

AGENTI BIOLOGICI COME CAUSA DI MALATTIA

Nonostante la disponibilità e l'uso di vaccini e di antibiotici le **malattie infettive** rimangono un importante problema di salute in tutto il mondo e nei Paesi in via di sviluppo causano ancora la morte di milioni di persone ogni anno

Gli agenti infettivi appartengono ad un ampio spettro di classi

BATTERI

VIRUS

RICKETTSIE, CLAMIDIE E MICOPLASMI

PROTOZOI

MICETI

ELMINTI

PRIONI

RAPPORTO MICRORGANISMO-OSPITE

1. MUTUALISMO (MICROBIOTI)
2. COMMENSALISMO (MICROBIOTI)
3. PARASSITISMO (PATOGENI)

RAPPORTO MICRORGANISMO-OSPITE

- **Mutualismo**: sia il microrganismo che l'ospite traggono beneficio dall'interazione
- **Commensalismo**: il microrganismo vive nell'ospite senza provocare alcun danno
- **Parassitismo**: il microrganismo (parassita) vive su/all'interno dell'ospite a spese di quest'ultimo (danno)

PARASSITI FACOLTATIVI possono sopravvivere nell'ambiente esterno come organismi autonomi

PARASSITI OBBLIGATI sono capaci di sopravvivere solo nell'organismo ospite

Rapporto Ospite-Microbiota

SIMBIOSI MUTUALISTICA

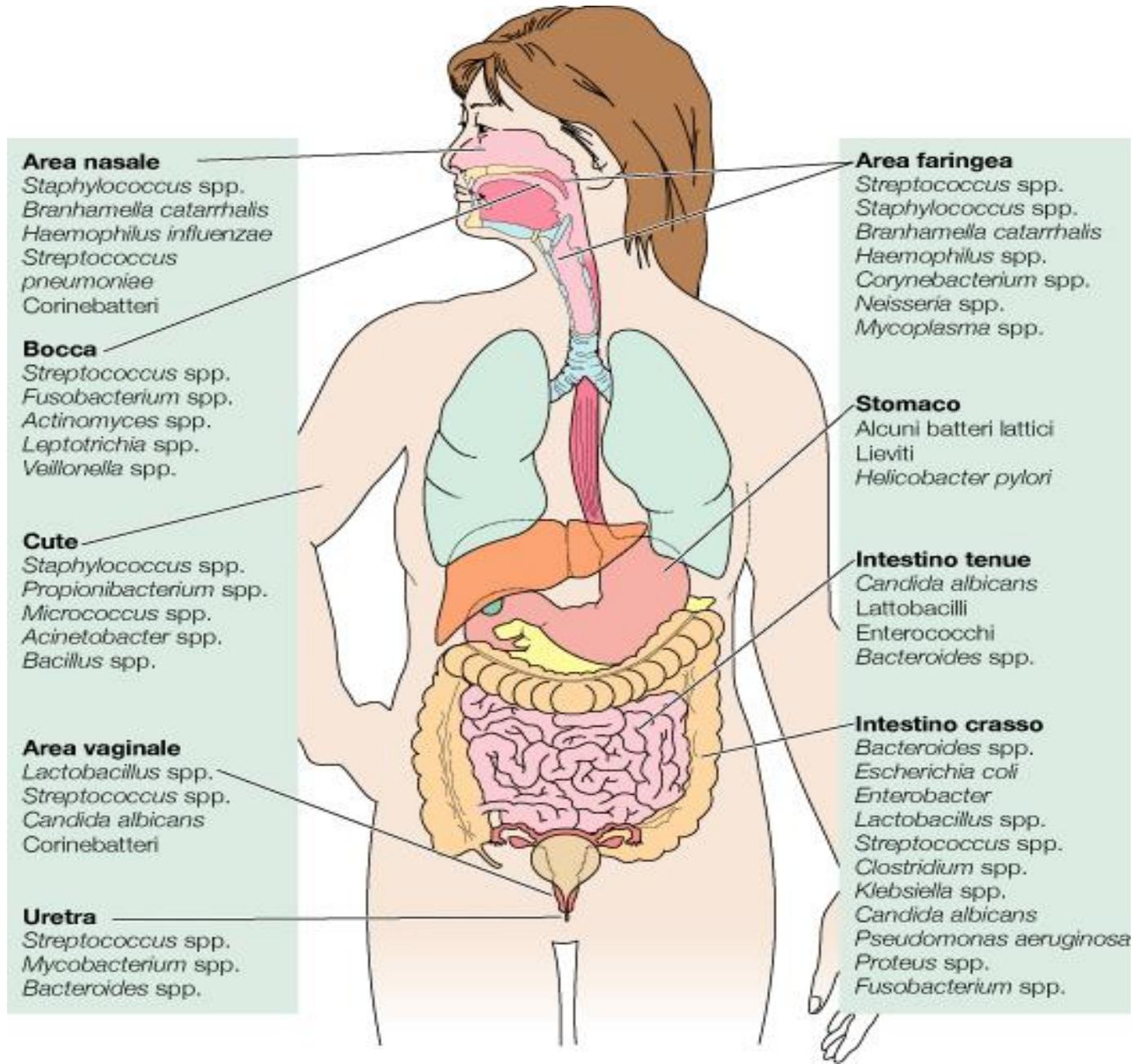
VANTAGGI PER L'OSPITE

1. Antagonismo con potenziali patogeni
2. Stimolazione del sistema immunitario
3. Assorbimento vitamine

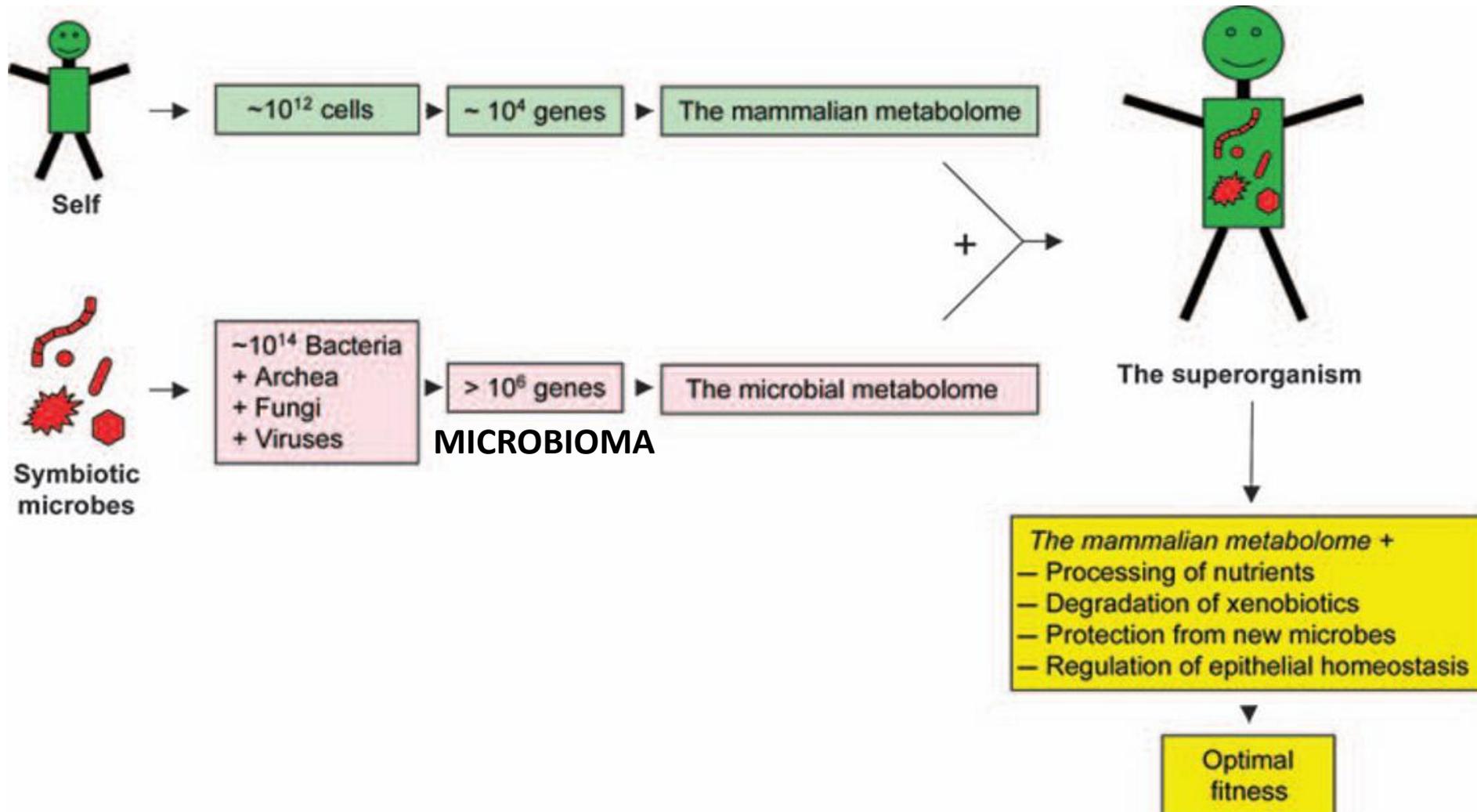
VANTAGGI PER I MICROBIOTI

1. Disponibilità di nutrienti
2. Condizioni ambientali ottimali (temp., pH, O₂)

Microflora normale nel corpo umano (microbiota umano)



GUT MICROBIOTA



RAPPORTO MICRORGANISMO-OSPITE

1. MUTUALISMO (MICROBIOTI)
2. COMMENSALISMO (MICROBIOTI)
3. PARASSITISMO (PATOGENI)

PATOGENICITA'

