

Candida

CLASSE: *Deuteromycetes*

ORDINE: *Cryptococcales*

GENERE: *Candida*

SPECIE: *Candida albicans*
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida krusei
Candida tropicalis
Candida parapsilosis
Candida pseudotropicalis

da L.M. Prescott, J.P. Harley, D.A. Klein, 1996

Candida è un **commensale** della cute e delle mucose dei tratti gastrointestinali e urogenitali dell'uomo, ma è stato anche ritrovato nell'ambiente, in particolare sulle foglie, sui fiori, nell'acqua e nel suolo

Si conoscono circa 200 specie appartenenti al genere *Candida* ma solo il **10% di queste sono in grado di provocare malattie nell'uomo**

Le **CANDIDOSI** rappresentano una **PATOLOGIA DI TIPO OPPORTUNISTICO** quale conseguenza di un alterato rapporto ospite-micete

Specie di *Candida* isolate nei casi di candidosi

Specie	Percentuale
<i>Candida albicans</i>	61%
<i>Candida tropicalis</i>	17%
<i>Candida glabrata</i>	13%
<i>Candida parapsilosis</i>	6%
<i>Candida krusei</i>	1%
<i>Candida dublimensis</i>	1%
altre specie di <i>Candida</i>	1%

INFEZIONI DA CANDIDA

Il passaggio di *Candida* dalla situazione di commensalismo all'infezione è costantemente mediato da una serie di fattori favorenti

- **Fisiologici:** età infantile, gravidanza, dieta ricca di carboidrati, attività lavorativa in ambienti umidi, stato di macerazione cutanea
- **Patologici:** debilitazione, malassorbimento, diabete, neoplasie, emopatie, deficit immunologici, AIDS
- **Meccanici:** ustioni estese, traumi
- **Iatrogeni:** terapia antibiotica, antiblastica, steroidea, ospedalizzazione
- **Origine chirurgica:** resezioni intestinali, interventi a cuore aperto, cateterismo permanente, sondini, dispositivi protesici

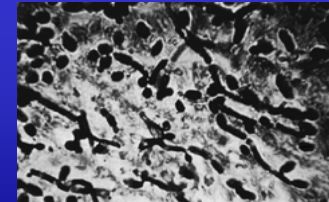
SUDDIVISIONE CLINICA DELLE CANDIDOSI

● SUPERFICIALE E LOCALIZZATA



lesioni interessano le mucose
candidosi orale, vulvovaginiti
lesioni interessano la cute
intertrigine
lesioni interessano le unghie
onicomicosi

● PROFONDA E DISSEMINATA



Candidosi esofagea. Preparato istologico

L'infezione può diffondersi dal primo focolaio infiammatorio ad altri organi e tessuti per via ematica o linfatica, dando luogo alle più svariate localizzazioni solitarie o multiple, con quadri clinici gravi o gravissimi (pneumopatie, pielonefriti, forme viscerali e sistemiche, etc.)

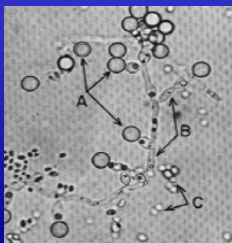
Candida albicans

Colonizza abitualmente le mucose e vive come commensale in equilibrio con altri microrganismi

Rappresenta il 60% delle infezioni da *Candida*

"un opportunisto di eccellenza"

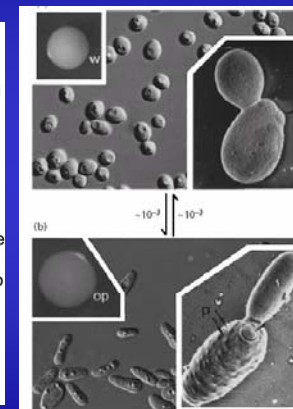
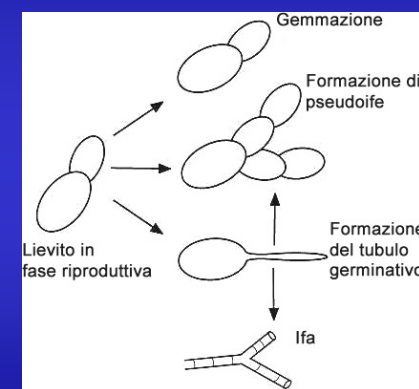
- È un **fungo dimorfo** ed entrambe le forme (blastospore e pseudomicelio) sono in grado d'invadere i tessuti
- Elude la risposta immunitaria modificandosi antigenicamente: **pleiomorfismo**



