

# **Funghi: caratteristiche generali**

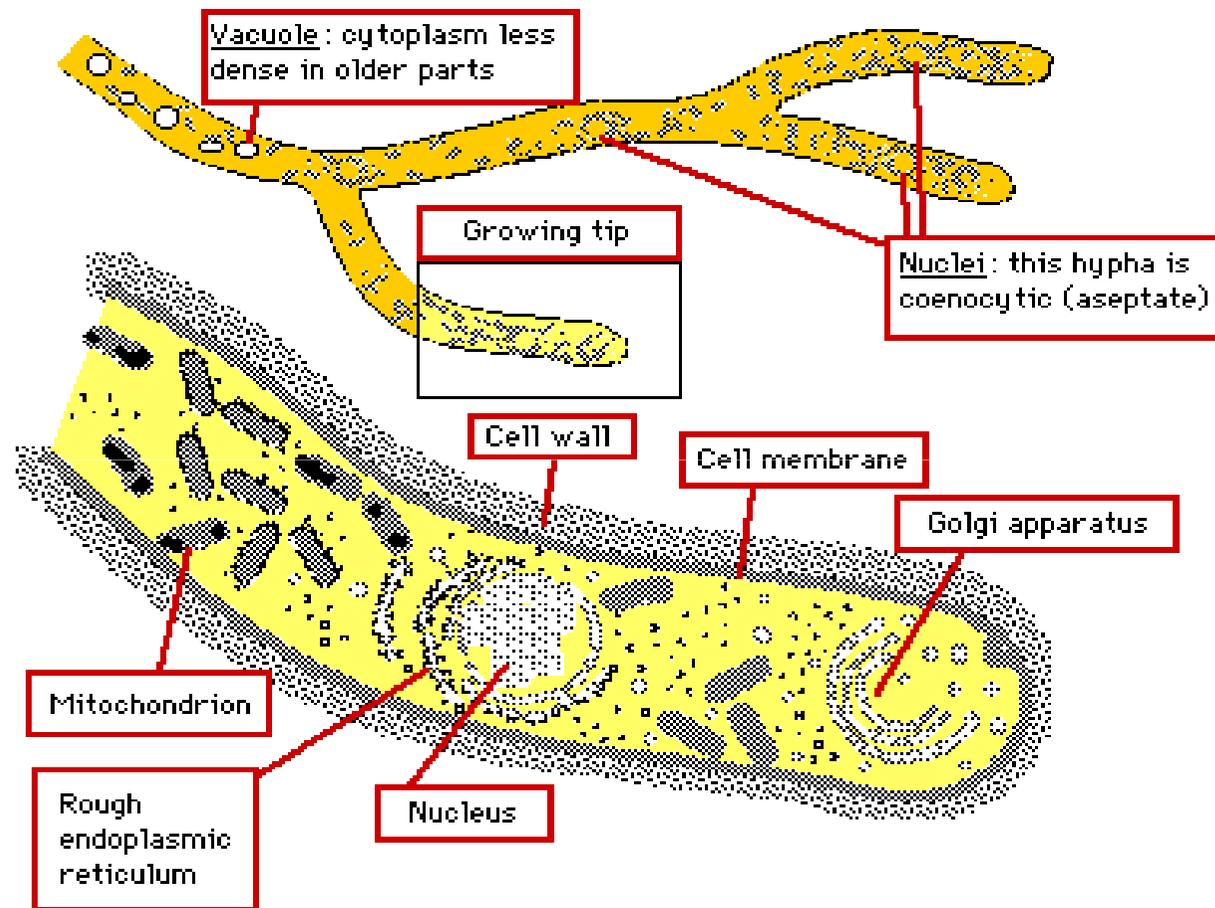
G. Di Bonaventura  
Università "G. D'Annunzio" di Chieti-Pescara

# Funghi

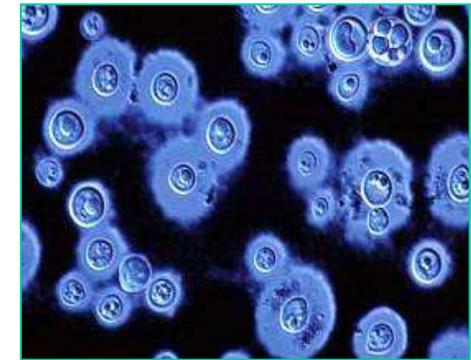
- Inizialmente classificati nel Regno *Plantae*, costituiscono il Regno dei *Myceteae* (*mykes* = fungo), uno dei cinque Regni del mondo vivente (*Monera*, *Protista*, **Funghi**, *Plantae*, *Animalia*)
- Eucarioti, non contengono clorofilla, producono spore e strutture filamentose
- Distribuzione ubiquitaria (suolo, acqua)
- Aerobi obbligati o facoltativi
- Importante ruolo nel ciclo energetico C-N
  - saprofiti: decompongono il materiale organico non vitale in nutrienti inorganici solubili (saprofiti)
- Delle oltre 250.000 specie fungine, 250 circa sono patogene per l'uomo

# Funghi: cellula eucariotica

- Dimensioni:
  - 10-15  $\mu\text{m}$  (vs batteri: 0.8-5  $\mu\text{m}$ )
- Assenza di capsula:
  - unica eccezione: *Cryptococcus neoformans*
- Parete cellulare:
  - maggiormente ispessita e rigida (vs parete batterica)
  - assenza di peptidoglicano e acidi teicoici (insensibili a  $\beta$ -lattamici)
  - polisaccaridi (75%; chitina, cellulosa) + proteine (20%) + lipidi (5%)
  - presenza di melanina (in funghi "dematiacei")
- Membrana cellulare:
  - presenza di steroli (vs membrana batterica, tranne che in *Mycoplasma*) a funzione "stabilizzante"
- In sede citoplasmatica, presenza di:
  - sistemi di membrane (reticolo endoplasmico, mitocondri)
  - ribosomi 80S
  - nucleo ben definito
- Assenza di strutture per la locomozione
- Disponibilità di pochi (vs batteri) sistemi per attaccare le cellule ospiti

