

Parole chiave:

Candida auris, fungo

ARTICOLO

Info Autore :

¹ Già professore associato in Chimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica - Sapienza Università di Roma

² Già assistente ordinario e docente scuola di specializzazione e master - Sapienza Università di Roma

Mario Pezzella¹, Rossella B. Castrica²

UN FUNGO POCO...COMMESTIBILE: CANDIDA AURIS

UN FUNGO PERICOLOSO

La *Candida*, fungo di cui esistono diverse specie tra cui le più comuni sono la *Candida albicans* e la *Candida tropicalis*, è un fungo innocuo, principalmente controllato dal sistema immunitario, la cui proliferazione è chiamata candidosi.

Alcune forme di candida, orale o cutanea, sono facilmente diagnosticabili tramite un attento esame obiettivo e un'approfondita anamnesi che talvolta richiede esami più approfonditi.

Nei casi in cui è necessario identificare con precisione la specie di *Candida* coinvolta nell'infezione è necessario un esame microscopico e colturale mentre un'infezione a livello respiratorio, esofageo o gastrointestinale, richiede una endoscopia combinata a biopsia.

La *Candida auris* è stata isolata da una serie di siti corporei, tra cui la pelle, il tratto urogenitale ed occasionalmente il tratto respiratorio.

Le infezioni invasive sono più rare come, la candidemia, la pericardite, e l'infezioni del tratto urinario.

La *Candida auris* è un fungo segnalato in oltre 40 paesi che rappresenta una minaccia per l'aumento dell'incidenza di focolai associati all'assistenza sanitaria e all'alto tasso di resistenza antifungina.

La specie di *Candida auris* è stata identificata per la prima volta nel 2009 in Giappone dal condotto uditivo esterno di un paziente e successivamente riportata nello stesso anno da 15 pazienti con otite media cronica in Corea del Sud dove, nel 2011, sono stati rilevati i primi tre casi nel sangue.

Una revisione retrospettiva degli isolati di *Candida* sudcoreani, ha mostrato che il primo ceppo di *Candida auris* risale al 1996, identificato nel sangue di un bambino.

L'infezione del sangue, di tipo invasiva, è stata frequentemente riportata con una mortalità che ha toccato il 60% dei pazienti. Gli isolati clinici di *Candida auris* sono stati recuperati da diversi tipi di campioni, tra cui fluidi corporei normalmente sterili, sezioni respiratorie, urina, bile, tessuti, ferite e tamponi mucocutanei.

Nel 2016 molte istituzioni sanitarie tra cui il Center for Diseases Control (CDC), il Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie (ECDC) ed il Public Health England hanno emesso una serie di avvisi di allerta per informare i medici, i laboratoristi, gli operatori della prevenzione delle infezioni ed i funzionari della sanità pubblica sulla minaccia emergente per la salute rappresentata da *Candida auris* e per richiedere che tutti i casi venissero segnalati ai dipartimenti sanitari locali, statali o nazionali ⁽¹⁾.

UNA TERAPIA COMPLESSA

La terapia della *Candida* impiega farmaci con proprietà antimicotiche oltre a prevedere l'adozione di alcune norme comportamentali che permettano una guarigione più veloce ed evitino ricadute.

La loro modalità di somministrazione varia in funzione della tipologia di candidosi e della gravità dell'infezione e, a seconda dei casi, può essere orale, topica o endovenosa.

Tra i farmaci impiegati nella cura delle infezioni da *Candida*, figurano alcuni prodotti, come segue.

Il fluconazolo, costituente una terapia standard per la candidosi invasiva, l'itraconazolo e il voriconazolo, appartenenti alla categoria farmacologica dei triazoli.

E' stato osservato che buona parte degli isolati di *Candida auris* resistenti al fluconazolo presentano una delle tre mutazioni conosciute nel gene che codifica per il bersaglio dei triazoli, chiamato ERG1.

Il clotrimazolo, l'econazolo, il fenticonazolo nitrato, il miconazolo e il ketoconazolo, appartenenti alla categoria farmacologica dei derivati dell'imidazolo. L'amfotericina B e la nistatina, i quali, pur facendo parte della categoria antibiotica dei macrolidi polienici, non hanno potere antibatterico ma antifungino.