Varietà di forme strutturali
A = clamidospore
B = pseudoife
C = lieviti

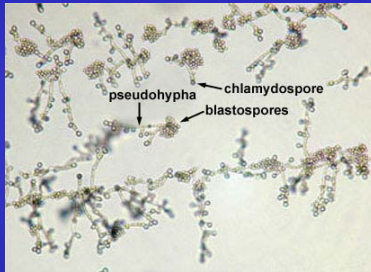


GEMMAZIONE



DIMORFISMO

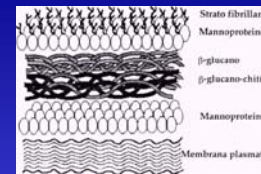
Capacità reversibile di *Candida* di presentarsi in forma di blastocellula, di pseudoifa o di ifa settata *in vivo* o *in vitro* in relazione alle diverse condizioni tissutali o colturali



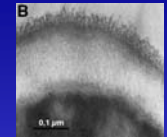
La conversione morfologica si accompagna a modificazioni quantitative nella composizione del cell wall, associate ad altre modificazioni qualitative nel profilo delle mannoproteine, nella struttura degli oligosaccaridi e di conseguenza, nella espressione di antigeni specifici.

Il passaggio intermittente dalla forma di lievito a quella filamentosa determina il **pleiomorfismo antigenico** invalidando la risposta immunitaria suscitata nell'ospite

PARETE CELLULARE



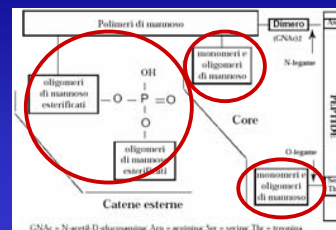
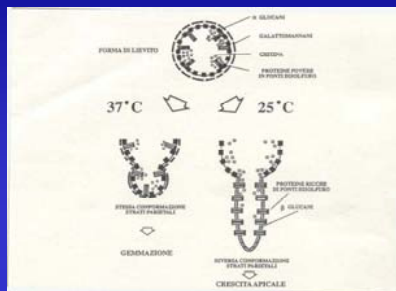
Struttura costante
Prevalentemente polisaccaridica
(circa 75% peso secco)



Componenti	(%)	Funzioni	Antigenicità
Glucano*	40-60	Rigidità e integrità cellulare	scarsa
Mannano**	20-23	Adesività	forte
Chitina***	1-2,7	Morfogenicità	
Proteine	3-6	Immunogenica, enzimatica	forte
Lipidi	2		

il cell-wall del lievito è indispensabile affinché il micete eserciti con successo la sua virulenza, in quanto stabilisce il **contatto tra micete e ospite**

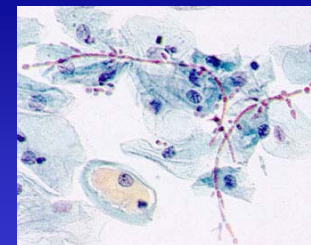
MANNOPROTEINE



Complesse glicoproteine contenente polimeri di mannosio

Rappresentano alcuni dei recettori di superficie che promuovono la **ADESIONE** e quindi la colonizzazione dei tessuti

In particolare le **GLUCOMANNOPROTEINE** sono differenzialmente espresse a seconda dello stato dimorfico di *Candida* e sono quindi responsabili della **VARIABILITÀ ANTIGENICA** tra specie diverse di *Candida* e tra biotipi appartenenti alla stessa specie