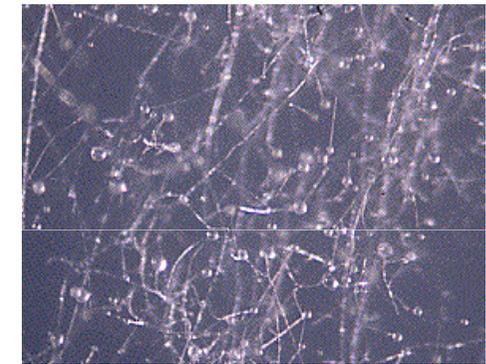


# Funghi: morfologia



1. Lieviti

2. Funghi filamentosi (ifomiceti o muffe)



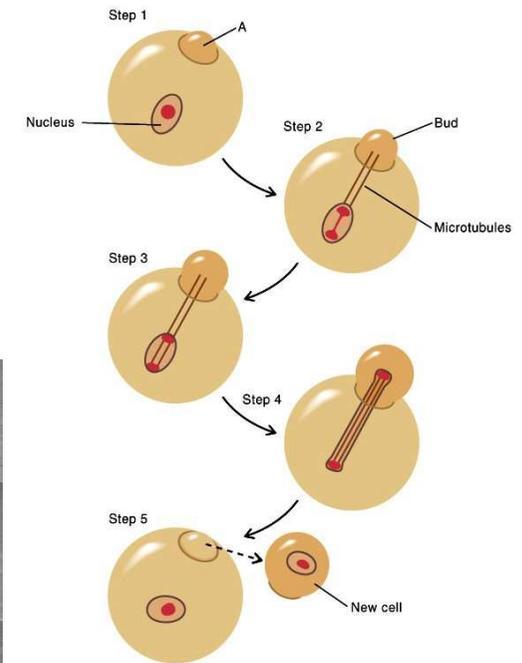
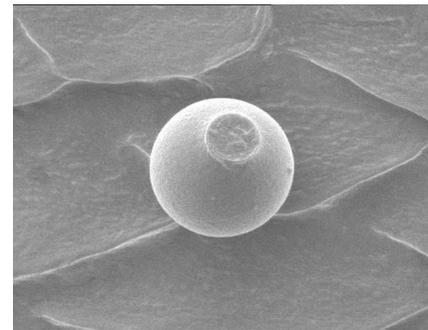
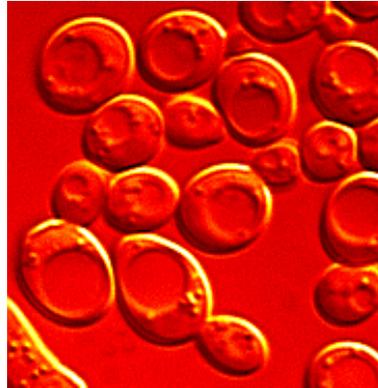
▪ Funghi dimorfici (crescono come lieviti o muffe a seconda delle condizioni ambientali):

- ✓ lieviti (37°C)
- ✓ muffe (25°C)

Fungus	In vitro (25° C)	In vivo (37° C)
<i>Blastomyces</i>	Mold	Yeast
<i>Coccidioides</i>	Mold	Spherule
<i>Histoplasma</i>	Mold	Yeast
<i>Paracoccidioides</i>	Mold	Yeast
<i>Sporothrix</i>	Mold	Yeast

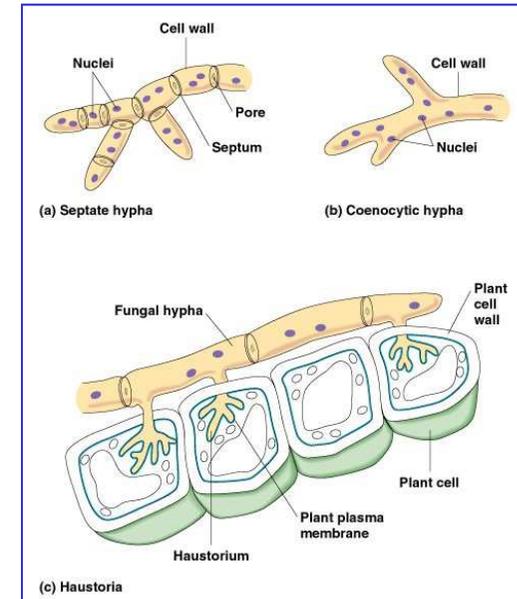
# Lieviti

- Unicellulari
- Sferici, ellissoidali (ovalari)
- Dimensioni: 4-5 (fino a 20)  $\mu\text{m}$
- Riproduzione:
  - Gemmazione (+ frequente)
    - gemma (cicatrice di gemmazione)
    - pseudoifa (*Candida spp.*)
  - Fissione binaria
    - una cellula madre si divide in due cellule figlie
    - simile a quella batterica
  - Sporulazione
    - asessuata (avviene ripetutamente; importante per la riproduzione e propagazione della specie)
    - sessuata (rara)
- Colonie:
  - grandi (1-3 mm), margine regolare, color crema

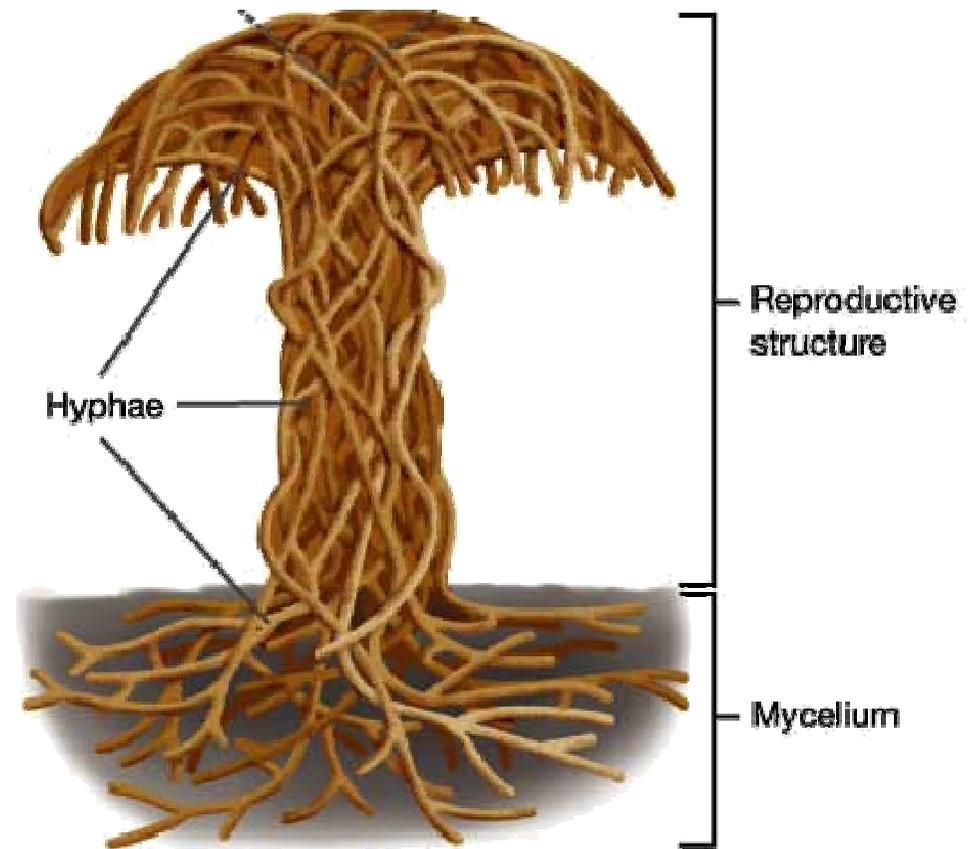
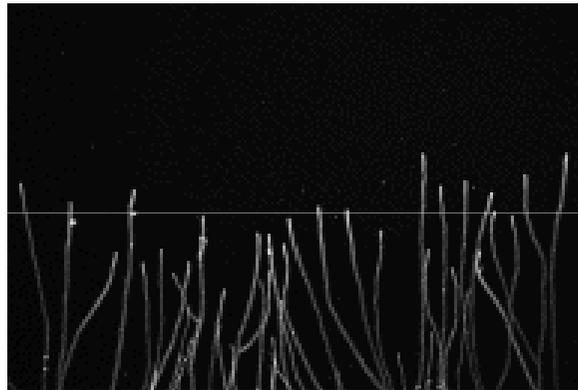


