



FEDERAZIONE ITALIANA MICOPATOLOGIA UMANA E ANIMALE

XIV CONGRESSO NAZIONALE FIMUA

PESARO

MERCURE HOTEL PESARO CRUISER
Viale Trieste 281

19-20 OTTOBRE 2018

PROGRAMMA SCIENTIFICO



FEDERAZIONE ITALIANA MICOPATOLOGIA UMANA E ANIMALE

PRESIDENTE DEL CONGRESSO

Francesco Barchiesi

CONSIGLIO DIRETTIVO

Presidente: Ercole Concia - *Verona*

Vicepresidente: Andrea Novelli - *Firenze*

Segretario: Patrizia Danesi - *Legnaro (PD)*

Tesoriere: Anna Maria Tortorano - *Milano*

Membri del Consiglio Direttivo

Spinello Antinori - *Milano*

Alessandro Busca - *Torino*

Caterina Cavanna - *Pavia*

Flavia De Bernardis - *Roma*

Maria Carmela Esposto - *Milano*

Roberta Galuppi - *Bologna*

Brunella Posteraro - *Roma*

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA E PROVIDER ECM NR. 265



Nadirex International Srl

Via Riviera, 39 · 27100 Pavia

Tel. 0382 525714-35

Fax 0382.525736

info@nadirex.com

www.nadirex.com

Cari colleghi,

dal 19 al 20 ottobre 2018 a Pesaro si terrà il XIV Congresso Nazionale della FIMUA. Sarà occasione per confrontarsi sulle tematiche relative alle nuove categorie di pazienti a rischio di infezioni fungine invasive, alla conoscenza accurata delle Nuove linee guida di terapia delle Infezioni Fungine, all'uso più diffuso dei nuovi farmaci antifungini ed antivirali per HIV e HCV e al più ampio utilizzo di nuove tecniche di laboratorio.

Anche nell'ambito delle micosi superficiali saranno approfonditi temi di attualità relativi alla diagnosi e al coinvolgimento degli animali nelle micosi zoo-antropiche. Infine le problematiche legate agli alimenti, alle micotossine e alle recenti acquisizioni in ambito biologico e patogenetico offriranno spunti di confronto e di approfondimento culturale e professionale. Secondo il consueto stile della FIMUA, queste ed altre tematiche saranno affrontate con il contributo delle diverse professionalità impegnate nei vari settori della medicina umana e veterinaria.

Francesco Barchiesi

CON IL PATROCINIO DI



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE



AMCLI
Associazione Microbiologi clinici italiani



SIE
Società italiana Ematologia



SIM
Società italiana Microbiologia



SIMIT
Società Italiana di Malattie Infettive
e Tropicali



SItI
Società Italiana di Igiene,
Medicina Preventiva e Sanità Pubblica

PATROCINI RICHIESTI



SIC
Società italiana Chemioterapia

SPINELLO ANTINORI (Milano)
FRANCESCO BARCHIESI (Pesaro)
ELISA BIGGI (Verona)
LUCIA BRESCINI (Ancona)
ALESSANDRO BUSCA (Torino)
ANNA CANDONI (Udine)
BENEDETTA CANOVARI (Pesaro)
CATERINA CAVANNA (Pavia)
ERCOLE CONCIA (Verona)
SILVIA CORCIONE (Torino)
PATRIZIA DANESI (Legnaro, PD)
FLAVIA DE BERNARDIS (Roma)
ELENA DE CAROLIS (Roma)
EMANUELE DELFINO (Genova)
CLAUDIA CAFARCHIA (Bari)
MARIA CARMELA ESPOSTO (Milano)
LAURA GALIMBERTI (Milano)
ROBERTA GALUPPI (Bologna)
ANDREA GIACOMETTI (Ancona)
CORRADO GIRMENIA (Roma)
GIAMPIERO GIROLOMONI (Verona)
ANNA GRANCINI (Milano)
PAOLO GROSSI (Varese)
GIULIANA LO CASCIO (Verona)
ELISABETTA MAPELLI (Milano)
LETIZIA MARINARO (Torino)
MALGORZATA MIKULSKA (Genova)
GIULIA MORACE (Milano)
ANDREA NOVELLI (Firenze)
SALVATORE OLIVERI (Catania)
MARIO PASQUETTI (Torino)
CARLO PIERETTI (Pesaro)
BRUNELLA POSTERARO (Roma)
ANNA PRIGITANO (Milano)
MAURIZIO SANGUINETTI (Roma)
LOLITA SASSET (Padova)
MARCO TAGLIETTI (USA)
MARCELLO TAVIO (Ancona)
ANNA MARIA TORTORANO (Milano)
LAURA TROVATO (Catania)
MARIO TUMBARELLO (Roma)
LISA VALLONE (Milano)
ANTONIO VENA (Udine)

VENERDÌ, 19 OTTOBRE 2018

- 09.30-10.30 Registrazione dei partecipanti
10.30-10.40 Apertura dei Lavori e presentazione dell'evento

SESSIONE 1

Moderatori: **E. Concia** (Verona), **M. Sanguinetti** (Roma)

- 10.40-11.00 *Candida albicans*: più che un patogeno opportunistista
F. De Bernardis (Roma)
- 11.00-11.20 *Candida non albicans*: dove e quando
S. Corcione (Torino)
- 11.20-11.40 La diagnostica rapida della candidosi invasiva
G. Lo Cascio (Verona)
- 11.40-12.00 Candidemia e paziente critico: quale terapia?
L. Brescini (Ancona)
- 12.00-12.20 Discussione
- 12.20-13.20 *LUNCH*

SESSIONE 2

Moderatore: **S. Oliveri** (Catania)

- 13.20-13.50 Resistenza e *Candida*
- Nuove conoscenze microbiologiche
B. Posteraro (Roma)
 - Incongruenza tra dato in vitro e risposta clinica
M. Mikulska (Genova)
- 13.50-14.20 La candiduria dalla diagnosi al trattamento
- Il punto di vista del Microbiologo
A. Grancini (Milano)
 - Il punto di vista del Clinico
A. Vena (Udine)
- 14.20-14.50 La candidosi addominale dalla diagnosi al trattamento
- Il punto di vista del Microbiologo
C. Cavanna (Pavia)
 - Il punto di vista del Clinico
A. Vena (Udine)
- 14.50-15.10 Discussione

COFFEE STATION
disponibile durante
l'intera giornata

SESSIONE 3 - MEET THE EXPERT*Moderatore: A. Giacometti (Ancona)*

- 15.10-15.30 Le micosi nell'AIDS
L. Sasset (Padova)
- 15.30-15.50 Attualità in tema di terapia antiretrovirale
L. Marino (Torino)

SESSIONE 4*Moderatore: P. Danesi (Legnaro, PD)*

- 15.50-16.10 *Saprochaete/Magnusiomyces/Trichosporon /Saccharomyces* et al: problematiche tassonomiche ed epidemiologiche
M.C. Esposto (Milano)
- 16.10-16.30 La terapia delle infezioni fungine rare: certezze e controversie
M. Tumbarello (Roma)
- 16.30-16.50 *Malassezia* species: un patogeno dimenticato
C. Cafarchia (Bari)
- 16.50-17.10 Criptococcosi e pneumocistosi in paziente nonAIDS
L. Galimberti (Milano)
- 17.10-17.30 Micotossine e effetti sulla salute
L. Vallone (Milano)
- 17.30-17.50 Discussione

SESSIONE 5 - MEET THE EXPERT*Moderatore: F. Barchiesi (Pesaro)*

- 17.50-18.10 Farmaci antifungini, interazioni farmacologiche e ruolo della TDM
A. Novelli (Firenze)
- 18.10-18.30 Nuovi agenti antifungini: quale futuro?
M. Mikulska (Genova)
- 18.30-18.50 Difficoltà nello sviluppo dei farmaci antifungini
M. Taglietti (USA)
- 18.50 Assemblea FIMUA

SABATO, 20 OTTOBRE 2018

SESSIONE 6

Moderatore: **G. Morace** (Milano)