Il caspofungin è un antifungino della categoria delle echinocandine che possiedono una via biosintetica efficiente, diversa da quella dei polieni e dei triazoli. Le echinocandine si legano alla sub unità FKS inibendo l'enzima 1,3-beta-glucano-sintasi i cui prodotti sono essenziali per la costituzione della parete fungina. Il Caspofungin è stato oggetto di approfonditi studi autoptici per stabilire il trattamento ottimale.

La sua presenza è stata rilevata nei valori più alti nei frammenti di fegato seguiti da milza, rene e polmone mentre la concentrazione più basse è stata riscontrata nei frammenti del cervello.

Gli studi suggeriscono che solo gli isolati portatori di mutazioni in FKS1 sono resistenti all'echinocandina e che i test di routine in vitro sugli isolati di *Candida auris* non sono del tutto affidabili (2).

Alcuni isolati hanno dimostrato, per tutte le classi di farmaci disponibili, una concentrazione minima inibente (MIC) piuttosto elevata indicando che le opzioni di trattamento sono piuttosto impegnative.

Attualmente non sono stati ancora determinati breakpoint di suscettibilità antimicotica specie-specifici e gli isolati testati hanno mostrato MIC elevata, intesa come la più bassa concentrazione del farmaco in grado di inibire la crescita in vitro. Per il fluconazolo ed altri farmaci azolici un regime terapeutico ottimale non è stato ancora definito.

Le autorità sanitarie sono state indotte a raccomandare l'uso di echinocandine come terapia di prima linea ma nello stesso a stimolare la ricerca sul meccanismo molecolare della resistenza per ottenere maggiori informazioni e facilitare l'attuazione di una efficace terapia antimicotica.

La resistenza agli azoli e alle echinocandine è strettamente associata a mutazioni del DNA, ERG11 e FKS1, anche se non è escludibile che il meccanismo della resistenza sia regolato a livello di trascrizione. Le indagini di biologia molecolare hanno portato alla scoperta di alcune mutazioni associate a fallimenti clinici. La resistenza alle echinocandine è risultata mediata dalle mutazioni FKS1 mentre quella agli azoli dalle mutazioni ERG11 (3).

PROFILI DI SUSCETTIBILITÀ

Allo scopo di analizzare sistematicamente i profili di suscettibilità delle specie di *Candida* pubblicati negli ultimi dieci anni (da dicembre 2011 a dicembre 2021) dalla Cina continentale sono stati raccolti un totale di 44.716 isolati di *Candida*, comprendenti principalmente *Candida albicans* (49,36%) e *Candida tropicalis* (21,89%).

La sensibilità più bassa è stata rilevata per il gruppo degli azolici.

L'amfotericina B e l'anidulafungina sono risultati i farmaci più sensibili per tutte le specie di *Candida*. La resistenza agli azoli è risultata legata a mutazioni nei geni ERG11, ERG3, ERG4, MRR1-2, MSH-2, e PDR-1.

Sono state rilevate le mutazioni in FKS-1 e FKS-2 in *Candida auris* e *Candida glabrata*, causa di resistenza alle echinocandine.

Il modello di suscettibilità antimicotica delle specie di *Candida* e le strategie di riduzione del rischio costituiscono un valido supporto nella terapia della candidosi(4).

Un ulteriore studio di analisi del genoma e della farmaco resistenza di isolati di *Candida auris* provenienti dall'area metropolitana di New York e del New Jersey ha evidenziato l'emergere di farmaco-resistenza a quattro principali classi di antifungini. Il trattamento di pazienti ad alto rischio di *Candida auris* resistente ai farmaci richiede nuove strategie terapeutiche e una sorveglianza mirata pre e/o post-intervento medico (5).

Il farmaco flucitosina, il cui uso è abbinato a quello dell'amfotericina B è un farmaco utilizzato per trattare candidosi che ha un meccanismo di funzionamento non ancora noto in modo esatto.