# Funghi filamentosi (muffe)

- Multicellulari
- Composti da **ife**
  - strutture filamentose e tubuliformi (l: 5-50  $\mu\text{m}$ ; d: 2-10  $\mu\text{m}$ )
  - accrescimento apicale
- Alcune ife sono suddivise in compartimenti da pareti (**setti**) trasversali porose:
  - ife settate (almeno 1 nucleo per compartimento)
  - ife asettate o cenocitiche (nuclei liberi nel protoplasma)
- L'accrescimento e la ramificazione delle ife forma il **micelio**, organizzato in:
  - parte vegetativa (ife vegetative o ife substrato, anucleate, localizzate sul/nel substrato per ottenerne i nutrienti)
  - parte riproduttiva (ife aeree, parte cotonosa delle muffe)



# Funghi filamentosi (muffe)



# Modalità di riproduzione

La riproduzione avviene attraverso:

1. il trasporto di frammenti del tallo (corpo vegetativo)
2. la formazione di organi specializzati destinati alla:
  - **Riproduzione vegetativa** (asessuata), mediante produzione di spore asessuate
  - **Riproduzione sessuata**, mediante organi maschili e femminili che formano spore sessuate

Ogni elemento di disseminazione che proviene dalla riproduzione sessuata od asessuata prende il nome di **spora**. Importante elemento tassonomico per l'identificazione dei miceti.

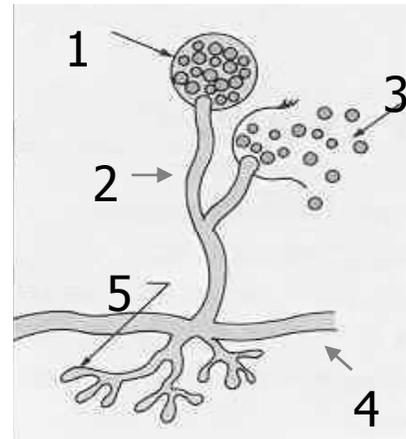
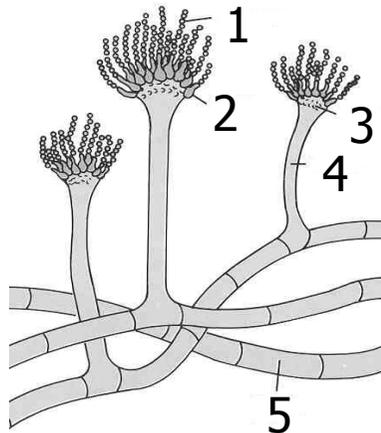
Nel ciclo vitale di un fungo, le due modalità di riproduzione, sessuata ed asessuata, possono essere entrambe presenti, escludersi od alternarsi.

# Funghi – riproduzione

## Sporulazione asexuata

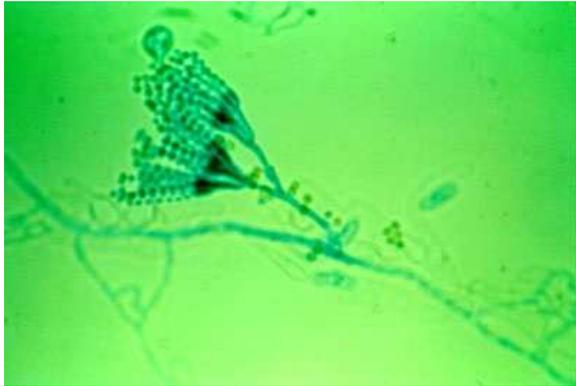
- Nei Funghi Imperfetti (Deuteromiceti) è l'unico tipo di sporulazione (manca quella sessuata)
- Produzione di spore asexuate (mitospore):
  - In strutture specializzate derivanti dalle ife:
    - Conidi (prodotte dai **conidiofori**)
    - Sporangiospore (prodotte nello **sporangio** sacculiforme)
  - Per modificazione delle ife (tallospore):
    - Artrospore (cilindriche, a parete spessa, prodotte per frammentazione dell'ifa)
    - Clamidospore (a parete ispessita, prodotte dal rigonfiamento di un tratto ifale)
    - Blastospore (prodotte per gemmazione di una cellula parentale, possibile formazione di pseudoife)

1. Conidiospore
2. Fialidi
3. Vescicola
4. Conidioforo
5. Ife settate



1. Sporangio
2. Sporangioforo
3. Endospore
4. Ife non settate
5. Rizoidi

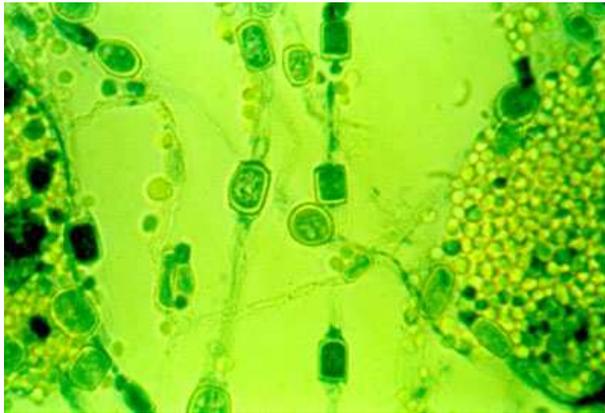
# Spore asexual (mitospore)