- 08.30-08.50 Aspergillosi: dalla colonizzazione all'infezione
P. Grossi (Varese)
- 08.50-09.10 Ambiente ed aspergillo
A. Prigitano (Milano)
- 09.10-09.30 La diagnostica per immagini nell'aspergillosi invasiva
E. Biggi (Verona)
- 09.30-09.50 La diagnostica di laboratorio dell'aspergillosi invasiva
E. De Carolis (Roma)
- 09.50-10.10 Discussione

SESSIONE 7

Moderatori: **F. Barchiesi** (Pesaro), **A.M. Tortorano** (Milano)

- 10.10-10.30 Profilassi, preemptive e terapia mirata nell'aspergillosi
C. Girmenia (Roma)
- 10.30-10.50 Ruolo della terapia di combinazione nell'aspergillosi invasiva
A. Candoni (Udine)
- 10.50-11.20 I farmaci di nuova generazione in campo ematologico:
rischio aumentato di micosi sistemiche?
A. Busca (Torino)
- 11.20-11.40 Discussione
- 11.40-12.10 Premio BASSI
- 12.10-13.30 **LUNCH**

COFFEE STATION
disponibile durante
l'intera giornata

SESSIONE 8 - MEET THE EXPERT

Moderatore: **M. Tavio** (Ancona)

- 13.30-13.50 Le micosi nel paziente cirrotico
C. Pieretti (Pesaro)
- 13.50-14.10 Attualità in tema di terapia antiepatite C
B. Canovari (Pesaro)

SESSIONE 9

Moderatori: **R. Galuppi** (Bologna), **A.M. Tortorano** (Milano)

- 14.10-14.30 Le dermatofitosi
G. Girolomoni (Verona)
- 14.30-14.50 La diagnosi delle dermatofitosi: dalla corretta esecuzione del prelievo alla diagnostica molecolare
L. Trovato (Catania)
- 14.50-15.10 Le micosi umane: il ruolo del serbatoio animale
M. Pasquetti (Torino)
- 15.10-15.40 Le micosi in popolazioni speciali: dal migrante al viaggiatore
- Il punto di vista dell'infettivologo
S. Antinori (Milano)
 - Il punto di vista del dermatologo
E. Mapelli (Milano)
- 15.40-16.00 Le infezioni micotiche nel paziente con fibrosi cistica
E. Delfino (Genova)
- 16.00-16.20 Discussione
- 16.20-17.00 Chiusura del Congresso
- Consegna e compilazione questionario ECM

POSTER

Epidemiologia delle infezioni fungine umane e animali

Adiaspiromicosi negli animali selvatici
C. Falcaro pag. 11

Studio ARIa: studio multicentrico prospettico sulla resistenza agli azoli in ceppi di *Aspergillus* isolati da differenti tipologie di pazienti e correlazione con ceppi ambientali
L. Romanò pag. 13

Aspergillus Fumigatus resistente agli azoli è presente anche nell'ambiente agricolo in Crozia (Regione Istriana)?
A. Prigitano pag. 15

Epidemiologia della candidosi peritoneale: studio retrospettivo monocentrico nel paziente non neutropenico
F. Lallitto pag. 16

Diagnosi delle infezioni fungine umane e animali

Valutazione del sistema integrato ELITe Ingenios nel rilevamento di *Aspergillus spp.* DNA
C. Pozzi pag. 19

Identificazione molecolare di *Scedosporium Apiospermum* in un caso di mycetoma addominale in un labrador
C. Falcaro pag. 20

Valutazione del tst turbidimetrico β -glucan Wako per la diagnosi di candidosi invasiva
G. Lo Cascio pag. 22

Terapia delle infezioni fungine umane e animali

Evaluation of the appropriateness of a special drug request form for the dispensation and use of antifungals
S. Lardo pag. 24

In vitro susceptibility of five *Candida* species to photodynamic therapy using curcumin as photosensitizer
Z. Pasquini pag. 25

Casi clinici

Endocardite da *T. Asahii*: caso clinico e revisione della letteratura
G. Zuglian pag. 26

ADIASPIROMICOSI NEGLI ANIMALI SELVATICI

C. Falcaro¹, S. Ravagnan¹, M. Vascellari¹, K. Dukik², Y. Ping², A.P. Rizzoli³, V. Tagliapietra³, R. Allavena⁴, V. Simpson⁵, G.S. de Hoog^{2,6}, P. Danesi¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD), Italy

² Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands

³ Research and Innovation Center, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (Trento), Italy

⁴ Jo Gordon, Veterinary Laboratory Services, School of Veterinary Science, UQ Gatton, Australia

⁵ Wildlife Veterinary Investigation Centre Little Jollys Bottom Farm Chacewater Truro Cornwall, UK TR48PB

⁶ Center of Expertise in Mycology of RadboudUMC/Canisius Wilhelmina Hospital, Nijmegen, The Netherlands

INTRODUZIONE. L'adiaspiromicosi è una malattia fungina polmonare causata da funghi dimorfi del genere *Emmonsia* (*Ajellomycetaceae*, ordine *Onygenales*), descritta in molti roditori, insettivori, carnivori, lagomorfi e marsupiali in tutto il mondo. *Emmonsia crescens* e *Blastomyces parvum* (ex *Emmonsia parva*) sono i principali agenti eziologici, sia negli animali che nell'uomo. In letteratura, l'adiaspiromicosi viene generalmente diagnosticata su base istologica e descritta attraverso microscopia ottica delle adiaspore nei tessuti polmonari. Istologicamente i polmoni degli animali colonizzati e/o infetti sono caratterizzati da granulomi contenenti (o meno) una spora centrale. Le adiaspore di *Emmonsia crescens* sono tipicamente multinucleate (200-700µm di diametro), mentre *B. parvum* produce adiaspore mononucleate di 20-40 µm.

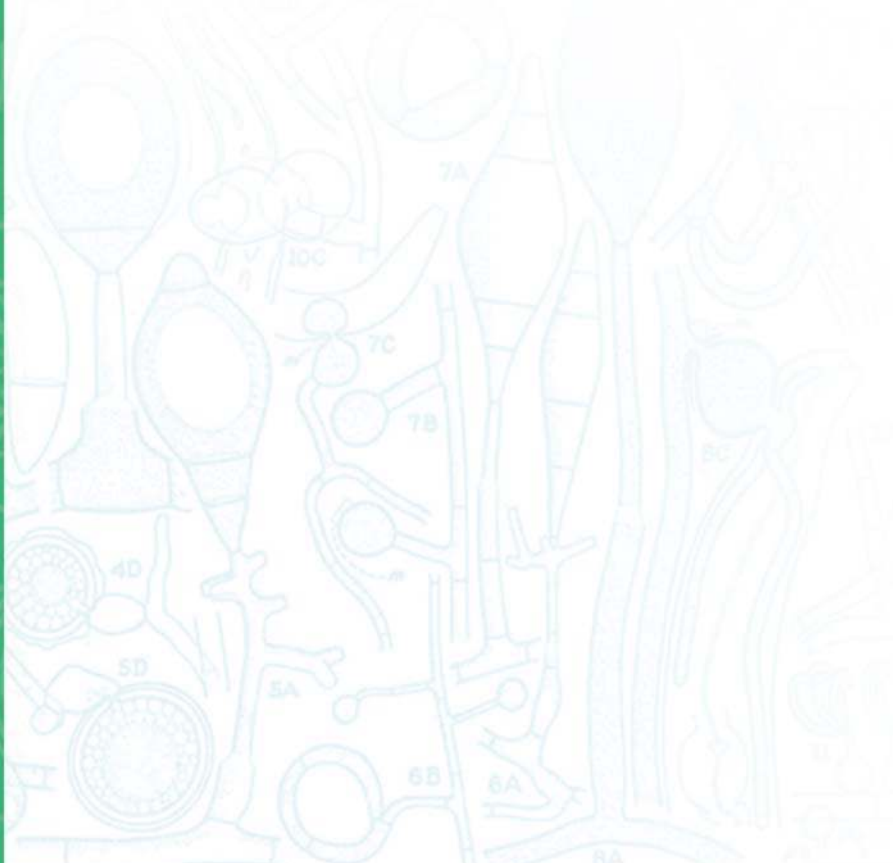
Obiettivo di questo studio è stato valutare la presenza di DNA di *Emmonsia* spp. in tessuto polmonare di animali selvatici.

