischio" per l'aspergillosi

**METODI**

Sono stati indagati complessivamente 101 stipiti aspergillari isolati da tamponi di sorveglianza provenienti da pazienti ematologici ed intensivistici (88) e di collezione NEQAS (13), conservati presso la ceppoteca dell'ASST "Papa Giovanni XXIII" di Bergamo. Sono stati studiati: *A.candidus* (1), *A.chevalieri* (3), *A.flavus* (25), *A.fumigatus* (32), *A.nidulans* (3), *A.niger* (18), *A.terreus* (18), *A.sidowii* (1) di isolamento clinico e *A.candidus* (1), *A.flavus* (2), *A.fumigatus* (3), *A.nidulans* (3), *A.niger* (2) e *A.terreus* (2).

Si è proceduto alla verifica identificativa con sequenziamento genico (Sanger, Applied Biosystem) e alla creazione di superspectra Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight (Vitek MS RUO, bioMérieux)

Si è proceduto alla verifica del profilo di chemioantibioticosensibilità con la valutazione delle Minime Concentrazioni inibenti (MIC) ad Amfotericina B, 5-Fluorocitosina, Azoli (Itraconazolo, Voriconazolo, Posaconazolo, Fluconazolo) ed Echinocandine (Anidulafungina, Caspofungina, Micafungina) con metodo di microdiluizione in brodo (YeastOne Sensititre, TermoFisher);

**RISULTATI**

Creazione di Superspectra (MALDI-TOF)

*Aspergillus flavus* complex: disponibilità nel data base di 124 spettri; *A. fumigatus* complex: disponibilità nel data base di 95 spettri, *A. niger* complex: disponibilità nel data base di 62 spettri; *A. terreus*: disponibilità nel data base di 68 spettri.

Test di sensibilità:

Amfotericina B: il 55,4% dei ceppi ha mostrato MIC  $\leq 1$   $\mu\text{g/mL}$ , risultando quindi sensibile, in accordo con i criteri EUCAST proposti per *A. fumigatus*.

5-fluorocitosina: per il 79,3% dei ceppi le MIC sono state di 64  $\mu\text{g/mL}$ .

Echinocandine: si rilevano valori di MIC<sub>90</sub> particolarmente elevati (8  $\mu\text{g/mL}$ ) per tutte le molecole su tutte le specie studiate, con eccezione di *A. chevalieri*.

Azoli: il 98% dei ceppi è risultato sensibile a Posaconazolo (MIC  $\leq 0,25$   $\mu\text{g/mL}$ ); il 95% a Voriconazolo (MIC  $< 1$   $\mu\text{g/mL}$ ); il 96% a Itraconazolo (MIC  $\leq 1$   $\mu\text{g/mL}$ ).

**CONCLUSIONI**

L'accurata identificazione della specie aspergillare è il presupposto basilare per la successiva corretta gestione clinica dei casi di aspergillosi. Sono state analizzate le diverse specie di *Aspergillus* isolate da campioni di sorveglianza provenienti da pazienti ematologici ed intensivistici. La disponibilità della tecnologia MALDI-TOF si rivela utile ausilio nell'identificazione fungina. Lo studio accurato dell'epidemiologia fungina e la disponibilità di tecniche che consentono la diagnosi eziologica sono prodromici, in ambito clinico, alla valutazione del pattern di sensibilità: la disponibilità di dati consolidati di sensibilità è di ausilio per l'impostazione della terapia antifungina.