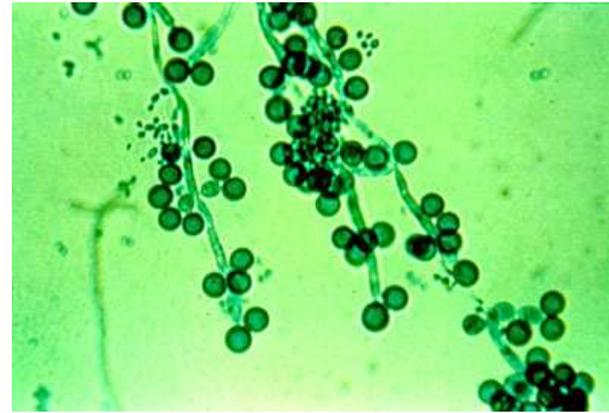
conidi



sporangiospore



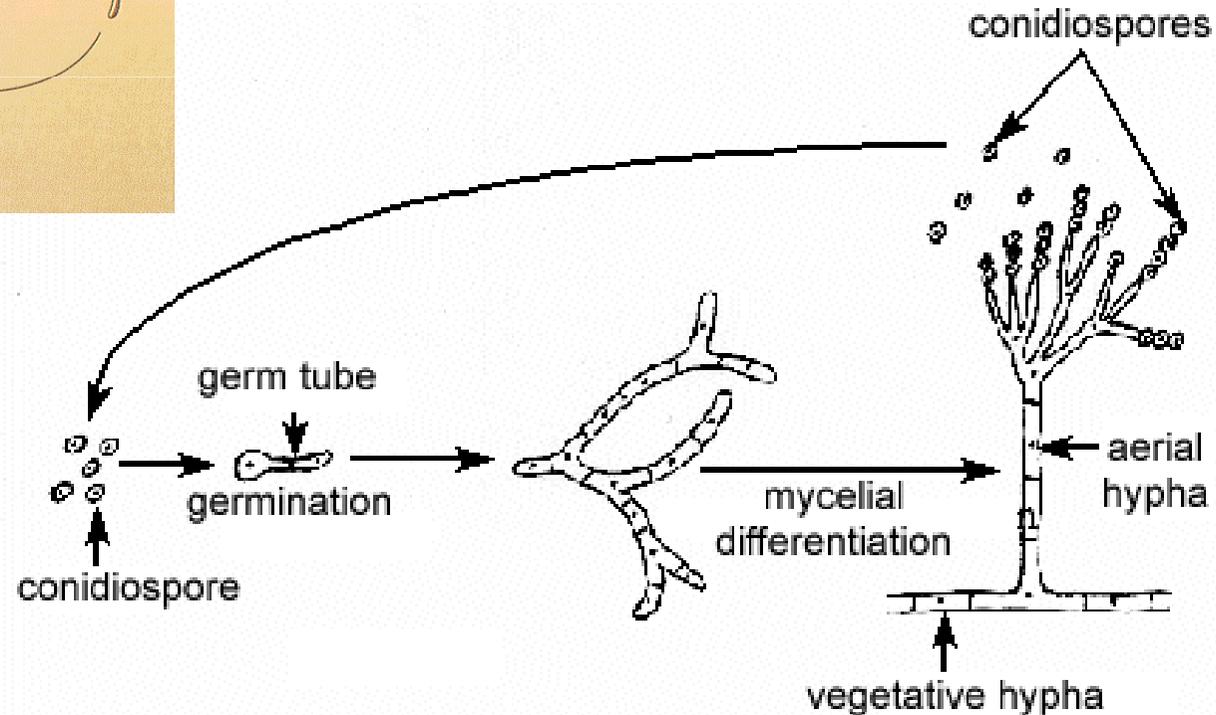
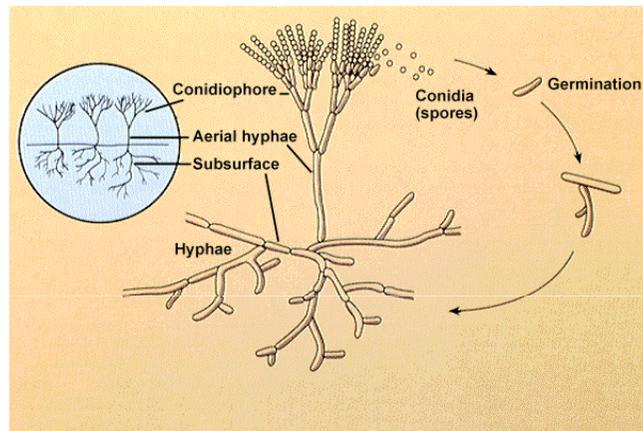
artrospore



clamidospore

# Riproduzione a sessuata

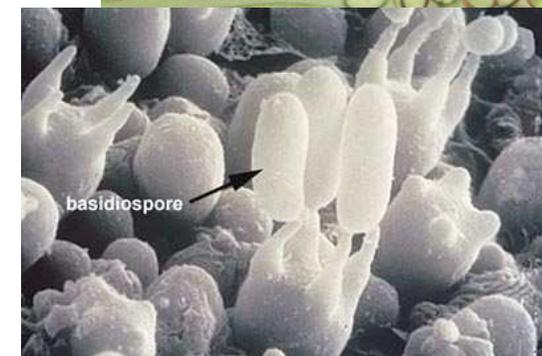
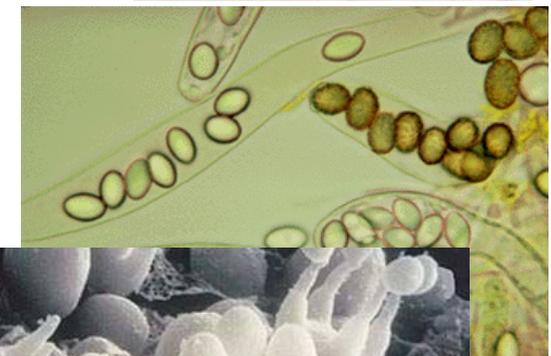
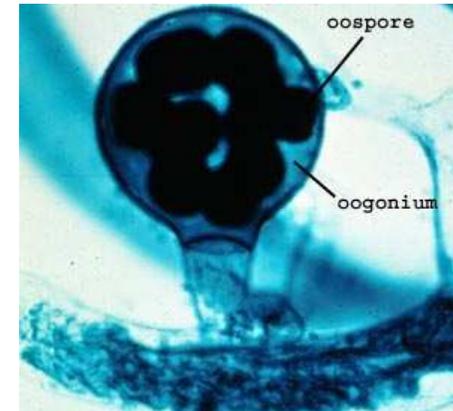
## *Penicillium spp.*