MATERIALI E METODI. Sono stati esaminati 197 polmoni (tessuto congelato) di 6 specie di piccoli mammiferi quali topi selvatici, nutrie, scoiattoli e toporagni. Sono stati inoltre inclusi nello studio, 19 sezioni istologiche di tessuto polmonare (incluso in paraffina) di animali provenienti dal Regno Unito (mustelidi, lontre, scoiattoli, talpe, pipistrelli e martore) e dall'Australia (wombat) con descrizione istologica di adiaspiromicosi. Il DNA è stato estratto dai polmoni (tessuto congelato) utilizzando il kit DNeasy® blood & tissue (Qiagen) e dalle sezioni istologiche (sezioni di 5-8µm) utilizzando il kit ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System (Promega®). Per l'amplificazione, mediante Sybr Green Real Time PCR, sono state utilizzate quattro coppie di primers (denominate ITS12/187, ITS69/317, LSU70/298 e LSU117/459) disegnate in base all'allineamento di sequenze di *Emmonsia*, *Blastomyces*, *Hystoplasma* e *Paraccodidioides*, specie filogeneticamente vicine. Tutti gli amplificati ottenuti sono stati sequenziati e confrontati con il database NCBI GenBank per conferma tassonomica e analisi filogenetica.

RISULTATI. DNA di *Ajellomycetaceae* è stato amplificato da 5 polmoni e da 2 sezioni istologiche con entrambi i target genetici (ITS e LSU). Le sequenze ottenute identificano *Emmonsia crescens* con similarità del 100% in polmoni di topi selvatici (n=1) e nutrie (n=4), ed *Emmonsiiopsis terrestris*, con similarità del 98%, nel tessuto paraffinato dei 2 wombat australiani.

DISCUSSIONI E CONCLUSIONI. *Emmonsia crescens* ed *Blastomyces parvus* rappresentano le maggiori cause di adiaspiromicosi nei piccoli mammiferi che, seppur con alte cariche descritte istologicamente (numero di adiaspore per campo polmonare) risultano asintomatici nella maggior parte dei casi. Non-

stante in passato sia stato ipotizzato che gli animali avessero un possibile ruolo di serbatoi per *Emmonsia* spp. non esiste prova di una diretta trasmissione dagli animali all'uomo. Nell'uomo, l'adiaspiromicosi rimane una malattia rara, legata soprattutto ad immunocompromessi e probabilmente sottodiagnosticata per mancanza di identificazione molecolare. Inoltre, i funghi dimorfi descritti come "*Emmonsia*" ed "*Emmonsia-like*", sono stati recentemente riclassificati come *Emergomyces* spp. (*Emergomyces pasteurianus*, *Emergomyces africanus* ecc.), con importanti risvolti di salute pubblica. Ad esempio, *Emergomyces africanus* rappresenta un patogeno emergente di micosi sistemica in pazienti HIV positivi in Sud Africa a partire dal 2014. Lo studio di patogeni fungini negli animali (sia clinicamente infetti che asintomatici), supportato da un'accurata identificazione molecolare, risulta un'importante strumento per la conoscenza del ciclo biologico e dell'epidemiologia di questi organismi. In particolare, i micromammiferi, con uno stile di vita caratterizzato da stretto contatto col suolo (vivono in tane) e un limitato homorange, possono essere considerati "sentinelle" per la valutazione della presenza di funghi che, come gli *Onygenales*, svolgono parte del loro ciclo biologico nel suolo. Questo lavoro è stato finanziato dal Ministero della Salute Italiano (progetto RC IZSve 01/2015 e RC IZSve 18/2016).



**STUDIO ARiA: STUDIO MULTICENTRICO PROSPETTICO
SULLA RESISTENZA AGLI AZOLI IN CEPPI DI *ASPERGILLUS* ISOLATI
DA DIFFERENTI TIPOLOGIE DI PAZIENTI E CORRELAZIONE
CON CEPPI AMBIENTALI**

**A. Prigitano¹, M.C. Esposto¹, A. Grancini², A. Biffi², P. Innocenti³, C. Cavanna²,
F. Lallitto⁴, R. Bandettini⁵, C. Ossi⁶, Oltolini⁶, M. Passera⁷, A.M. Tortorano¹,
L. Romanò¹**

¹ Università degli studi di Milano

² Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano

³ A.S. Alto Adige Osp. Bolzano

⁴ IRCCS S. Matteo Pavia

⁵ Istituto Gaslini IRCCS, Genova

⁶ Osp. San Raffaele Milano

⁷ ASST 'Papa Giovanni XXIII, Bergamo

La resistenza agli azoli in *Aspergillus spp* è un problema emergente in numerosi Paesi europei ed è stata riscontrata anche in Italia con l'isolamento di ceppi di *A. fumigatus* resistenti sia dall'ambiente sia da pazienti in terapia antifungina e naïve. Alla base della resistenza vi sono mutazioni puntuali di *cyp1A*, gene che codifica per l'enzima bersaglio di azoli.

Lo studio multicentrico prospettico (ARiA) ha come obiettivi: stimare la prevalenza di azolo-resistenza in aspergilli isolati da diverse forme cliniche (colonizzazione, aspergilliosi cronica, aspergilliosi invasiva) e in diverse tipologie di pazienti, indagare il meccanismo molecolare della resistenza, valutare la correlazione tra ceppi clinici resistenti e ceppi resistenti provenienti dall'ambiente limotrofo.

METODO. Lo studio ha coinvolto sette laboratori di microbiologia clinica del nord Italia.

I ceppi di aspergilli isolati nell'attività di routine, indipendentemente dal significato clinico, sono stati inviati al centro coordinatore (Laboratorio di micologia medica dell'Università degli Studi di Milano). Al fine di evidenziare la resistenza agli azoli, i ceppi sono stati sottoposti ad un test di screening su terreni selettivi contenenti itraconazolo (4 mg/L), posaconazolo (1 mg/L), voriconazolo (0,5 mg/L). I ceppi positivi allo screening sono stati sottoposti a microdiluzione in brodo secondo la metodica EUCAST. In presenza di resistenza fenotipica è stata eseguita l'analisi molecolare mediante sequenziamento del gene *cyp51A*. I ceppi sono stati sottoposti al sequenziamento del gene della β -tubulina per una corretta identificazione.

L'invio dei ceppi da parte dei laboratori è stato accompagnato da una scheda contenente dati in forma anonimizzata quali: materiale biologico e data di isolamento, sesso ed età del paziente, tipo di reparto, eventuale trattamento fungino nei sei mesi precedenti l'isolamento, forma di aspergilliosi. I pazienti nei quali è stato isolato un ceppo fungino resistente agli azoli hanno effettuato prelievi del terreno dalle aree limitrofe al luogo di residenza e/o di lavoro. Tali campioni sono stati processati secondo la metodica di Snelders (Appl Environ Microbiol 2009; 75: 4053-7) per la ricerca di ceppi resistenti.

RISULTATI. Tra settembre 2016 e giugno 2018 sono stati analizzati 391 ceppi, isolati da secrezioni respiratorie nel 95% dei casi, da 328 pazienti. Le specie più frequentemente isolate sono state: *A. fumigatus* (68,3%), *A. flavus* (14%), *A. niger* (9,7%), *A. terreus* (6,1%).