E' stato evidenziato che gli isolati resistenti alla flucitosina presentano mutazioni in FCY1, FUR1 e ADE17. Due isolati resistenti di *Candida auris* presentavano una delezione dell'uracile fosforibosiltransferasi (FUR1[1Δ33]) e l'eliminazione dell'espressione di FUR1, confermata da un test PCR. E' stato dimostrato che oltre alle mutazioni di ERG11, quattro isolati resistenti all'amfotericina B non hanno mostrato varianti distinte non sinonimiche che suggeriscano elementi genetici sconosciuti che guidano la resistenza ai farmaci ⁽⁶⁾.

Il farmaco Manogepix si rivolge all'enzima fungino Gwt1 responsabile dell'acilazione dell'inositolo all'inizio della via di biosintesi del glicosilfosfatidilinositolo.

Fosmanogepix ha un nuovo meccanismo d'azione ed ha mostrato un'attività ad ampio spettro contro *Candida auris* e *Candida glabrata*.

La frequenza dei funghi resistenti alle classi di farmaci azolici ed echinocandina è in aumento e vi è un significativo bisogno di un nuovo agente antifungino ad ampio spettro. Fosmanogepix è il profarmaco N-fosfonoossimetilene di manogepix, un inibitore dell'enzima fungino Gwt1 che ha dimostrato un'attività in vitro ad ampio spettro contro lieviti e muffe, compresi agenti patogeni difficili da trattare.

A causa del suo meccanismo d'azione, manogepix mantiene la potenza contro molti ceppi resistenti tra cui la *Candida* resistente all'echinocandina e l'*Aspergillus* resistente agli azoli.

L'arruolamento è stato recentemente completato in uno studio di fase 2 che valuta la potenziale attività terapeutica. Il fosmanogepix ha dimostrato un alto livello di successo del trattamento nei primi 10 pazienti trattati ⁽⁷⁾.

La rezafungina, Rezafungin (nome commerciale Rezzayo) è un farmaco antifungino della classe echinocandina.

Rezafungin è stato approvato dalla Food and Drug Administration nel marzo 2023 per il trattamento della candidemia e della candidosi invasiva negli adulti con opzioni di trattamento alternative limitate o assenti.

Il farmaco SCY-078 ha mostrato una potente attività antifungina/antibiofilm contro *Candida auris*, indicando che è giustificata un'ulteriore sua valutazione. Sulla base dei dati attuali, SCY-078 rappresenta un potenziale progresso rispetto agli agenti antifungini esistenti, con la sua potenza contro gli organismi wild-type e antifungini resistenti ai farmaci, un'eccellente distribuzione nei tessuti associati a infezioni fungine e un profilo farmacocinetico coerente con la somministrazione orale e endovenosa una volta al giorno agevolando l'esecuzione di cicli prolungati di trattamento.

In Italia il primo caso di infezione invasiva è stato identificato nel 2019 seguito da un focolaio nelle regioni settentrionali durante il biennio 2020-2021. Secondo i dati dell'ISS, sono stati registrati dal 2019 circa 300 casi di *Candida auris*.

E' notizia recente la morte di un uomo presso l'ospedale Sacco di Milano per un ictus e risultato positivo a diversi esami, tra cui quello per la *Candida auris*.

Come ha riportato l'agenzia stampa *Adnkronos Salute*, il caso accertato non sarebbe "autoctono", ma probabilmente importato poiché l'uomo deceduto a Milano era da poco tempo ritornato da un viaggio in Grecia.

IMPLICAZIONI PER LA SALUTE

La *Candida auris* è associata ad alti tassi di mortalità ed è spesso resistente a più classi di farmaci antifungini per la sua capacità di causare infezioni invasive e focolai nelle strutture sanitarie, difficili da controllare e trattare.

La maggior parte delle infezioni segnalate coinvolge pazienti critici, principalmente ricoverati nelle unità di terapia intensiva, in quanto la *Candida auris* facilmente colonizza la pelle dei pazienti oltre a sopravvivere e persistere nell'ambiente clinico per settimane.

La notevole capacità della *Candida auris* di contaminare oltre i pazienti anche gli arredi e persistere per lunghi periodi può essere causa di epidemie nosocomiali.

