

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Διευθυντής: Καθ. Αθανάσιος Ζ. Τσακρής

Υποψήφιος Διδάκτορας Στέφανος Θ. Χαρπαντίδης

Τριμελής Επιτροπή:

1. Καθηγήτρια Βρυώνη Γεωργία (Επιβλέπουσα)
2. Επικ. Καθηγητής Μελετιάδης Ιωσήφ (Μέλος)
3. Επικ. Καθηγητής Γρηγορίου Σταμάτιος (Μέλος)

**«Επιδημιολογική μελέτη και έλεγχος ευαισθησίας κλινικών στελεχών
δερματοφυτών»**

Αν και μέχρι την αρχή της νέα χιλιετίας οι αναφορές για ανθεκτικά στελέχη δερματοφυτών ήταν σπάνιες, το πρόβλημα στις μέρες μας φαίνεται να παίρνει ανησυχητικές διαστάσεις. Στις αρχές του 2000, αναφέρονται οι πρώτες περιπτώσεις στελεχών *T. rubrum* που είναι ανθεκτικά στην τερμπιναφίνη. Το 2017, το πρόβλημα φαίνεται να παίρνει μεγαλύτερες διαστάσεις με την αναφορά περιπτώσεων. Σε χώρες όπως η Ινδία, οι ΗΠΑ, η Δανία, η Ελβετία και η Ιαπωνία απομονώνονται επιβεβαιωμένα στελέχη *T. rubrum* (με αλληλούχιση) ανθεκτικά στην Τερμπιναφίνη. Το 2018, ταυτοποιήθηκε στην Ινδία το *Trichophyton mentagrophytes* internal transcribed spacer (ITS) Type VIII, το οποίο εμφανίζει αντοχή στην Τερμπιναφίνη. Σε μία μελέτη των Siopi M. *et al* που πραγματοποιήθηκε στο Π.Γ.Ν. «Αττικών» βρέθηκαν στελέχη του *T. mentagrophytes* VIII και στη χώρα μας.

Σκοπός της παρούσης διδακτορικής διατριβής είναι:

- Η επιδημιολογική μελέτη των *Dermatophyte* spp. στον Ελλαδικό χώρο
- Η *in vitro* μελέτη της ευαισθησίας κλινικών στελεχών *Dermatophyte* spp. σε αντιμυκητικούς παράγοντες
- Αναζήτηση και ταυτοποίηση του *T. mentagrophytes* ITS VIII.

Πειραματικός Σχεδιασμός

- α) Συλλογή, καταγραφή και εμβολιασμός στα κατάλληλα θρεπτικά υλικά όλων των *Dermatophyte* spp. από το Νοσοκομείο «Α. Συγγρός», αλλά και από τη συλλογή του Εργαστηρίου Μυκητολογίας της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ.
- β) Μέθοδος διαλογής (προ στάδιο) για διαχωρισμό των Wild Type στελεχών από τα στελέχη με αντοχή σε αντιμυκητικούς παράγοντες. Τα φάρμακα τα οποία θα ελεγχθούν και θα μας βοηθήσουν στη διαλογή των ύποπτων στελεχών είναι η Αμορολφιλίνη (0,5 mg/L) , η Ιτρακοναζόλη (1,0 mg/L) και η Τερμπιναφίνη (0,125 mg/L). Οι παράγοντες θα είναι ήδη ενσωματωμένοι στις πλάκες ελέγχου, στις προκαθορισμένες συγκεντρώσεις.

- γ) Αποθήκευση όλων των στελεχών σε συνθήκες βαθιάς ψύξης (-70°C) για περαιτέρω έλεγχο.
- δ) Έλεγχος όλων των στελεχών που θα παρουσιάσουν αντοχή τουλάχιστον σε έναν από τους εξεταζόμενους παράγοντες με την πρότυπη μέθοδο μικροαραιώσεων σε ζωμό, σύμφωνα με την μεθοδολογία της EUCAST (E.Def 11.0).
- ε) Συλλογή κλινικών δεδομένων για τα στελέχη που εμφάνισαν επιβεβαιωμένη αντοχή τουλάχιστον σε έναν παράγοντα.
- στ) Μοριακός έλεγχος και χαρακτηρισμός των υπό έλεγχο στελεχών
- ζ) Μοριακός έλεγχος ύποπτων στελεχών *T. mentagrophytes* για την ταυτοποίηση του *T. Mentagrophytes* ITS VIII (*Trichophyton indotinaea* spp.).

“Epidemiology and antifungal susceptibility of *Dermatophyte* spp. Isolates”

PhD Candidate: **Charpantidis Stefanos**

Three Member committee

1. **Vrioni Georgia (supervisor)**
2. **Meletiadi Iosif (Member)**
3. **Grigoriou Stamatios (Member)**

Resistance in dermatophytes and particularly in *Trichophyton* spp. has recently emerged as a global public health problem. In the last few years, isolates of *T. rubrum* resistant to terbinafine are being reported. In 2017, non wild type isolates were reported in India, The USA, Denmark, Switzerland and Japan. In 2018, *Trichophyton mentagrophytes* internal transcribed spacer (ITS) Type VIII was identified in India. *Trichophyton mentagrophytes* VIII is resistant to terbinafine. Siopi *et al*, isolated *T. mentagrophytes* VIII in our country (Attikon University General Hospital).

Purpose of Thesis

- Epidemiology of *Dermatophyte* spp.
- In Vitro antifungal susceptibility of *Dermatophyte* spp.
- Molecular Identification of *T. mentagrophytes* ITS VIII.

Materials and Methods

- a) *Trichophyton* isolates from “Andreas Syggros” Hospital will be collected and inoculated. All isolated will also be identified by Molecular Identification.
- b) Non wild type isolates will be distinguished by using agar plates with antifungal agents. The concentration of the agents will be: amorolfine (0,5 mg/L) , itraconazole (1,0 mg/L) and terbinafine (0,125 mg/L).
- c) All isolates will be stored at -70°C.
- d) EUCAST broth microdilution reference methodology (E.DEF 11.0) will be performed to verify in vitro susceptibility.
- e) Clinical data will be collected for resistant isolates.
- f) Molecular identification of *T. Mentagrophytes* ITS VIII.
- g) Molecular Analysis of reduced susceptibility strains to terbinafine will be performed for SQLE gene mutations.