La resistenza agli azoli è stata evidenziata nel 5,1% degli isolati e precisamente in 18 ceppi di *A. fumigatus sensu stricto* (6,7%), in uno di *A. thermomutatus* (specie criptica di *A. fumigatus*) e in un ceppo di *A. insuetus* (specie criptica di *A. ustus*). Diciannove dei 20 ceppi resistenti sono stati isolati da due laboratori: Laboratorio di Microbiologia del Policlinico di Milano con una frequenza di resistenza del 7,7% (9 resistenti/117 ceppi) e Laboratorio di Microbiologia delle Fibrosi cistiche di Milano, con una frequenza del 8,3% (10/121). Considerando i soli ceppi di *A. fumigatus*, la frequenza di resistenza sale al 10,5% (8/76) e 10,7% (10/93) rispettivamente nei due centri. Il meccanismo molecolare di resistenza dei ceppi di *A. fumigatus* è risultato TR34/L98H in 11 ceppi, F219I in 2 ceppi, D262Y e G54R in un ceppo ciascuno. Un ceppo ha presentato più mutazioni (F46Y+M172V+N248T+D255E+E427K). In un ceppo è stata osservata una mutazione non senso ed un ceppo ha presentato un meccanismo di resistenza non associato al gene *cyp51A*.

Per quanto riguarda l'ambiente, dai campionamenti effettuati negli ambulatori di fibrosi cistica sono stati isolati ceppi di *A. fumigatus* sensibili agli azoli. Dall'ambiente domestico/lavorativo di cinque pazienti e dai prelievi di terra effettuati dagli stessi, sono stati isolati ceppi di *Aspergillus non-fumigatus* e di *A. fumigatus*, non correlabili con i ceppi di *A. fumigatus* isolati negli stessi pazienti.

CONCLUSIONI. La percentuale di resistenza messa in evidenza in due centri partecipanti al progetto è risultata elevata (10,6%), superiore a quanto ritrovato in precedenti studi condotti in Italia (studio SCARE, 2%; studio retrospettivo in Lombardia, 6,9%; studio fibrosi cistiche Milano, 8,2%). È da notare che in altri centri non sono state ritrovate resistenze per *A. fumigatus*. Lo studio rimane in fase di completamento.

ASPERGILLUS FUMIGATUS RESISTENTE AGLI AZOLI È PRESENTE ANCHE NELL'AMBIENTE AGRICOLO IN CROAZIA (REGIONE ISTRIANA)?

A. Prigitano¹, L. Lazaric Stefanovic², B. Hlevnjak Pastrovicchio³, A.M. Tortorano¹

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

2 Ospedale generale di Pola (Croazia)

3 Associazione Agroturist, Dignano (Croazia)

La resistenza agli azoli in *Aspergillus fumigatus* è riconosciuta come un problema emergente in tutto il mondo. La resistenza si può sviluppare nell'ambiente a causa dell'uso massiccio di fungicidi azolici in agricoltura ed il meccanismo di resistenza è principalmente correlato alla mutazione TR₃₄/L98H nel gene *cyp51A*, anche se negli ultimi anni sono stati evidenziati anche altre mutazioni quali TR46/Y121F/T289A e G54.

La presenza di *A. fumigatus* resistente agli azoli nell'ambiente è stata provata in diversi paesi europei, ma fino ad ora nessuno studio sembra essere stato condotto in Croazia. La Croazia, in particolar modo la regione dell'Istria, è ricca di coltivazioni di vite e di ulivo.

Con questo studio si è voluto verificare se anche in Croazia, specificatamente in Istria, ci fossero dei ceppi di *A. fumigatus* resistenti agli azoli nell'ambiente agricolo.

METODI. Campioni di terra, trattati secondo metodi descritti in precedenza (Appl. Environment. Microbiol 2009; 75: 4053), sono stati seminati su terreno agarizzato con e senza itraconazolo (4 mg / L) e incubati a 37° e 42 °C per 72 ore. Le colonie di *A. fumigatus* cresciute in presenza di itraconazolo sono state saggiate per la sensibilità ad itraconazolo, posaconazolo e voriconazolo mediante il metodo di microdiluzione in brodo (metodica EUCAST).

RISULTATI. Nell'autunno del 2017 sono stati raccolti 21 campioni di terra da 7 siti, tutti in Istria, zona di Vodnjan (Dignano). Quattro provenivano da coltivazioni intensive di ulivo e tre da vigneti. Sei appezzamenti erano stati trattati con diversi fungicidi, quattro di questi avevano ricevuto trattamenti con triazoli (propiconazolo, tebuconazolo, difenconazolo). Un uliveto era invece a coltivazione biologica (solo rame).

Da 8 dei 21 campioni (38%) sono cresciuti, su terreno selettivo contenente itraconazolo, ceppi di *A. fumigatus*. Il test di microdiluzione in brodo, per saggiarne la sensibilità, non ha però evidenziato nessuna effettiva resistenza. Sono quindi risultati tutti sensibili a itraconazolo (MIC range 0,5-1 mg/L), a voriconazolo (MIC 1-2 mg/L) e a posaconazolo (MIC 0,003-0,25 mg/L).

CONCLUSIONI. Da questo primo studio non emergono resistenze agli azoli nelle coltivazioni intensive di vite ed ulivo in Croazia, anche se trattate con triazoli. Lo studio si limita per ora solo ad una piccola area dell'Istria, interessante sarebbe proseguire esaminando una regione più ampia.

EPIDEMIOLOGIA DELLA CANDIDOSI PERITONEALE: STUDIO RETROSPETTIVO MONOCENTRICO NEL PAZIENTE NON NEUTROPENICO

F. Lallitto, P. Marone, C. Cavanna

U.O.C. Microbiologia e virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

INTRODUZIONE. La Candidosi Invasiva (CI) in pazienti con infezioni intra-addominali può presentarsi come candidosi intra-addominale isolata (CIA), candidemia isolata, o CIA con concomitante candidemia. L'epidemiologia globale non è chiara. Uno dei più ampi studi di prevalenza (EPIC II), condotti in 75 paesi, ha evidenziato che la *Candida* è il quarto isolato più comunemente responsabile dell'infezione nei pazienti in terapia intensiva (TI). La maggior parte degli studi riporta o CIA o candidemia isolata in pazienti con infezioni intra-addominali. Ci sono pochissimi studi che hanno riportato lo spettro completo di CI nelle infezioni intra-addominali.

La gestione della CIA è molto complessa. Le emocolture non rilevano tutti i casi di candidosi d'organo e le colture tissutali non sono sempre possibili in pazienti con sospetta infezione profonda.

Inoltre la *Candida* fa parte della normale flora del tratto gastrointestinale per cui non è ancora chiaro se la sua presenza in un campione intra-addominale possa avere un significato ai fini terapeutici. La mancanza di segni clinici caratteristici e di strumenti diagnostici efficaci ne rendono più difficile l'individuazione e possono ritardare l'avvio di una terapia antifungina adeguata, allungando significativamente i giorni di degenza, la potenziale morbilità e mortalità. Data la difficoltà ad avviare una terapia antifungina mirata la conoscenza dell'epidemiologia locale, con particolare riferimento all'individuazione di ceppi resistenti, può guidare correttamente la terapia antimicotica empirica iniziale. Sulla base di queste premesse è stato condotto uno studio retrospettivo monocentrico per valutare l'epidemiologia delle *Candida* isolate da liquido peritoneale in pazienti non neutropenici nella nostra realtà ospedaliera.

MATERIALI E METODI. Sono stati considerati 18 isolati di *Candida* ottenuti da campioni di liquido peritoneale inviati al laboratorio di Micologia dell'IRCCS Policlinico S. Matteo di Pavia nel periodo gennaio 2016- luglio 2018.

Gli isolati di *Candida* sono stati ottenuti previa semina su Sabouraud Dextrose Agar e Chrom ID (BioMérieux) e l'identificazione effettuata mediante l'analisi basata sulla spettrometria di massa (MALDI-TOF-MS) della Bruker Daltonics (Bremen, Germany).

I test di sensibilità antifungina sono stati eseguiti utilizzando il metodo Sensititre YeastOne colorimetric plates (TrekDiagnostic Systems, Cleveland, OH, USA). La sensibilità è stata definita in accordo con i breakpoint del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Sono stati calcolati i valori di MIC (Minimal Inhibitory Concentration) a cui il 50 e il 90% degli isolati sono stati inibiti (MIC50, MIC90).