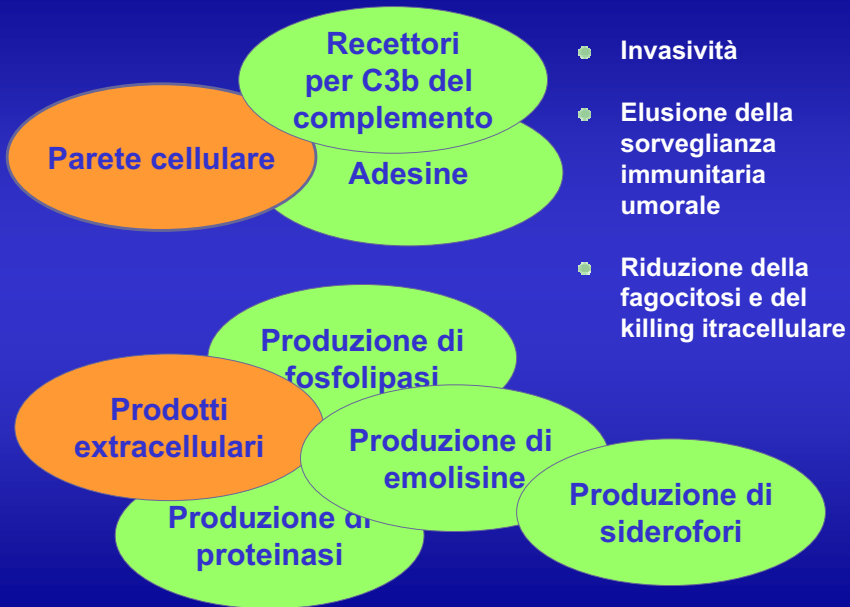
ADESIONE

VARIABILITÀ ANTIGENICA

INVASIONE

- Alcune adesine sono differenzialmente espresse a seconda dello stato dimorfico del fungo e quindi variazioni fenotipiche del lievito possono comportare variazioni nella sua adesività e nelle sue proprietà antigeniche
- La risposta dell'ospite, immunità cellulo-mediata e umorale, è estremamente complessa proprio per il susseguirsi di fenomeni di conversione fenotipica
- Ciò determina **INVASIONE** dei tessuti dell'ospite

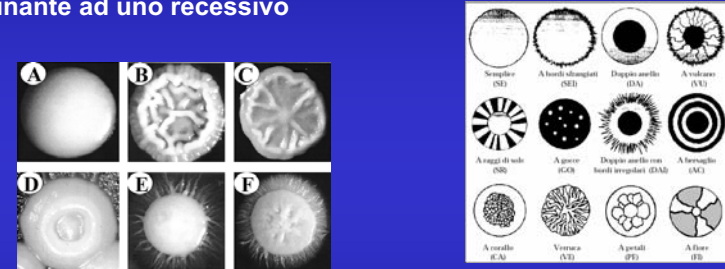
Principali fattori di virulenza



Switching fenotipico



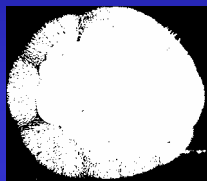
Capacità *in vitro* di alcuni ceppi di *Candida* di mutare in modo reversibile e con elevata frequenza da un fenotipo dominante ad uno recessivo



ASPETTI FONDAMENTALI DELLA VARIAZIONE FENOTIPICA

- Formazione spontanea anche di più fenotipi di colonie
- Reversibilità, ereditarietà e interconvertibilità del processo
- Frequenza maggiore di quella delle ordinarie mutazioni
- Aumentata frequenza in presenza di basse dosi di UV
- Significato non accertato nella patogenesi dell'infezione

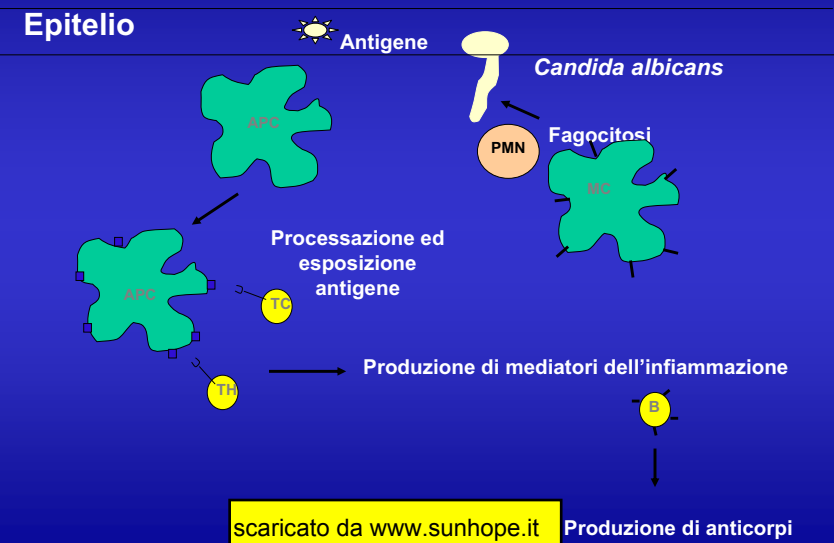
Switching fenotipico bianco – opaco di *Candida albicans*