L'infezione da *Candida auris* rappresenta per la sua resistenza antimicotica un importante fattore di rischio per i pazienti lungodegenti i cui

principali fattori di rischio sono rappresentati dall'uso di apparecchiature condivise come quelle endoscopiche e percutanee.

L'emergere di ceppi di *Candida auris* è un segnale allarmante perchè le opzioni di trattamento sono limitate: ne deriva la necessità di aumentare la consapevolezza sull'infezione e far progredire i metodi diagnostici essenziali per la diagnosi precoce e il controllo dell'infezione.

Inoltre il test di sensibilità risulta talvolta impegnativo a causa dell'effetto Eagle, noto come effetto di crescita paradossale che si verifica a varia intensità. Alcuni isolati fungini crescono in terreni contenenti alte concentrazioni di echinocandina al di sopra della MIC pur essendo sensibili a concentrazioni più basse.

La capacità di *Candida auris* di contaminare facilmente l'ambiente intorno ai pazienti colonizzati e di persistere per lunghi periodi di tempo ha contribuito a gravi epidemie.

La *Candida auris* resiste ai disinfettanti nelle procedure di pulizia e di decontaminazione a causa della formazione di biofilm rendendo i trattamenti delle infezioni molto difficili, provocando una ridotta suscettibilità ai comuni disinfettanti, come acqua ossigenata e clorexidina.

Il biofilm aiuta a resistere ai fattori di stress ambientale e facilitare la trasmissione nosocomiale. I biofilm della *Candida auris* contengono polisaccaridici analoghi a quelli presenti nella parete cellulare che oppongono notevole resistenza alla terapia antimicotica ostacolando l'accesso degli agenti antimicotici alla matrice cellulare rendendoli non riconoscibili dalle risposte immunitarie dell'ospite.

Di particolare interesse sono alcune recenti indagini tendenti a dimostrare l'attività dose-dipendente delle nanoparticelle d'argento (AgNP) contro i biofilm su superfici sia mediche che ambientali.

E' stato osservato che le fibre funzionalizzate con AgNPs mantengono l'effetto fungicida anche dopo ripetuti lavaggi indicando l'utilità delle nanoparticelle d'argento per prevenire e controllare le infezioni da *Candida auris* ⁽⁸⁾.

LE ASTUZIE DI UN FUNGO

La *Candida auris* evita di innescare l'attività antifungina dei neutrofili, cellule immunitarie innate deputate a rispondere a infezioni fungine invasive.

Tuttavia il meccanismo della evasione immunitaria è ancora in gran parte sconosciuto ed è stato comunque dimostrato che i biofilm della *Candida auris* contribuiscono alla virulenza, alla resistenza antifungina e alle proprietà di sopravvivenza.

La mannosilazione contribuisce all'evasione dei neutrofili attraverso percorsi distinti da quelli di altre *Candida*. I neutrofili, leucociti fondamentali per la difesa antifungina dell'ospite, non riconoscono e non agiscono efficacemente. Tuttavia, il meccanismo alla base di questa evasione immunitaria non è ancora completamente conosciuto ⁽⁹⁾.

I fattori di rischio per i pazienti ospedalizzati con comorbilità multiple che possono acquisire l'infezione da *Candida auris* sono costituiti dal contatto ravvicinato sia con pazienti infetti che con l'ambiente circostante oltre che con le attrezzature sanitarie condivise.

Dal punto di vista della profilassi sono stati puntualizzati alcuni interventi quali lo screening dei pazienti suscettibili all'infezione, la pulizia e la disinfestazione dell'ambiente e delle attrezzature sanitarie e l'istituzione di approcci efficaci per identificare e trattare i pazienti infetti.

La colonizzazione cutanea dei pazienti affetti sembra essere comune e la *Candida auris* è stata rilevata nelle attrezzature mediche utilizzate dai pazienti, e negli arredi quali i materassi, mobili e lavandini.

Il fungo può essere trasferito dalle superfici ambientali alle mani: persiste infatti anche sui materiali plastici per almeno 14 giorni e con test di vitalità che indicano che le cellule sono in grado di entrare in uno stato metabolicamente attivo, ma non coltivabile.