In particolare i ceppi di *Candida glabrata* sono stati analizzati molecolarmente per valutare l'eventuale presenza di mutazioni nella regione target per le echinocandine (FKS1 HS1 e HS2).

RISULTATI. Durante gli anni considerati sono stati valutati i 18 ceppi di *Candida* isolati da 15 campioni provenienti da pazienti non neutropenici sottoposti a trattamento chirurgico (100% dei casi). 3/15 campioni presentavano isolamento fungino polimicrobico (*C. albicans* + *C. glabrata*) e il 73% mostrava

inoltre il riscontro di ceppi batterici.

Il 27% dei pazienti mostrava la stessa positività in altri isolati provenienti da drenaggi o tamponi ferita in sede addominale.

Nello stesso periodo di studio 187 casi di candidemia sono stati riscontrati presso il nostro centro. Solo in un caso è stata isolata la stessa specie di *Candida* sia dall'emocoltura che dal liquido peritoneale.

Candida albicans risulta essere la specie prevalente, rappresentando il 66.7% delle positività, seguita da *C. glabrata* (27.8%) e *C. tropicalis* (5.5%).

Tra le specie *C. non albicans* la ridotta sensibilità al fluconazolo, come mostrano i risultati delle MIC50 E MIC90, si è verificata in 5/6 ceppi isolati (Tab. 1).

Tab. 1

		MIC 50	MIC 90	MIC Range
<i>C. albicans</i>	Anidulafungin	0.06	0.12	0.015-0.12
	Caspofungina	0.06	0.12	0.03-0.12
	Micafungina	≤0.008	0.015	≤0.008-0.12
	Fluconazolo	0.25	0.5	0.12-1
	Voriconazolo	0.015	0.03	≤0.008-0.06
	Itraconazolo	0.06	0.12	0.015-0.12
	Posaconazolo	0.03	0.03	≤0.008-0.06
	5-Fluorocitosina	0.06	0.25	0.06-0.5
	Amphotericina	0.5	0.5	0.12-1
		MIC 50	MIC 90	MIC Range
<i>C. glabrata</i>	Anidulafungin	0.06	0.06	0.03-0.12
	Caspofungina	0.12	0.12	0.06-0.25
	Micafungina	0.015	0.015	≤0.008-0.015
	Fluconazolo	32	32	16-32
	Voriconazolo	0.5	0.5	0.25-1
	Itraconazolo	0.25	0.5	0.12-0.5
	Posaconazolo	0.5	0.5	0.25-1
	5-Fluorocitosina	0.06	0.06	0.06
	Amphotericina	0.5	0.5	0.25-0.5

Inoltre per quanto concerne la sensibilità alle echinocandine per *Candida glabrata* non sono state rilevate mutazioni nella regione FKS (Tab. 2).

Tab. 2

	HS1								HS2								
	641				649				1351				1358				
Amino acid position	F	L	T	L	S	L	R	D	P	N	I	A	P	A	V	D	W
<i>C. glabrata</i>	F	S
pgp1	F	S
pgp2	F	S
<i>C. glabrata</i>	F	S
pgp3	F	S
pgp4	F	S
pgp5	F	S

CONCLUSIONI. La vera differenziazione tra colonizzazione, contaminazione e infezione è difficile in CIA. I pazienti con colonizzazione progressiva persistente, sottoposti ad interventi chirurgici, portatori di device e all'uso prolungato di antibiotici a largo spettro sono a maggior rischio di CIA. Data la mancanza di uniformità nei criteri diagnostici risulta indispensabile la conoscenza del dato epidemiologico mirata soprattutto all'individuazione di eventuali resistenze. A tale proposito per quanto riguarda le echinocandine, farmaco di prima scelta per il trattamento delle candidosi invasive nel paziente non neutropenico, lo studio della regione target si rivela di estrema utilità in quanto, in particolare per *Candida glabrata*, la presenza di una mutazione FKS piuttosto che il valore di MIC rappresenta un fattore di rischio indipendente per il fallimento terapeutico.



VALUTAZIONE DEL SISTEMA INTEGRATO ELITE INGENIUS NEL RILEVAMENTO DI ASPERGILLUS SPP. DNA

C. Pozzi, A. Orlandi, S. Allaria, L. Greco, S.C. Uceda Renteria, A. Biffi, D. Guarneri, A. Grancini, G. Lunghi

Laboratorio di Analisi, Fond. IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy

OBIETTIVI. Aspergilloso è causa significativa di morbilità e mortalità in pazienti trapiantati d'organo o affetti da emopatie maligne. Nell'era dell'espansione in diagnostica dei metodi molecolari, le linee guida EORTC/MSG per la diagnosi ed il trattamento dell'aspergilloso indicano ancora metodi convenzionali come gold standard, limitando l'uso di PCR a causa della scarsità di standardizzazione nell'indicazione dei targets e dei protocolli. Noi abbiamo precedentemente mostrato che *Aspergillus spp.* ELITE MGB kit, un test molecolare specifico per *Aspergillus spp.* in un sistema aperto, raggiunge il 97% di specificità e il 90% di sensibilità in campioni di BAL. Tuttavia quando combinato con il test della ricerca dell'antigene galattomannano (GM) e le indagini colturali raggiunge il 99% di valore predittivo negativo (PNV). Strumenti integrati completamente automatizzati nella processazione dal campione ai risultati sono ora disponibili e rappresentano uno strumento potente per la standardizzazione dei metodi molecolari. Questo studio riporta i risultati sulla valutazione del kit *Aspergillus spp.* ELITE MGB associato ad ELITE In Genius per la ricerca di DNA di *Aspergillus spp.* in BAL e plasma di pazienti ad alto rischio di aspergilloso invasiva (AI).

METODI. *Aspergillus* ELITE MGB Kit associato a ELITE InGenius costituisce un sistema chiuso standardizzato da campione a risultato. Sonicazione, estrazione, amplificazione e interpretazione dei risultati sono eseguiti in un ambiente chiuso, usando reagenti sigillati in cartucce mono-test. Accanto alla riduzione delle contaminazioni, questa configurazione consente una completa standardizzazione della PCR fino al risultato finale. La verifica della performance analitica è stata condotta in BAL e plasma usando diluizioni seriali di spore di *Aspergillus fumigatus*. Le sospensioni utilizzate avevano un range tra 10^6 - 10^2 copie/mL, abbiamo inoltre verificato QCMD *Aspergillus spp.* EQA samples. I cut off negative e positive sono stati stabiliti su 139 campioni clinici. Le performance cliniche sono state valutate retrospettivamente su BAL (N=50), sottoposti per routine al test del GM e alla coltura, e plasma (N=89). Dati aggiuntivi clinici e radiologici sono stati usati per la stratificazione dei pazienti.

RISULTATI E CONCLUSIONI. *Aspergillus* ELITE MGB Kit associate a ELITE InGenius ha mostrato una sensibilità di 13 copie/mL e una linearità nelle misurazioni sia in BAL sia nel plasma in un range compreso tra 10^2 - 10^6 copie/mL. Il test ha confermato la diagnosi nel 98.56% dei casi (137/139) (Tab). I risultati discordanti sono in fase di valutazione. Pertanto *Aspergillus* ELITE MGB Kit associato ad ELITE InGenius fornisce un approccio standardizzato per la diagnosi molecolare dell'aspergilloso.