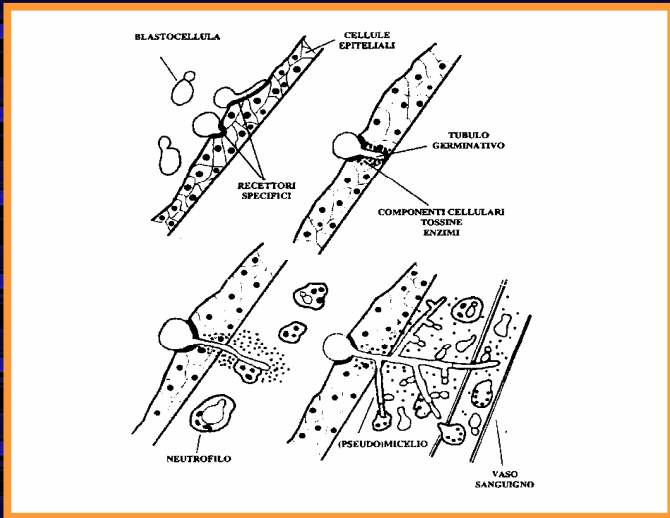
- In *vitro*: colonie formate da pseudoife
In *vivo*: cellule più adesive
- In *vitro*: colonie formate da blastocellule
In *vivo*: cellule meno adesive

- Variabilità nella secrezione di proteasi acida
- Differenze nell'adesione ed invasione
- Variabilità antigenica
- Modificazioni nella sensibilità ai neutrofili
- Diversa sensibilità ad antimicotici (polieni, 5-fluorocitosina, azoli)

Risposta immune



Patogenesi delle candidosi



Scaricato da www.sunhope.it

DIAGNOSI

- PRELIEVO
- ESAME DIRETTO
- ESAME INDIRECTO

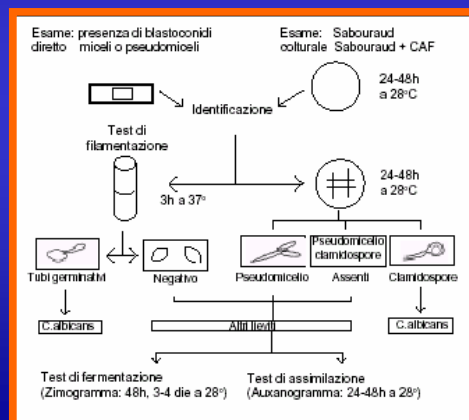
PRELIEVO

- Nelle infezioni superficiali mucocutanee il prelievo del materiale avviene, di norma, a livello delle sedi coinvolte, a seguito di raschiamento o mediante tampone sterile
- Nelle infezioni invasive e sistemiche oltre al prelievo di liquidi organici o di tessuti (biopsia) da sedi profonde clinicamente compromesse è indispensabile l'emocoltura e raccomandabile l'esame di altri materiali

ESAME DIRETTO

- Esame microscopico
- Ricerca colturale
- Antimicogramma

Schema di identificazione di *Candida*

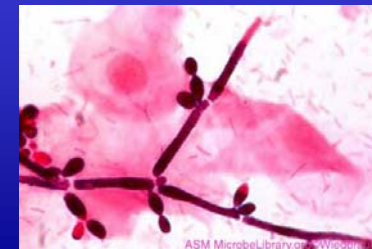


ESAME MICROSCOPICO



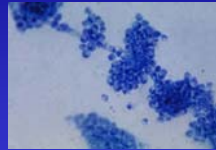
L'identificazione presuntiva di *Candida* spp. si basa anche sulla evidenziazione delle specifiche caratteristiche morfologiche delle diverse specie e precisamente:

- la presenza o meno di pseudo-ife o di ife vere
- grandezza e forma delle cellule lieviformi
- numero di gemme e adese alla cellula madre



Esame microscopico a fresco

Itrato di potassio (KOH) al 20%
 Serve a chiarificare i preparati di annessi cutanei dissolvendo la cheratina

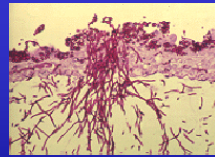
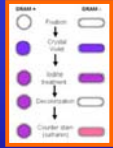


Lattofenolo blue cotton

Allo stesso tempo chiarificante e colorante l'acido lattico svolge un'azione chiarificante e il blu cotone colora le strutture fungine

Esame microscopico dopo colorazione

Colorazione di GRAM



Colorazione al PAS

Aspetto microscopico: blastospore gemmanti sferiche o leggermente ovali, delle dimensioni di 2,0-7,0 x 3,0-8,5 mm. Pseudoife ed ife vere nei tessuti parassitati.