Data la propensione di *Candida auris* a causare epidemie per il suo elevato potenziale di trasmissione orizzontale nosocomiale, il CDC ha sollecitato l'adesione a una buona igiene delle mani combinata con precauzioni standard e di contatto, l'alloggiamento dei pazienti infetti in stanze singole,

l'esecuzione di un'accurata pulizia quotidiana e la disinfezione terminale della stanza di ricovero⁽¹⁰⁾.

Detergenti e disinfettanti sporicidi vengono opportunamente utilizzati per la decontaminazione dell'ambiente sanitario.

Recenti valutazioni hanno evidenziato che l'acqua ossigenata ha la proprietà principale di energico ossidante per cui viene utilizzata come antisettico per ferite, escoriazioni ed ulcere.

La molecola H₂O è instabile in conseguenza della reazione $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ esplicando una efficace capacità ossidante.

Insieme con i disinfettanti a base di cloro l'acqua ossigenata è efficace anche contro *Candida auris* a differenza dei prodotti a base di ammonio quaternario ampiamente utilizzati che hanno un'attività relativamente scarsa.

Anche i detergenti cutanei a base di iodio e clorexidina hanno dimostrato un'efficace eliminazione di *Candida auris*⁽¹¹⁾.

L'organizzazione Public Health England e la Pan American Health, (un'agenzia dell'OMS) suggeriscono i prodotti a base di cloro per la loro efficacia nella decontaminazione delle superfici ambientali. Tali prodotti in combinazione con altri prodotti come coadiuvanti hanno dimostrato buona efficacia nel controllo di *Candida auris*.

Numerosi focolai in ambiente sanitario sono stati affrontati con la corretta individuazione e identificazione del patogeno e della sua suscettibilità agli antimicotici, seguita da una rigorosa adesione a trattamenti appropriati e a strategie di prevenzione e controllo delle infezioni.

In Canada, l'emergere di un cluster nell'area della Grande Vancouver nel 2018 ha indotto le autorità sanitarie ad attuare misure rigorose di controllo combinate con lo screening microbiologico per arrestare efficacemente la trasmissione nei centri sanitari.

La diffusione della *Candida auris* nelle strutture sanitarie dimostra che misure rigorose di controllo combinate con lo screening microbiologico possono arrestare la diffusione dell'infezione nei centri sanitari.

Durante l'epidemia sono stati identificati quattro

casi infetti.

Il sequenziamento dell'intero genoma ha concluso che tutti gli isolati appartenevano al clade dell'Asia meridionale e nessun isolato presentava mutazioni del gene FKS associate alla resistenza alle echinocandine.

Le misure rigorose di controllo delle infezioni, hanno contenuto efficacemente l'epidemia nel giro di due mesi⁽¹²⁾.

La caratterizzazione di un focolaio ospedaliero da *Candida auris* è stata descritta in Venezuela, primo evento in America verificatosi in un ospedale di assistenza terziaria, che ha coinvolto 18 pazienti critici di cui 13 pediatrici e 5 adulti.

Tredici pazienti, 72%, sono sopravvissuti a 30 giorni dopo l'insorgenza della candidemia.

Sono state riportate informazioni epidemiologiche ottenute sull'analisi dei primi isolati di New York e del New Jersey rivelando una similitudine con gli isolati dell'Asia Meridionale mentre quelli di un altro stato, Illinois, sono risultati compatibili con quelli del sud America.

I dati epidemiologici suggeriscono che tali infezioni sono state acquisite negli Stati Uniti ed individuate anche nel Regno Unito. La loro distribuzione su grandi distanze geografiche porta ad ipotizzare che siano avvenute introduzioni multiple ed indipendenti con successiva diffusione locale⁽¹³⁾.

INDIVIDUARE IL NEMICO

L'identificazione della *Candida auris* è molto difficile da stabilire con i sistemi diagnostici comunemente utilizzati a causa della loro ridotta sensibilità. Sono stati sviluppati di recente metodi molecolari indipendenti dall'esame colturale.