	BAL		Plasma	
	AI+	AI-	AI+	AI-
InGenius PCR +	9	0	5	2
InGenius PCR -	0	41	0	82

BIBLIOGRAFIA

M. Arvanitis et al. PCR in Diagnosis of Invasive Aspergillosis: a Meta-Analysis of Diagnostic Performance - *JCM* 52:3731-3742.
 A. Grancini et al Evaluation of Real Time PCR *Aspergillus spp.* In bronchoalveolar lavage samples *New Microbiologica* 41:67-70.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE DI *SCEDOSPORIUM APIOSPERMUM* IN UN CASO DI MYCETOMA ADDOMINALE IN UN LABRADOR

G. Calzavara¹, S. Agostini¹, A. Fassina¹, P. Badanetti¹, S. Ferro², S. Ormelli³, C. Falcaro³, P. Danesi³

¹ Ambulatorio Veterinario San Giorgio in Bosco, San Giorgio in Bosco (PD)

² Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Legnaro (PD)

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)

INTRODUZIONE. Funghi appartenenti al complex *Scedosporium/Pseudoallescheria* (SPSF) rappresentano patogeni emergenti nell'uomo e negli animali. Nel cane in particolare, *Scedosporium apiospermum* e *S. prolificans* sono causa di eumicetomi, keratomicosi e forme disseminate.

CASO CLINICO. Jack, cane Labrador di 2 anni, è stato presentato presso l'Ambulatorio Veterinario San Giorgio in Bosco, in Dicembre 2017 perché da circa 6 mesi presentava episodi di vomito e diarrea ricorrente, graduale perdita di peso e letargia. Alla visita clinica, si è evidenziata alla palpazione una massa in cavità addominale della grandezza di 20 cm. Alla laparotomia, una massa di circa 1 kg è stata asportata insieme ad una porzione di milza totalmente destrutturata e al linfonodo mesenterico. Il sospetto diagnostico principale era di neoplasia, ma i preparati istologici (H&E) dei rispettivi tessuti asportati evidenziavano numerosi aggregati di strutture settate, riferibili ad ife fungine, associate a grave infiltrato infiammatorio. **MATERIALI E METODI.** Dopo la diagnosi istologica, diversi prelievi biotici (ago aspirato) da milza e linfonodo, urine (prelevate per cistocentesi) e tampone rettale sono stati inviati all'UO di Micologia, lab. di Parassitologia dell'IZSVe per esame colturale (SDA a 30°C) e molecolare. I tessuti biotici e le sezioni da paraffinati sono stati analizzati mediante Real time PCR usando due coppie di primers su regione ITS1/2 e 26S rDNA (ITS5/ITS2 e 26-F/26-R). Le colture positive sono state identificate morfologicamente e confermate mediante PCR tradizionale (primers ITS1/ITS4). Tutti gli amplificati molecolari sono stati sequenziati per conferma tassonomica e analisi filogenetica. La suscettibilità agli antifungini *in vitro* è stata testata con Sensititre Yeastone (TREK's Sensititre®).

RISULTATI. Amplificati di ITS e 26SrDNA di rDNA fungino sono stati ottenuti sia da biopsie che da paraffinati. Le rispettive sequenze hanno evidenziato similarità del 99% con *Scedosporium apiospermum* quando confrontate su GenBank. La crescita di colonie di *S. apiospermum* in piastra (> 200UFC) ha evidenziato che il fungo nella milza era vitale. Le colture negative da urine e linfonodo hanno escluso la diffusione sistemica dell'infezione. Sulla base delle prove *in vitro*, il Voriconazolo (dose 4mg/kg BID) è stato somministrato come trattamento d'elezione.

FOLLOW UP. Jack ha presentato evidente remissione dei principali sintomi clinici in 2/3 settimane. Ulteriori indagini molecolari su prelievi biotici da milza a distanza di 2 e 4 mesi, hanno evidenziato persistente presenza di Dna di *Scedosporium* (PCR) ma le colture negative, suggerivano un buon andamento del trattamento. A luglio il trattamento è stato interrotto per diarrea e anoressia legate alla somministrazione del farmaco nel lungo periodo con remissione dei sintomi dopo sospensione. Un progressivo aggravamento delle condizioni cliniche del paziente ha fatto scegliere ai proprietari l'eutanasia.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI. I casi di eumicetoma canino riportati in letteratura sono rari e generalmente poco dettagliati. Nei cani la reale prevalenza è sicuramente sottostimata, in quanto il micetoma può essere erroneamente diagnosticato come neoplasia e le forme disseminate come aspergillosi. In casi clinici come quello descritto in questo studio, il sospetto di eziologia fungina è subordinato all'esame istologico. La diagnostica molecolare applicata sia al tessuto biotico che al tessuto paraffinato è un valido supporto per una corretta identificazione a livello di specie del patogeno, specialmente nei casi in cui non sia disponibile un ulteriore campione per (o non sia possibile eseguire) un esame colturale. La biologia molecolare ha inoltre il vantaggio di dare risposte in tempi brevi e di poter essere applicata a successivi prelievi biotici durante il monitoraggio del trattamento – in cui ci si aspetta un colturale negativo. La precoce identificazione dell'agente eziologico in vivo permette inoltre di ridurre i tempi di inizio della terapia più appropriata.

Questo lavoro è stato finanziato dal Ministero della Salute Italiano (RC IZSVE 01/2015)

VALUTAZIONE DEL TEST TURBIDIMETRICO β -GLUCAN WAKO PER LA DIAGNOSI DI CANDIDOSI INVASIVA

G. Lo Cascio¹, V. Cento², G. Lombardi³, A. Sorrentino¹, E. Cover¹, L. Naso¹, C.F. Perno³, G. Cornaglia¹

1 U.O.C. Di Microbiologia, Immunologia e Virologia, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona

2 Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia, Università degli Studi di Milano, Milano

3 S.C. Analisi Chimico cliniche e Microbiologia ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

INTRODUZIONE. La Candidosi Invasiva (CI) è la più comune Infezione Fungina Invasiva (IFI) nei pazienti non neutropenici. Una diagnosi rapida ed accurata è stato dimostrato che riduce la mortalità e morbilità nei pazienti coinvolti grazie all'ottimizzazione della terapia, e conseguente riduzione dei tempi di ospedalizzazione. La diagnosi si basa fondamentalmente sull'emocoltura, che però richiede vari giorni d'incubazione e comunque è noto che la sensibilità non supera il 70%. Per tale ragione sono stati ormai studiati vari biomarcatori per accelerare la diagnosi e inserirsi nella stewardship antimicotica. Le linee guida internazionali raccomandano l'uso di (1-3) β -D-Glucano (BG), un test con elevato valore predittivo negativo (NPV). Fino ad oggi tutti i dati di performance diagnostica del BG sono stati ottenuti utilizzando il saggio Fungitell. Dall'Aprile 2018 è stato lanciato in Europa un secondo test in grado di rilevare BG, il il Wako β -glucan test. I due test usano diversi standard di riferimento (pachiman verso lentinan) e differiscono nella tecnica di rilevazione, colorimetrica il primo, turbidimetrica il secondo.

OBIETTIVO. Valutare la performance diagnostica del kit Wako β -glucan test nella diagnostica di Candidosi Invasiva.

METODI IMPIEGATI. La rilevazione di BG è stata eseguita mediante il kit Wako β -glucan secondo le indicazioni del produttore. In breve 100 μ L di siero sono stati aggiunti a 900 μ L di soluzione pretrattante e sottoposti per 10 min a incubazione a 70°C; dopo raffreddamento in ghiaccio 200 μ L di siero trattato sono stati aggiunti al reagente LAL disidratato e inseriti in lettore di gelificazione (tossinometro MT-5500) a 37°C. La gelificazione del LAL è stata misurata per un massimo di 90 min. La concentrazione del BG del campione è stata calcolata comparando il risultato con una curva di calibrazione specifica per ciascun lotto e fornita dal produttore. I campioni sono stati considerati positivi, secondo indicazioni del produttore, se presentavano una concentrazione di ≥ 11 pg/mL (W11). Una seconda analisi ha valutato la performance considerando positivi valori di BG ≥ 6 pg/mL (W6).

La diagnosi di Candidemia invasiva è stata eseguita considerando solo i pazienti con emocoltura positiva (gruppo Emo+) e considerando anche i pazienti con cospicuo isolamento di *Candida* spp da un diverso sito anatomico (Emo-Altro+).