Esame colturale

La prova diagnostica principale resta tuttora la **dimostrazione dell'agente etiologico** tramite esame colturale, sia perché tale esame può risultare positivo anche in caso di negatività della ricerca microscopica, sia perché quest'ultima non fornisce, salvo eccezioni, elementi certi per l'identificazione del micete

Per la coltura di primo isolamento il terreno solidi più utilizzato è l'**agar di Sabouraud** con l'aggiunta di cloramfenicolo e cicloeximide e con un pH di 5-6 Altri terreni di coltura adoperati di frequente in laboratorio sono il **Potato Dextrose agar (PDA)** o lo **Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD)** in cui è più evidente il fenomeno della variabilità fenotipica



Le colonie si possono presentare strutturalmente regolari o irregolari, a margini netti o frangiati, di aspetto lucido, cremoso o rugoso, di forma rotondeggiante o conica

Caratteri macroscopici e microscopici di specie *Candida*

Specie	Caratteri macroscopici	Caratteri microscopici
<i>C. albicans</i> *	colonie lisce, cremose, pastose	presenza di pseudoife (talora ife) con grappoli di blastoconidi a livello delle giunzioni; sviluppo di clamidospore a 25-30°. Test di germinazione: positivo
<i>C. tropicalis</i>	colonie cremose, lisce o irregolari con margini sfrangiati, centro arborescente, o con aspetto verrucoso e con doppia bordatura (7-10 gg.)**	blastoconidi isolati o a piccoli gruppi lungo le pseudoife; possibili ife vere
<i>C. parapsilosis</i>	colonie cremose, biancastre, lisce o corallifere con porosità e circonvoluzioni	blastoconidi isolati o a piccoli gruppi lungo pseudo-ife corte e ricurve, con possibili elementi ifali larghi (cellule giganti)
<i>C. krusei</i>	colonie piatte, ruvide, con frange miceliali	pseudo-ife con blastoconidi allungati ad albero ramificato

*= *C. stellatoidea* differisce da *C. albicans* per l'assimilazione del saccarosio
 **= presenza di pellicola superficiale in brodcotture

Cambiamenti fenotipici si verificano frequentemente in specie diverse di *Candida* e la somiglianza morfologica delle colonie non rende possibile differenziare le due specie nei comuni terreni di coltura

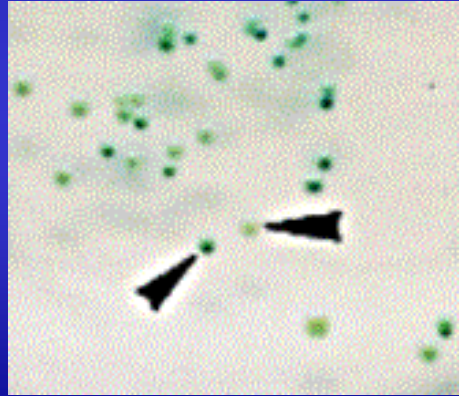
L' utilizzo di terreni cromogeni come il **CHROMagar™ *Candida*** a reso più semplice l'identificazione di specie



Candida dubliniensis

E' sempre più spesso isolata dal cavo orale di pazienti HIV-positivi ed è spesso implicata in casi di infezione ricorrente a seguito di terapia antimicotica.

In **CHROMagar™ Candida**, dopo 48 h di incubazione alla temperatura di 37° C le colonie di *C. albicans* un colore verde chiaro, mentre quelle di *C. dubliniensis* appaiono verde scuro,



Test di germinazione in siero

E' un saggio morfologico microscopico che viene abitualmente praticato e che consente di porre in evidenza la formazione di tubuli germinativi dopo 2-3 ore di incubazione a 37°C di cellule di *Candida*, provenienti da una colonia, in siero umano o bovino