Tali metodi utilizzati in contemporanea con i metodi classici offrono le informazioni affidabili per garantire la migliore cura e i migliori risultati possibili per il paziente.

In alcuni casi è stato osservato che l'uso di piattaforme di ionizzazione a desorbimento laser assistito da matrice (MALDI-TOF) come la piattaforma Biotyper, pur essendo molto sensibile e specifico non può individuare isolati assenti nella banca dati di riferimento.

Secondo l'allerta del CDC, qualsiasi crescita

batterica o fungina che indichi una specie di *Candida* morfologicamente affine è un potenziale sospetto di *Candida auris* così come la specie di *Candida* che viene isolata con una scarsa risposta al trattamento antimicotico.

Un ulteriore motivo è il caso in cui si verifica un crescente isolamento di specie di *Candida* in una particolare unità ospedaliera da diversi siti di campionamento del paziente.

Inoltre la *Candida auris* può essere sospettata anche quando gli antimicotici mostrano valori di MIC elevati. Le tecniche diagnostiche sugli acidi nucleici forniscono risultati accurati in poche ore poiché si basano sull'analisi del DNA estratto dal campione del paziente consentendo il sequenziamento dell'intero genoma agevolando la possibilità di rilevare e caratterizzare i focolai.

I test real time PCR rappresentano lo strumento di elezione per lo screening poiché il DNA può essere isolato dal campione senza necessità di una coltura preliminare che limita drasticamente la possibilità di rispondere rapidamente ai focolai offrendo tempi rapidi di esecuzione.

Sono stati descritti metodi alternativi più celeri, non richiedenti particolare esperienza negli operatori. Obiettivo di tali indagini è fornire una rapida presuntiva identificazione di *Candida auris* utilizzando nuovi mezzi cromogenici come **CHROMagar™** *Candida* Plus, quale alternativa economica ai costosi e laboriosi test diagnostici ⁽¹⁴⁾.

L'analisi di popolazione dei dati genomici ha mostrato che la maggior parte dei casi rilevati appartengono ai seguenti quattro cladi principali. Clade I rilevato in Asia meridionale, Clade II in Asia orientale, Clade III in Sudafrica, Clade IV in Sudamerica.

A questi va aggiunto un singolo caso rappresentativo che descrive un potenziale quinto clade (Clade V). Le ragioni per cui la *Candida auris* si è rapidamente diffusa rimangono ancora poco chiare e non sufficientemente dimostrate.

E' stata stimata una filogenesi dell'orologio molecolare bayesiano basata sulla ipotesi che mutazioni casuali con le quali i geni si evolvono si verificano con frequenze pressoché costanti nel tempo.

E' stato accertato che i cluster che causano epidemie

dei quattro cladi suddetti si sono originati da ben 36 a 38 anni ed in un decennio la *Candida auris* è apparsa nei contesti sanitari di tutto il mondo.

In particolare il sequenziamento dell'rDNA della regione 28S D1/D2 o dell'ITS 1/2 permette di identificare accuratamente la *Candida auris* a livello di specie e fornisce la raccolta più completa delle variazioni genetiche di un individuo consentendo l'identificazione definitiva ⁽¹⁵⁾.

Per aiutare a convalidare il confronto delle analisi genomiche e facilitare la comunicazione tra le diverse reti di sorveglianza è stato creato un set di riferimento di dati composto da 23 genomi di *Candida auris* provenienti da studi ben collaudati. Questo riferimento esamina le prove riguardanti la diagnosi, il trattamento e la prevenzione di questo organismo e fornisce raccomandazioni di consenso per medici e microbiologi in Australia e Nuova Zelanda ⁽¹⁶⁾.

Alcuni gruppi di studio hanno progettato un saggio di real time PCR per rilevare la *Candida auris* e differenziarla da altri tipi di *Candida* meno presenti mediante l'analisi della curva di fusione.

I primer di *Candida auris* hanno mostrato un'eccellente selettività nei confronti di patogeni fungini comuni e del DNA umano ⁽¹⁷⁾.