RISULTATI E CONCLUSIONI. Sono stati valutati 326 pazienti, 205 arruolati presso l'AOUI VR e 121 presso l'ASST Niguarda MI. I pazienti con emocoltura positiva per *Candida* spp. sono risultati 94, mentre 232 quelli con emocoltura negativa. Quattordici pazienti con emocoltura negativa hanno presentato coltura abbondantemente positiva da siti anatomici diversi (bile, biopsia, liquidi addominali, liquidi pleurici, ferite). Considerando soltanto i pazienti EMO+ il

test Wako ha mostrato una sensibilità del 73%, specificità 81%, VPP 61% e VPN di 88% considerato il cut off a 11 pg/mL. Considerando invece il cut off a 6 pg/mL si è ottenuta una sensibilità del 84%, specificità 68%, VPP 51% e VPN di 91%. Considerando anche il gruppo dei pazienti con multipli isolamenti di *Candida* anche da distretti anatomici diversi la performance del test ha evidenziato una sensibilità del 82%, specificità 71%, VPP 58% e VPN di 89%. Il test Wako si evidenzia come un buon sistema per la rilevazione di BG nel siero, ma il cut off di 11 pg/mL risulta troppo elevato: nella nostra valutazione il cut off di 6 pg/mL ha ottenuto risultati maggiormente soddisfacenti.

EVALUATION OF THE APPROPRIATENESS OF A SPECIAL DRUG REQUEST FORM FOR THE DISPENSATION AND USE OF ANTIFUNGALS

S. Lardo, D. Faliero, A. De Luca, L. Pavan, R. Murri, M. Fantoni

Policlinico Universitario Agostino Gemelli

BACKGROUND. An antibiotic restriction policy using a special drug request form. is one of the most widely used Antibiotic Stewardship strategies. Each year at Fondazione Policlinico Gemelli , a 1400-bed University Hospital in Rome, 70 cases of invasive candidiasis are diagnosed and about 600 patients receive antifungal therapy. At our centre a special drug request form for each patient receiving therapy with echinocandins, liposomal amphotericin B, posaconazole or voriconazole is requested.

MATERIALS/METHODS. Forms contain biographical data, information on diagnosis and duration of treatment; Infectious Diseases consultation and microbiological report in attachment is also requested. Since February 2017 we performed a baseline observational program to verify the prescriptive adequacy of antifungal therapy, by reviewing daily the request forms submitted to the Hospital Pharmacy. Since April 2017, an intervention plan with the active re-evaluation of patients receiving antifungal treatment (excluding Intensive Care Unit and Hematology/Oncology Departments) was implemented.

RESULTS. Forty-six percent of the prescriptions came from the Department of Internal Medicine, 11.9% from the Department of Surgery 19.6% from the ICU, and 22.4% from the Department of Hematology/Oncology. Drug request forms were found to be inappropriate in 81.3% of the cases (78.5% - ID consultation and microbiological report were absent; 2.1% - delayed submission of the form compared to the time of diagnosis;). We performed 14 interventions on 84 patients enrolled in the study from April to May 2017. A significant reduction in the median duration of antifungal therapy (12.6 days + 13.7 in the group without intervention at 7.4 + 5.6 in the intervention group; $p = 0.03$) and in the duration of caspofungin therapy (13.6 days + 12.0 in the non-intervention group at 4 + 2.7 in the intervention group; $p = 0.003$) were observed.

CONCLUSIONS. Our study showed significant issues related to the use of our special drug request form. On the other hand, an intervention aimed at re-evaluating the appropriateness of antifungal treatments is associated with a significant reduction in the duration of antifungals therapy, caspofungin in particular. According to the principles of Antibiotic Stewardship, strict use of restriction forms may be helpful to decrease inappropriate antifungal prescriptions, when combined with active re-evaluation of prescriptions.

IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF FIVE CANDIDA SPECIES TO PHOTODYNAMIC THERAPY USING CURCUMIN AS PHOTOSENSITIZER

Z. Pasquini¹, E. Marini², G. Magi², B. Facinelli², F. Barchiesi¹

¹ Università politecnica delle Marche, Dept Biomed Sci & Publ Hlth, Infectious Disease Clinic, Ancona, Italy

² Università politecnica delle Marche, Dept Biomed Sci & Publ Hlth, Microbiol Unit, Ancona, Italy

BACKGROUND. In the last years many studies have evaluated the antifungal activity of curcumin and its photodynamic proprieties for the inactivation of *Candida albicans*. However, there are no investigations that have evaluated specifically the response of the different *Candida* species to curcumin and photodynamic therapy (PDT). In this study we evaluate the in vitro susceptibility of *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* and *C. krusei* to PDT induced by light emitting diode (LED) using curcumin as photosensitizer.

MATERIAL/METHODS. The antifungal susceptibility was evaluated for 12 strains of *Candida* (three of *C. albicans*, three of *C. glabrata*, two of *C. parapsilosis*, two of *C. tropicalis* and two of *C. krusei*) using broth microdilution assay following the EUCAST guidelines. Suspensions of each *Candida* strain were treated with 10 curcumin concentrations (from 256 µg/ml to 0.5 µg/ml) and then incubated at 37°C in the dark for 20 min. PDT experiment was carried out by exposing the curcumin-treated *Candida* strain to 37.5 J/cm² LED cool white light fluences with a peak emission wavelength at 410 nm (Figure 1) for 30 minute. Control suspensions were treated only with curcumin concentrations and were not exposed to LED light. After 24 hours of incubation in the dark 50% inhibition of cell growth (MIC50) was measured at 595 nm by spectrophotometer both for control and treated suspensions.

RESULTS. Compared with the control group, we found a statistically significant reduction in MIC50 after PDT with curcumin for *C. albicans* (MIC50(curc + pdt) 14.0 µg/ml; MIC50(curc) 134.0 µg/ml; p 0.0064), *C. parapsilosis* (MIC50(curc + pdt) 2.9 µg/ml; MIC50(curc) 174.5 µg/ml; p < 0.0001), *C. glabrata* (MIC50(curc + pdt) 5.6 µg/ml; MIC50(curc) 32.0 µg/ml; p 0.0007) and *C. tropicalis* (MIC50(curc + pdt) 7.6 µg/ml; MIC50(curc) 256.0 µg/ml; p 0.031). *C. krusei* was the only *Candida* species that didn't show any difference between the control and the PDT group (MIC50(curc + pdt) 25.6 µg/ml; MIC50(curc) 35.2 µg/ml).

CONCLUSIONS. In this study PDT with curcumin proved to be effective for *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* and *C. tropicalis*, but not for *C. krusei*. The effects of curcumin alone and of the PDT on the different *Candida* species have shown a very high variability. For example the antifungal activity of curcumin alone was stronger for *C. glabrata* and *C. krusei*, but at the same time these two species showed the smallest MIC50 reduction after PDT. Furthermore PDT in most of the experiment did not show a gradual reduction of the fungal growth as curcumin alone but, once activated, immediately achieved the 100% inhibition of cell growth (MIC) in treated suspensions. At this point we don't know the underlying causes of this variability and further studies will be needed to understand them.

ENDOCARDITE DA *T. ASAHII*: CASO CLINICO E REVISIONE DELLA LETTERATURA**G. Zuglian¹, L. Signorini¹, D. Mangioni¹, A. Matteelli¹, M. Metra², F. Castelli¹**¹ UO Malattie Infettive, "Spedali Civili", Brescia² UO Cardiologia, "Spedali Civili", Brescia

INTRODUZIONE. Il ruolo patogeno di *Trichosporon* spp. è ben riconosciuto in pazienti con patologie onco-ematologiche. Viceversa, il suo ruolo nel paziente immunocompetente rimane indefinito.

OBIETTIVI. Riportiamo il caso clinico di un paziente con endocardite da *T. asahii* ed una revisione della letteratura relativa a casi precedentemente descritti di endocardite da *Trichosporon* spp.