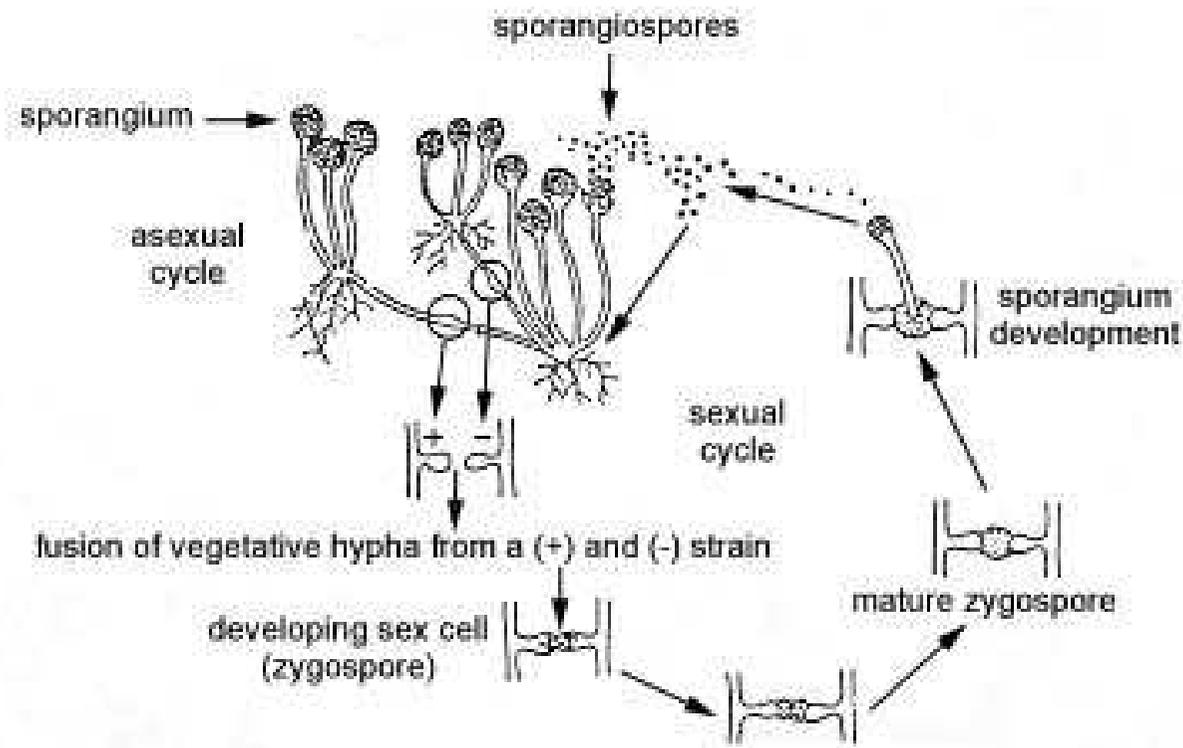
# Funghi – riproduzione

## Sporulazione sessuata

- Chiamata anche “stato perfetto”
- Raramente presente nell’ospite od *in vitro*
- Plasmogamia + cariogamia + meiosi
- Produzione di spore sessuali:
  - **Oospore** (derivano dalla fecondazione di una struttura femminile – **oogonio** – da parte di una cellula maschile - **anteridio**)
  - **Zigospore** (fecondazione eterotallica ifa+/ifa- a formare una singola spora a parete spessa)
  - **Ascospore** (formate all’interno dell’**asco**, racchiuso in un corpo fruttifero o **ascocarpo**, variabile per forma e dimensione)
  - **Basidiospore** (formate nella parte finale di una struttura chiamata **basidio**; tipica dei funghi eduli e di grosse dimensioni)



# Riproduzione asexuata/sexuata *Zygomycetes*



# Classificazione esemplificativa dei principali patogeni fungini

Tassonomia basata sulle strutture della fase sessuata:

1. *Ascomycetes*\* – riproduzione sessuata mediante ascospore.
2. *Basidiomycetes* – riproduzione sessuata mediante basidiospore.
3. *Zygomycetes* – riproduzione sessuata mediante zigospore; (riproduzione asexuata mediante sporangiospore).
4. *Deuteromycetes*\* (Funghi Imperfetti) – riproduzione sessuata ignota; (riproduzione asexuata mediante conidi).

\* Maggior parte di micosi umane

# Malattie Fungine

## 1. Malattie da Ipersensibilità

- Reazione allergica a spore e muffe:
  - Polmonite da ipersensibilità

## 2. Micotossicosi

- Intossicazione secondaria ad ingestione di funghi che producono tossine:
  - Alcaloidi dell'ergotamina
  - Aflatossine (metaboliti bisfuranocumarinici prodotti da *Aspergillus flavus*)

## 3. Infezione

# **L'INSTAURARSI DI UNA INFEZIONE FUNGINA DIPENDE DA:**

1. Resistenza (o sensibilità) dell'ospite
2. Dimensioni dell'inoculo
3. Virulenza fungina

# “Resistenza” naturale all’infezione

- **La maggior parte delle infezioni fungine viene contratta da sorgenti esogene/ambientali** -  
Teoricamente, tutti i funghi patogeni per l’uomo vivono nell’ambiente con una diffusione ubiquitaria (suolo, acqua)
- **Pochi patogeni franchi; per lo più opportunisti** –  
I funghi patogeni esibiscono generalmente un basso potenziale patogeno, poiché gran parte dei soggetti possiede una elevata resistenza all’infezione:
  - immunità cellulo-mediata (fagociti, neutrofili) ed umorale (opsonizzazione fungina)
  - cute: integrità, pH, turnover epiteliale, flora batterica commensale, contenuto in acidi grassi
  - le superfici mucose ostacolano la colonizzazione fungina
  - fattori umorali (transferrina) limitano la crescita fungina

# “Sensibilità” all’infezione

- **Fattori di rischio:**

- Ustioni, impianti protesici, lesioni da oggetti taglienti
- Alterazioni della normale flora batterica intestinale (secondaria a terapia antibiotica a spettro esteso)
- Alterata (ridotta) risposta immune dell’ospite dovuta a:
  - patologie preesistenti (diabete mellito scompensato, AIDS)
  - iatrogena (terapia citotossica, radioterapica, steroidea, immunosoppressiva)

# Infezioni fungine

- Ospite **NORMALE**
  - Patogeni sistemici  $\approx$  25 specie
  - Patogeni cutanei  $\approx$  33 specie
  - Patogeni sub-cutanei  $\approx$  10 specie
- Ospite **IMMUNOCOMPROMESSO**
  - Patogeni opportunistici  $\approx$  300 specie

# PATOGENICITA' DEI FUNGHI

## 1. Capacità di sopravvivere nei tessuti

- Dimorfismo muffa-lievito (*Histoplasma spp*, *Coccidioides spp*, *Blastomyces spp*, *Sporothrix spp*)
- Dimorfismo lievito-pseudoifa (*Candida spp*)

## 2. Capacità di contrastare le difese dell'ospite

- Sopravvivenza intrafagocitaria, neutralizzando l'azione degli enzimi lisosomiali (*C. immitis*, *H. capsulatum*)

## 3. Produzione di tossine ed enzimi

- Rilascio di cheratinasi (Dermatofiti), fosfolipasi (*C. albicans*)