La necessità di coltivare una colonia da un campione di paziente può comportare ritardi di giorni nella diagnosi. Le tecniche basate sugli acidi nucleici, eseguite sull'analisi del DNA estratto dal campione, possono fornire risultati diagnostici entro alcune ore. La correlazione tra i valori di concentrazione minima inibitoria (MIC) e gli esiti clinici è talvolta scarsamente comprensibile a causa dell'assenza di breakpoint specifici. ⁽¹⁸⁾

Una raffinata diagnostica microbiologica per individuare specie batteriche e fungine utilizza la MALDI-TOF-MS genera spettri di massa caratteristici unici per ciascun microorganismo che possono essere utilizzati come modelli di riferimento.

Questo metodo è relativamente rapido per identificare la *Candida auris* da colture pure mediante confronto con le specie acquisite e memorizzate in specifiche banche dati.

Il costo notevole di uno strumento MALDI-TOF-

MS spesso rappresenta un ostacolo per i laboratori impedendo, in ultima analisi, il miglioramento della tecnologia.

È stato inoltre descritto un quinto clade di *Candida auris* con il quale l'accuratezza diagnostica è ulteriormente migliorata.

I progressi nei database spettrali dei sistemi di spettrometria di massa (MALDI-TOF MS) con ionizzazione laser associata alla matrice hanno ridotto gli errori di identificazione.

Il rilevamento diretto di *Candida auris* in campioni clinici utilizzando la PCR in tempo reale è sempre più utilizzato, così come il sequenziamento dell'intero genoma per tracciare la diffusione nosocomiale e per studiare le relazioni filogenetiche e la resistenza ai farmaci.

I principali vantaggi dell'identificazione della PCR per quanto riguarda i geni codificanti sono il suo basso costo, il breve tempo di esecuzione e la specificità proteina GPI a causa dell'uso di primer specie-specifici ⁽¹⁹⁾.

La *Candida auris* ha acquisito importanza clinica sia per la sua resistenza ai trattamenti antifungini sia per la sua persistenza negli ambienti ospedalieri.

La diagnosi precoce delle infezioni è di fondamentale rilevanza poiché spesso, con i sistemi diagnostici routinari, è stata posta una diagnosi erronea.

Le ricerche sono state indirizzate ad una diagnosi tempestiva mediante metodi di identificazione affidabili con real time PCR effettuando amplificazione di geni codificanti proteine specie-specifiche modificate dal glicosilfosfatidilinositolo (GPI) con primer che hanno consentito un'identificazione accurata e rapida delle specie di *Candida auris* e delle specie correlate ⁽²⁰⁾.

Il test di suscettibilità antibiotica MALDI Biotyper (MBT ASTRA) per l'AFST rapido prevede una sequenza operativa per cui le cellule di *Candida auris* vengono inoculate in apposito terreno di coltura RPMI 1640 con diluizioni seriali di echinocandine (anidulafungina, micafungina e caspofungina) e incubate a 37°C.

I risultati dei tests sono generalmente specifici privi di reattività crociata con altri agenti infettivi patogeni.

CONCLUSIONI

La rapida comparsa a livello globale di ceppi di *Candida auris* è allarmante per la salute pubblica.

La trasmissione orizzontale tra i pazienti e l'adesione alle superfici ambientali e alle attrezzature ospedaliere, aggravano il problema della prevenzione e del controllo dei focolai della *Candida auris* nelle strutture sanitarie ove si rivolgono principalmente a pazienti anziani con comorbidità debilitanti.

La resistenza ai farmaci antimicotici aggrava il processo di gestione dei pazienti.

La difficoltà nell'identificare la *Candida auris* con i metodi routinari utilizzati rende necessario ed urgente la necessità di metodologie diagnostiche tempestive per ridurre il tasso di mortalità.

I test molecolari quali la real time PCR ed il sequenziamento del genoma forniscono risultati diagnostici accurati in poche ore agevolando la possibilità di rilevare ed intervenire in tempi rapidi poiché i focolai si sono verificati principalmente in strutture che si rivolgono principalmente a pazienti anziani con comorbidità debilitanti.

Una diagnosi tempestiva e la diligenza nelle misure di controllo delle infezioni possono aiutare a contenere la diffusione di *Candida auris* e prevenire e controllare nuove infezioni.