CASO CLINICO. Paziente di 75 anni. In anamnesi protesi meccanica aortica posizionata nel 1981 per stenosi post-reumatica. A febbraio 2017 intervento di sostituzione secondo Bentall della radice aortica, dell'aorta ascendente e della valvola aortica per aneurisma aortico. A luglio 2017 il paziente veniva ospedalizzato per insorgenza di dolore epigastrico associato a febbre e profuse sudorazioni. All' ecocardiogramma trans-esofageo riscontro di ascesso e multiple vegetazioni mobili a livello della valvola aortica e della protesi vascolare. Veniva iniziata terapia antibiotica empirica per endocardite su valvola protesica. L'emocolture risultarono negative per germi e miceti. Per peggioramento delle condizioni cliniche, a settembre 2017 il paziente eseguiva nuovo intervento secondo Bentall per sostituzione delle protesi valvolari. Dal tessuto bioptico ottenuto in sede intraoperatoria veniva isolato *Trichosporon asahii*. Paziente in terapia con anidulafungina dal 12/09 al 23/10 associata per 10 giorni ad amphotericina B liposomiale, con successivo passaggio a fluconazolo 600 mg per os. Attualmente paziente in follow up cardiologico (ultima valutazione maggio 2018 con paziente in buon compenso emodinamico) ed infettivologico con prosecuzione di terapia antifungina (fluconazolo 400 mg secondo eGFR di 39 ml*min⁻¹).

DISCUSSIONE. *T. asahii* appartiene alla famiglia *Trichosporon* spp., che include circa 50 specie, di cui 16 con accertato ruolo patogeno. Nell'uomo vengono spesso isolate come organismo commensale a livello gastrointestinale e perianale. Tali funghi svolgono un ruolo patogeno in particolare in paziente onco-ematologici. De Almeida Junior e colleghi riportano 199 casi di infezioni invasive fungine provate da *Trichosporon* spp. dal 1994 al 2015, di cui 120 in pazienti con cause note di immunosoppressione e 25 neonati, con una mortalità stimata al 44%. In letteratura sono riportati 14 casi di endocardite da *Trichosporon* spp, tutti in pazienti immunocompetenti, ad eccezione di un paziente diabetico ed uno con cirrosi epatica. Il primo caso fu riportato nel 1978, l'ultimo nel 2015. In 10 pazienti l'agente eziologico apparteneva alla specie *T. ex beigellii* e *cutaneum*. Un solo caso è riportato per *T. asahii*. In 3 pazienti le valvole colpite dal processo infettivo erano native. Un paziente presentava abuso di droghe per via iniettiva, un paziente uno shunt porto-cavale e la valvola colpita fu la tricuspide, mentre il terzo paziente non presentava fattori di rischio noti per endocardite. Il tempo medio della complicanza infettiva dalla prima protesi valvolare è stato 3 anni, con un minimo di 10 mesi ed un massimo di 7 anni. Tutti i pazienti, oltre alla terapia antifungina, hanno subito un intervento chirurgico di rimozione delle valvole danneggiate, tranne un paziente che è de-

ceduto precocemente. Tre pazienti hanno avuto un esito favorevole. Dopo la sostituzione valvolare, un paziente ha continuato la terapia per 3 mesi, uno per un anno ed un paziente era ancora in terapia al momento della stesura del case report. I restanti sono deceduti o per complicanze legate all'intervento cardiocirurgico o per sepsi fungina.

CONCLUSIONE. Il ruolo di *Trichosporon* spp. come patogeno nel paziente immunocompetente è limitato. Tuttavia, può, soprattutto nei pazienti con valvole protesiche, dare un processo infettivo, per lo più tardivo, con elevata mortalità. Nei casi di infezione da *Trichosporon* spp., gli azoli rappresentano i farmaci di scelta. Tuttavia ulteriori studi sono necessari per definire la durata ottimale della terapia e l'eventuale associazione con altre molecole antifungine.

SEDE

MERCURE HOTEL PESARO CRUISER

Indirizzo: Viale Trieste 281 - Pesaro 61121 (PU)

Tel: +39 0721 388100 - Fax: +39 0721 388600

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA



Nadirex International Srl

Via Riviera 39 - 27100 Pavia

Tel +39 0382 525714/35 - Fax +39 0382 525736

info@nadirex.com - www.nadirex.com

QUOTE DI ISCRIZIONE AL CONGRESSO

	Entro il 01/08/2018	Dal 01/08/2018
Soci FIMUA*	€ 244.00	€ 305.00
	(€ 200.00+44.00 IVA 22%)	(€ 250.00+55.00 IVA 22%)
Non soci	€ 366.00	€ 427.00
	(€ 300.00+66.00 IVA 22%)	(€ 350.00+77.00 IVA 22%)
Specializzandi/Borsisti/ Dottorandi/Infermieri/ Tecnici di laboratorio	€ 183.00	€ 244.00
	(€ 150.00+33.00 IVA 22%)	(€ 200.00+44.00 IVA 22%)

* Solo per membri in regola con la quota di iscrizione alla Società FIMUA per l'anno 2018

L'ISCRIZIONE COMPRENDE

- Partecipazione ai lavori scientifici
- Kit congressuale
- Materiale Didattico
- Attestato di partecipazione e Attestato ECM
- Coffee break e Colazioni di lavoro come da programma
- Cena sociale venerdì 19 ottobre 2018

MODALITÀ D'ISCRIZIONE

Iscrizione online: www.nadirex.com

RICHIEDI ESENEZIONE IVA (Art. 10 comma 20 D.P.R. 637/72)

Gli Enti Pubblici che desiderano richiedere l'esenzione IVA sul pagamento della quota d'iscrizione di dipendenti sono tenuti a farne richiesta barrando e apponendo il proprio timbro nell'apposito spazio posto sulla scheda d'iscrizione. Non sono fiscalmente riconosciute richieste senza timbro. Non è possibile richiedere il rimborso dell'IVA e l'emissione della relativa nota di accredito a pagamento già avvenuto. Per motivi amministrativi non saranno convalidate le registrazioni accompagnate da quote errate o prive della dichiarazione richiesta.

MODALITÀ DI PAGAMENTO

Il pagamento della quota d'iscrizione potrà essere effettuata:

- Online sul sito: www.nadirex.com
- Bonifico bancario: intestato a Nadirex International S.r.l.
IBAN: IT48A03111130500000030112

Non si accettano iscrizioni senza il pagamento.

PROVIDER ECM NR. 265



Nadirex International Srl
Via Riviera, 39 - 27100 Pavia

ECM - EDUCAZIONE CONTINUA IN MEDICINA

L'evento è stato accreditato presso il Ministero della Salute per l'attribuzione dei crediti formativi.

Il congresso è rivolto alle seguenti figure professionali:

MEDICO CHIRURGO - Discipline: Interdisciplinare

VETERINARIO

BIOLOGO

TECNICO SANITARIO DI LABORATORIO BIOMEDICO

FARMACISTA

INFERMIERE

Rif. Evento nr. 265-227165 - nr. 13 crediti formativi

Partecipanti: 100

Si rende noto che, ai fini dell'acquisizione dei crediti formativi, è necessaria la presenza effettiva al 90% della durata complessiva dei lavori e almeno il 75% delle risposte corrette al questionario di valutazione dell'apprendimento. Non sono previste deroghe a tali obblighi.

NOTA BENE: Per regole ministeriali non sarà possibile erogare i crediti ECM ai partecipanti che non appartengono alle Figure Professionali e alle Discipline sopra elencate.

ATTESTATO ECM

Per ottenere i crediti ECM è necessario:

- Partecipare al 90% delle sessioni indicate nel programma
- Compilare la scheda anagrafica
- Compilare la scheda valutazione dell'evento
- Compilare il questionario di apprendimento e consegnarli alla Segreteria Organizzativa al termine del Congresso.

Il certificato ECM verrà inviato per posta all'indirizzo riportato sulla scheda anagrafica.

NOTE

A series of 25 horizontal dotted lines for taking notes.

CON IL CONTRIBUTO
NON CONDIZIONANTE DI

abbvie