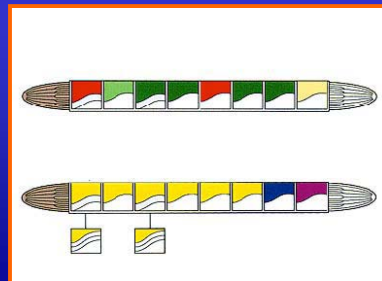
C.albicans e *C.stellatoidea* producono tubi germinativi senza restringimento nel punto d'origine, mentre *C.tropicalis* può presentare, anche se raramente, tubi germinativi con restringimento nel punto d'origine

Profilo biochimico

Lo studio della capacità di fermentare o assimilare carboidrati diversi rappresenta ancora oggi un mezzo particolarmente idoneo per l'identificazione di biotipi in diverse specie *Candida*

	GLU	MAL	SAC	LAC	XYL	TRE	DUL
<i>C.albicans</i>	+	+	+		+	+	
<i>C.stellatoidea</i>	+	+			+	+	
<i>C.tropicalis</i>	+	+	+		+	+	
<i>C.parapsilosis</i>	+	+	+		+	+	
<i>C.lusitanae</i>	+	+	+		+	+	
<i>C.guilliermondii</i>	+	+	+		+	+	+
<i>C.pseudotropicalis</i> +			+	+		+	
<i>C.krusei</i>	+						
<i>C.lipolytica</i>	+				+		
<i>C.zeylanoides</i>	+						+

Test di assimilazione di composti di carbonio



MYCOTUBE

Mediante un contenitore a penna diviso in scomparti, vengono insemenzati simultaneamente 8 substrati. La lettura avviene dopo 24-48 ore di incubazione a 35°C mediante decodifica di un codice numerico

BIOTIPIZZAZIONE MOLECOLARE

I caratteri genotipici di numerosi ceppi di *Candida* sono oggi studiati grazie all'impiego di tecniche di biologia molecolare

Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

L'impiego della tecnica di elettroforesi a campi elettrici alternati evidenzia l'esistenza di cariotipi differenti all'interno della stessa specie

Studio delle sequenze dei geni 16S e 23S dell'RNA ribosomico.

L'rDNA contiene regioni altamente conservate ma anche sequenze variabili il cui tasso di mutazione rimane costante nel tempo e ciò ne permette l'utilizzo a fini tassonomici, per la definizione su base genetica di generi e specie.

Restriction Fragments Length Polymorphism Analysis (RFLP)

Analisi di lunghezza e polimorfismo di frammenti di DNA prodotti da enzimi di restrizione

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Analisi di polimorfismo del DNA amplificato in Polymerase Chain Reaction (PCR) casualmente

ESAME INDIRETTO

Ricerca di anticorpi specifici

La sierodiagnosi si utilizza quasi esclusivamente in caso di micosi profonde

Essa si serve di antigeni somatici o cellulari, di antigeni metabolici e di estratti citoplasmatici, nonché di antigeni rappresentati da mannano del cell-wall

METODI DI DETERMINAZIONE

- Immunoprecipitazione
- Immunofluorescenza indiretta
- Emoagglutinazione passiva
- Sistemi ELISA
- Sistemi RIA

Antimicogramma



La resistenza ai farmaci antifungini, molto meno frequente che nei batteri, si può sviluppare come risposta ad una pressione selettiva esercitata dall'uso di farmaci a dosaggi inappropriati.

In questi casi si selezionano mutanti che hanno modificato sia la fisiologia che il corredo genetico.

Nelle cronicizzazioni e nelle recidive, in cui può rendersi necessaria una terapia di mantenimento, deve essere sempre preso in considerazione anche il rischio potenziale della comparsa di fenomeni di resistenza ai farmaci.

TERAPIA

I farmaci antimicotici comprendono sia agenti topici che sistemici. La scelta del trattamento dipende da svariati fattori, inclusi tra gli altri, il trattamento contemporaneo con altri farmaci, la presenza di alterazioni della funzionalità epatica e la tollerabilità del paziente.

La scelta dell'antimicotico da utilizzare per via generale risulta problematica in relazione alle strette affinità morfologiche e funzionali tra le cellule fungine e animali.

FARMACI TOPICI

Derivati antibiotici polienici: **nistatina amfotericina B**

Derivati imidazolici: **econazolo miconazolo clotrimazolo**

La loro funzione è di alterare la permeabilità della parete fungina con conseguente perdita di ioni K^+ e morte cellulare

FARMACI SISTEMICI

Derivati imidazolici idrosolubili: **chetoconazolo fluconazolo itraconazolo**