## 4. Presenza di capsula (*Cryptococcus neoformans*)

## 5. Termotolleranza (22-35°C)

# VIE DI INGRESSO

- Inalazione (istoplasmosi, coccidiomicosi)
- Ingestione (funghi eduli)
- Transcutanea (sporotricosi)
- Virulentazione di funghi saprofiti sulle superfici muco-cutanee dell'uomo (*Candida albicans*)

VIE RESPIRATORIE

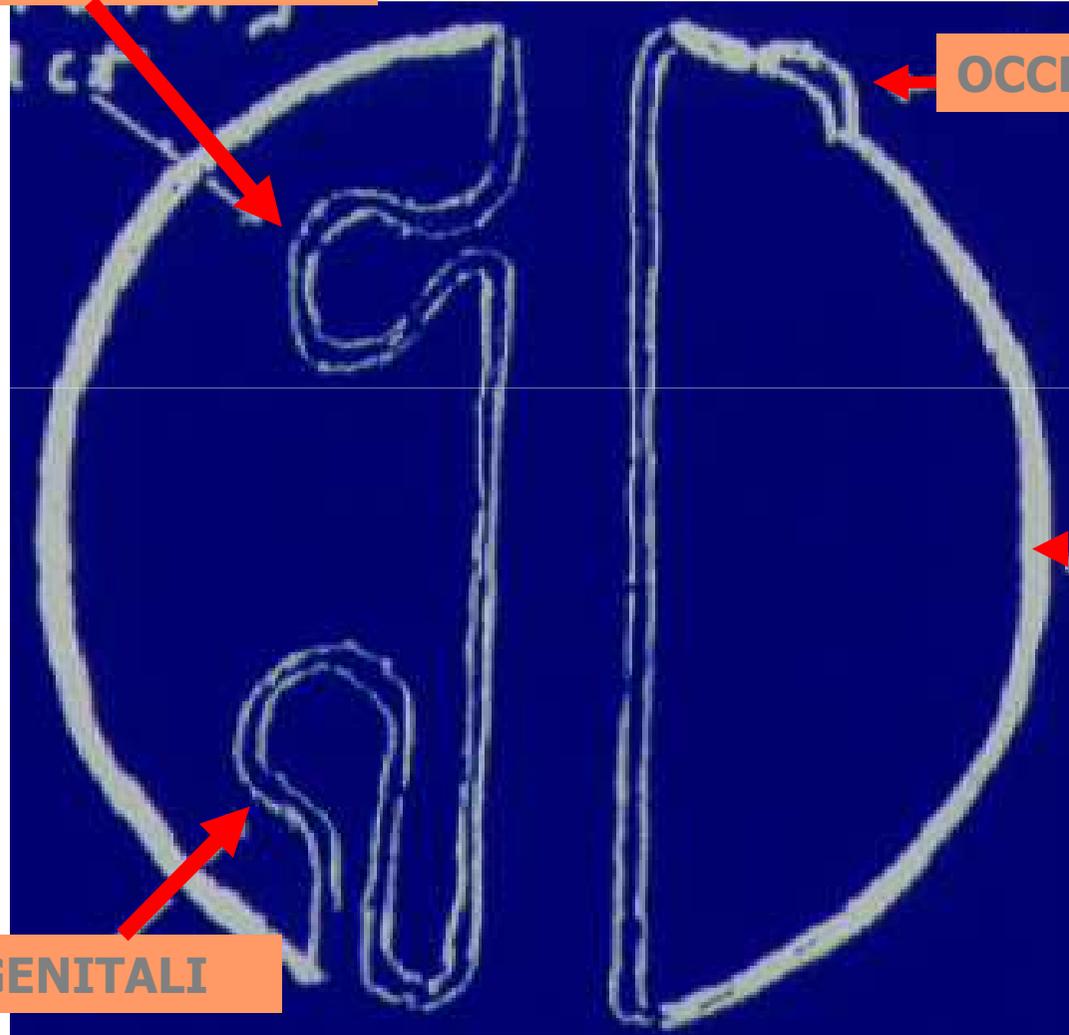
BOCCA

OCCHIO

CUTE