BIBLIOGRAFIA

1. Emily S Spivak , Kimberly E Hanson: *Candida auris: an Emerging Fungal Pathogen* 2018 *J Clin Microbiol* Jan 24;56(2).
2. Jana Marx et al *Human tissue distribution of caspofungin* *Int J Antimicrob Agents* 2022 Apr;59(4).
3. Samantha E Jacobs et al *Candida auris Pan-Drug-Resistant to Four Classes of Antifungal Agents* *Antimicrob Agents Chemother* 2022 Jul 19;66(7).
4. Hazrat Bilal et al *Distribution and antifungal susceptibility pattern of Candida species from mainland China: A systematic analysis*, *Virulence* 2022 Dec;13(1):1573-1589.
5. Hassan Yahaya, Hamza Sule, *Candida auris: an emergent virulent and multidrug-resistant yeast associated with serious health implications* *ACADEMIA BIOLOGY* 2023-03-27
6. Jizhou Li et al *Nuove mutazioni ERG11 e TAC1b associate alla resistenza . azolica in Candida auris* *Agenti Antimicrob Chemother*. 2023 Maggio 15(5).
7. Mili Kapoor et al *Valutazione dello sviluppo di resistenza all'inibitore Gwt1 Manogepix (APX001A) in specie di candida* *Agenti. Antimicrob . . . Chemother* 2019 dicembre 20;64(1).
8. Muluneh Ademe, Friehiwot Girma *Candida auris: From Multidrug Resistance to Pan-Resistant Strains e Collection* 2020 May 5;13:1287-1294 .
9. Humberto H. Lara et al *Inibizione della formazione di biofilm di Candida auris su superfici mediche e ambientali da parte di nanoparticelle d'argento*. Pubblicato online il 2020 gennaio 16.
10. Mark V Horton, et al *Candida auris Cell Wall Mannosylation Contributes to Neutrophil Evasion through Pathways Divergent from Candida albicans and Candida glabrata*, *mSphere* 2021 Jun 30;6(3).
11. Suhail Ahmad , Wadha Alfouzan *Candida auris: Epidemiology, Diagnosis, Pathogenesis, Antifungal Susceptibility, and Infection Control Measures to Combat the Spread of Infections in Healthcare Facilities* *Microorganisms*. 2021 Apr 11;9(4):807.
12. Pezzella, M. e Castrica , R.B. *Antisettici e Disinfettanti*. *Italian Journal of Prevention, Diagnostic and Therapeutic Medicine*. 6, 2 (giu. 2023), 20-29.
13. Eric J Eckbo et al *First reported outbreak of the emerging pathogen Candida auris in Canada* *Am J Infect Control* 2021 Jun;49(6):804-807.
14. Emily S Spivak , Kimberly E Hanson: *Candida auris: an Emerging Fungal Pathogen* 2018 *J Clin Microbiol* Jan 24;56-2.
15. Marathe A et al *Utility of CHROMagar™ Candida Plus for presumptive identification of Candida auris from surveillance samples*. *S.Mycopathologia*. 2022 Dec;187(5-6):527-534.
16. Pauline C, Ng, EwenF. Kirkness *Whole Genome Sequencing methods in molecular biology book serie (MIMB, volume 628 First Online 01 January 2010*.
17. Chong W Ong et al *Diagnosis, management and prevention of Candida auris in hospitals: position statement of the Australasian Society for Infectious Diseases*, *Intern Med J*. 2019 Oct;49(10):1229-1243.
18. Alba Cecilia Ruiz-Gaitan et al *Molecular identification of Candida auris . . by PCR qmplification of species-specific GPI protein-encoding genes*. . *Int Med Microbiol* 2018, Oct 308(7): 812-818
19. Milena Kordalewska, David S Perlin: *Detection and Identification of Candida auris from Clinical Skin Swabs* *Methods Mol Biol*. 2022;2542:245-256.
20. Maria Alvarado et al *Identificazione di Candida auris e specie affini mediante multiplex PCR basata su geni codificanti proteine GPI, Micosi*; 2021 64(2):194-202.