



FIMUA

FEDERAZIONE ITALIANA MICOPATOLOGIA UMANA E ANIMALE

XV CONGRESSO NAZIONALE FIMUA 2022

CONGRESSO MISTO
Residenziale e On-line

ROMA

HOTEL PINETA PALACE
Via S. Lino Papa, 35, 00167 Roma

30 SETTEMBRE
1 OTTOBRE 2022

**PROGRAMMA
SCIENTIFICO**

www.fimua.eu



UNIVERSITÀ
CATTOLICA
del Sacro Cuore

RESISTENZA CROCIATA AD AZOLI CLINICI E AGRICOLI IN CEPPI DI *ASPERGILLUS FUMIGATUS* ISOLATI DALL'UOMO E DALL'AMBIENTE IN ITALIA.

A. Prigitano, M.C. Esposito, M. Cogliati, L. Romanò.

Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Milano

In Italia è stata osservata una prevalenza del 16,9% di resistenza agli azoli di uso clinico negli isolati di *Aspergillus fumigatus* provenienti dall'ambiente agricolo. La diffusione dell'azolo resistenza è da attribuire all'impiego massiccio di inibitori della 14 α -demetilasi (DMI) in agricoltura.

Gli obiettivi del presente studio sono indagare: -la resistenza ai DMI in ceppi italiani di *A. fumigatus* di origine clinica e ambientale, sia suscettibili che resistenti agli azoli clinici; -il meccanismo molecolare di resistenza nei ceppi sensibili agli azoli clinici, ma resistenti ad almeno uno dei DMI testati; -la resistenza in vitro agli azoli indotta dall'esposizione prolungata ai DMI in ceppi clinici e ambientali suscettibili ed il meccanismo molecolare responsabile della resistenza.

Materiali e metodi

Sono stati selezionati 54 ceppi di *A. fumigatus*: 23 suscettibili agli azoli clinici (CAS) e 31 resistenti (CAR) con e senza mutazioni nel gene CYP51A (TR34/L98H, F219I, G54R, G54E, D269Y, M220I o F46Y/M172V /N248T/D255E/E427K). Il test di sensibilità agli antimicotici è stato eseguito per 8 DMI (tebuconazolo, epoxiconazolo, difenoconazolo, propiconazolo, tetraconazolo, flusilazolo, fenbuconazolo e procloraz) utilizzando il metodo di microdiluizione in brodo secondo i metodi EUCAST e CLSI. Le mutazioni nei geni CYP51A, CYP51B e HMG1 sono state studiate in CAS con valori di MIC elevati di DMI. L'induzione della resistenza in vitro è stata eseguita utilizzando 8 DMI in 10 ceppi di *A. fumigatus* (5 clinici e 5 ambientali) sensibili sia agli azoli clinici che ai DMI. Una sospensione di 10⁶ conidi è stata inoculata su piastre di agar glucosio-estratto di lievito-peptone contenenti diversi DMI a diverse concentrazioni incubate a 37°C per 72 ore per 6 passaggi ripetuti.

Risultati

Risultati comparabili di MIC sono stati ottenuti utilizzando i metodi EUCAST e CLSI.

Nel 100% degli isolati, sia CAR che CAS, è stata osservata resistenza (MIC \geq 16mg/L) al tetraconazolo e al fenbuconazolo. Al contrario, è stata osservata una differenza statisticamente significativa di MIC di tebuconazolo, epoxiconazolo, difenoconazolo, propiconazolo e flusilazolo tra ceppi CAR e ceppi CAS con medie geometriche (GM) più elevate in ceppi CAR (intervallo 4,9-9,3 mg/L) rispetto a ceppi CAS (1,5- 2,7 mg/L). Procloraz ha mostrato le GM più basse: 0,6 e 0,25 mg/L nei ceppi CAR e CAS, rispettivamente.

È stata osservata una differenza significativa delle GM per tutti i DMI saggiati, ad eccezione del procloraz, tra gli isolati portatori di una mutazione TR34/L98H o M220I (intervallo GM 10,4-16 mg/L) e quelli con altre mutazioni del CYP51A (intervallo GM 1- 4,6 mg/L).

Nei ceppi CAS che mostravano MIC di DMI elevate, è stata confermata l'assenza di mutazioni del CYP51A, mentre una mutazione sinonima P394P è stata identificata nel CYP51B. Non sono state trovate mutazioni nel gene HMG1.

Nei test di induzione l'esposizione prolungata ai DMI ha mostrato una resistenza fenotipica indotta del 100% (10/10 isolati) per epoxiconazolo, del 72,7% (8/11) per propiconazolo, del 54% (6/11) per tebuconazolo e difenoconazolo, e del 9,1% (1/11) per il procloraz. Sono in corso analisi molecolari per indagare se la resistenza fenotipica corrisponda a mutazioni indotte nei geni CYP51A, CYP51B e HMG1.

Conclusioni

I risultati preliminari confermano la resistenza crociata tra azoli clinici e DMI, con differenze di MIC tra CAR e CAS e tra ceppi con diverse mutazioni nel gene CYP51A. Inoltre, è stata evidenziata la capacità dei DMI di indurre resistenza in vitro.