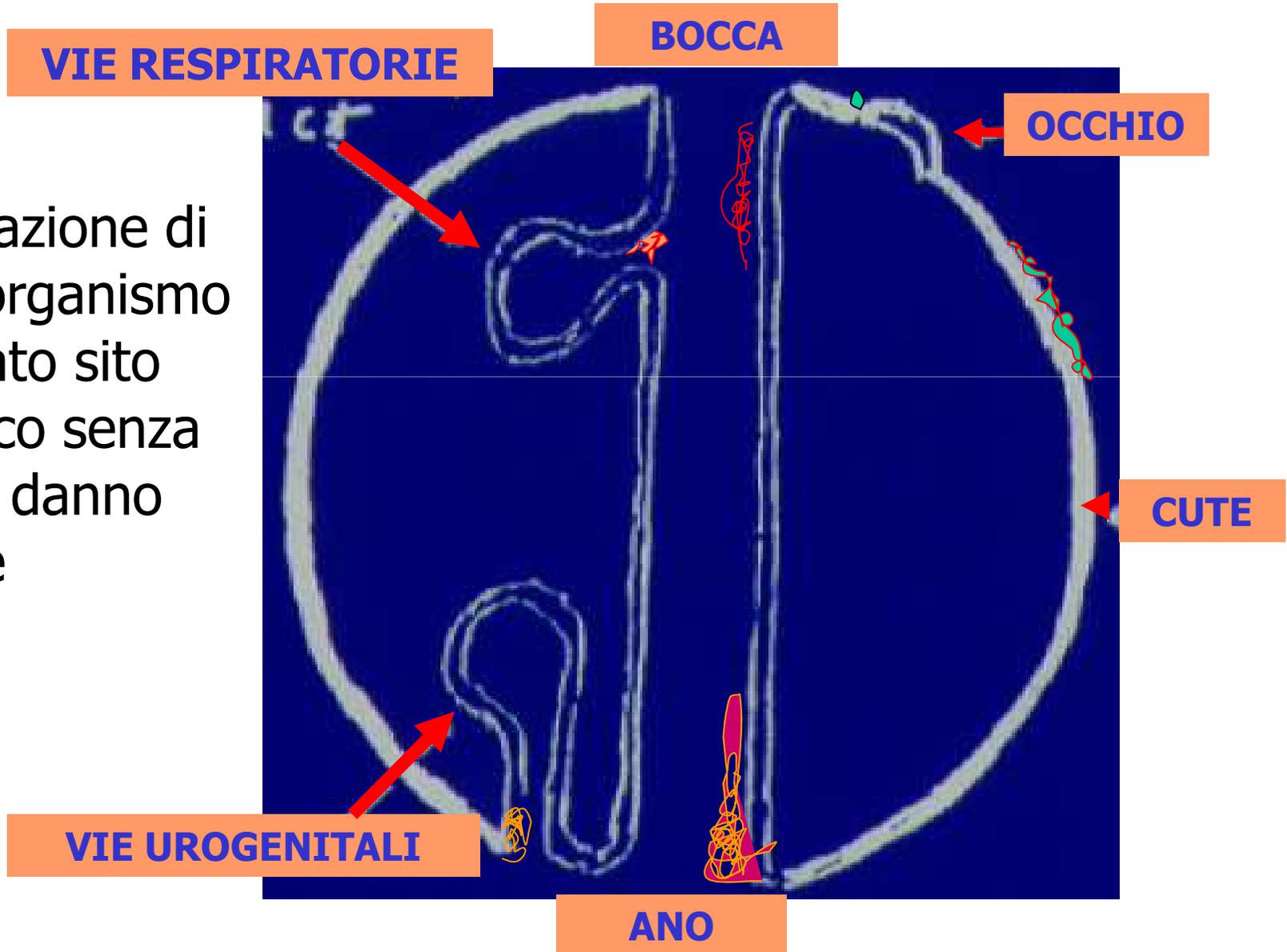
VIE UROGENITALI

ANO



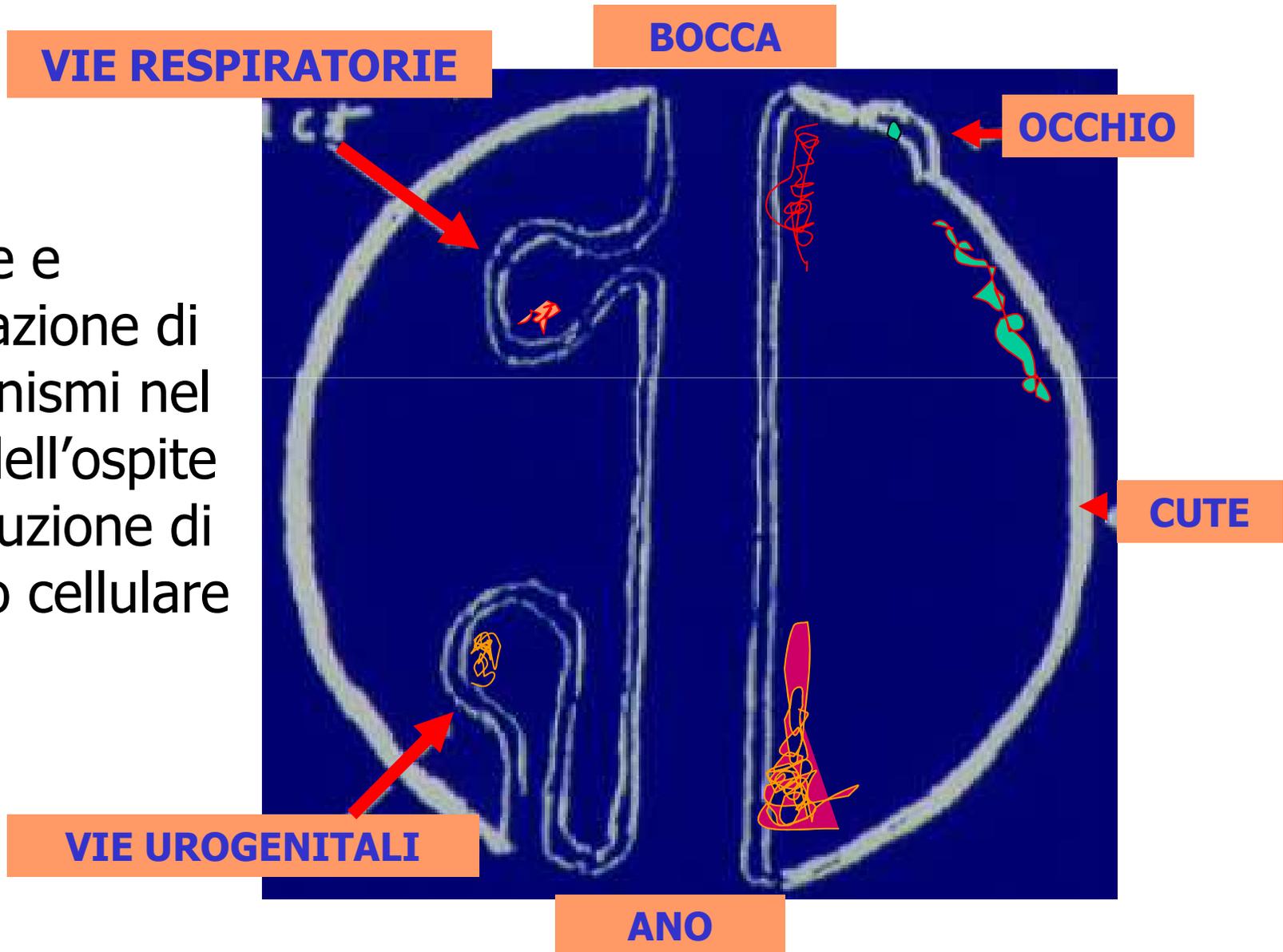
# COLONIZZAZIONE

Moltiplicazione di un microrganismo ad un dato sito anatomico senza arrecare danno all'ospite



# INFEZIONE

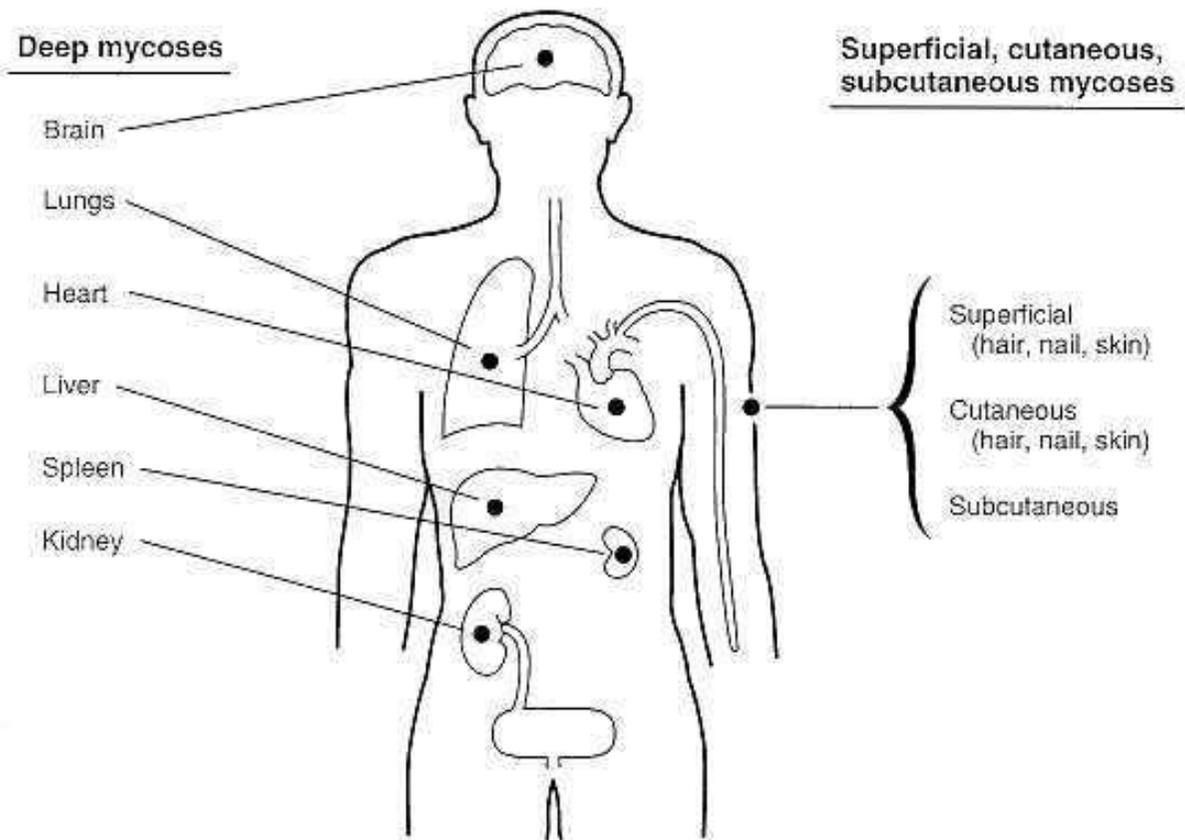
Invasione e moltiplicazione di microrganismi nel tessuto dell'ospite con produzione di un danno cellulare locale.



# Classificazione delle principali micosi

- Micosi **superficiali** (*Malassezia furfur*, *Trichosporon spp*)
  - Infezioni limitate allo strato esterno della cute e dei capelli
- Micosi **cutanee** (*Microsporon spp*, *Candida spp*)
  - Infezioni che invadono profondamente l'epidermide e gli annessi cutanei (unghia, capelli)
- Micosi **subcutanee** (*Sporothrix shenckii*)
  - Infezioni a carico del derma, tessuto sottocutaneo, muscolo e fasce
- Micosi **sistemiche** (*Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*)
  - Infezioni che inizialmente colonizzano il polmone, ma che successivamente possono diffondere ad altri organi
- Micosi **opportunistiche** (*Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*)
  - Infezioni causate da funghi che sono patogeni solo nell'ospite immunocompromesso

# Micosi - classificazione



Le infezioni micotiche  
**NON** sono contagiose  
(ad eccezione delle dermatofizie e *Candida*)



## **“ATTUALE” INTERESSE PER LA MICOLOGIA MEDICA**

1. Aumentata frequenza di infezioni micotiche
2. Aumentata consapevolezza dei clinici
3. Personale di laboratorio maggiormente qualificato
4. Impiego di procedure diagnostiche e chirurgiche maggiormente invasive (protesi)
5. Aumentato consumo di farmaci immunosoppressivi
6. Aumentata prevalenza delle malattie immunosoppressive

# Terapia antifungina

- La difficoltà incontrata dalla cellula dell'ospite nell'eradicare i patogeni fungini risiede nell'assenza di enzimi in grado di attaccare la parete cellulare fungina
- Sebbene uno dei primi chemioterapici (iodio orale) venne usato come antimicotico nel 1903, il successivo sviluppo di molecole antifungine è stato nettamente penalizzato rispetto a quello delle molecole ad attività antibatterica:
  - minore prevalenza delle infezioni micotiche rispetto a quelle batteriche
  - problemi di tossicità selettiva, data la presenza di steroli sia nella cellula ospite (colesterolo) che in quella fungina (ergosterolo)

# Terapia delle infezioni fungine

## Polieni

- Metaboliti secondari di *Streptomyces spp*
- Macrolidi lattonici ciclici
- Agiscono legandosi agli steroli di membrana (scarsa tossicità selettiva)
- **Amfotericina B**, esibisce maggiore maggiore affinità verso la cellula fungina (ergosterolo) nella cui membrana forma dei pori che ne aumentano la permeabilità in maniera dose-dipendente. Principale risorsa terapeutica per infezioni sistemiche. Somministrata per via endovenosa è spesso associata a nefrotossicità, febbre, anemia
- **Nistatina**, analogo strutturale dell'amfotericina B, è impiegata per il trattamento topico di candidosi orofaringee (mughetto), vaginali (vaginiti) e mucocutanee

# Terapia delle infezioni fungine

## Derivati azolici

- Maggior gruppo di antifungini disponibile in commercio
- Scarsa tossicità, ma fungistatici
- Provocano il blocco della sintesi di ergosterolo mediante inibizione della demetilazione 14- $\alpha$  del 24-metilene diidrolanosterolo, precursore dell'ergosterolo
- Imidazoli (due atomi di N nell'anello azolico):
  - miconazolo, econazolo, ketoconazolo
- Triazoli (tre atomi di N nell'anello azolico):
  - fluconazolo, itraconazolo
- Somministrati per via orale per profilassi e nel trattamento di candidiasi muco-cutanee, dermatofiti ed alcune infezioni sistemiche

# Terapia delle infezioni fungine

## Analoghi nucleosidici

- 5-fluorocitosina
  - Pirimidina fluorata polare
  - Convertita ad acido 5-fluorouridilico monofosfato (inibitore attività RNA) od a 5-fluorodeossiuridina (inibitore sintesi DNA)
  - Somministrata per via orale nella terapia di infezioni sistemiche da *Candida*, *Cryptococcus* ed *Aspergillus*
  - Induce rapidamente resistenza nei ceppi sensibili

# Terapia delle infezioni fungine

## Griseofulvina

- Metabolita di *Penicillium griseofulvum*
- Impiegata per il trattamento di gravi micosi cutanee ed ungueali (dermatofiti)
- Sebbene non ancora completamente noto, il suo meccanismo di azione consiste nella capacità di accumulo nello strato corneo dove forma una barriera in grado di bloccare la crescita e la penetrazione fungina
- Somministrata per via orale
- Non attiva verso *C. albicans* ed altri agenti di infezioni sistemiche (probabilmente causato da un deficit di captazione)

# Tests di sensibilità *in vitro*

- Alla scoperta ed allo sviluppo di nuove molecole ad attività antifungina ha fatto seguito un aumento del loro impiego terapeutico
- Da ciò la richiesta di nuove metodiche per la valutazione *in vitro* dell'attività antifungina al fine di predirne, in modo accurato, l'attività *in vivo*.
- Tuttavia, le tecniche impiegate *in vitro* non sono state ancora completamente standardizzate, per cui i risultati relativi non sempre sono predittivi di risposta clinica, particolarmente per gli azoli e la 5-fluorocitosina.