Capacità di provocare nell'ospite fenomeni patologici

La patogenicità non è la regola; in effetti, si manifesta con una frequenza così bassa, coinvolgendo un numero di specie talmente circoscritto, considerata la straordinaria diffusione dei batteri sul nostro pianeta, da rappresentare un'anomalia. La malattia è dovuta solitamente a "trattative" per la simbiosi tra organismi che non vanno a buon fine, a un superamento della linea di separazione da una parte o dall'altra, a una "errata interpretazione" biologica dei rispettivi "confini"

- Lewis Thomas

La Patogenicità è solitamente bilanciata:

è lo stato ideale nel quale la massima proliferazione e diffusione avviene con la minima alterazione della fisiologia dell'ospite (per favorire la diffusione)

PATOGENICITÀ

La patogenicità si esprime grazie a

Trasmissibilità da un ospite all'altro

Infettività (cioè replicazione nell'ospite)

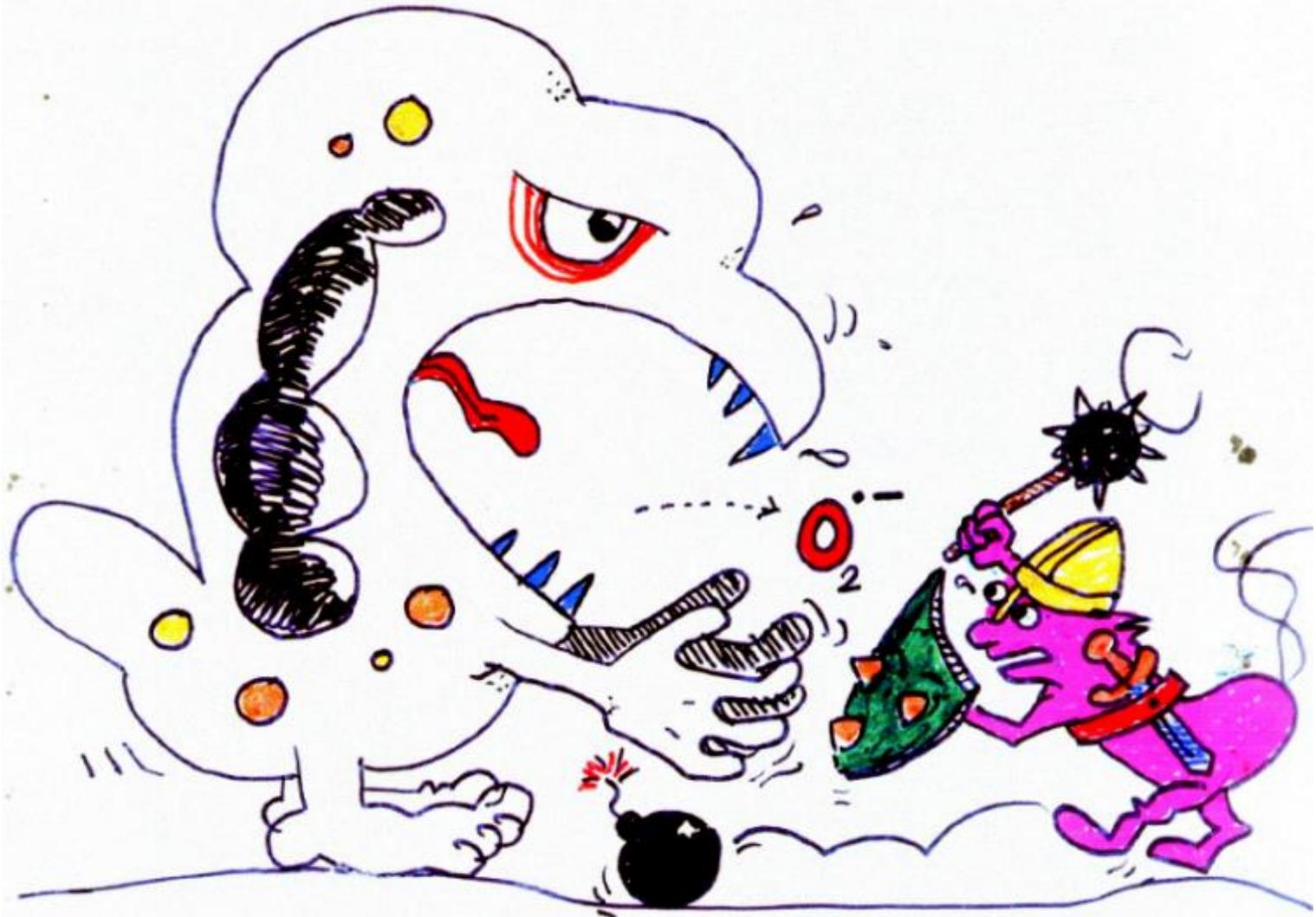
Virulenza (cioè possibilità di superare le difese dell'ospite)

Un microrganismo è patogeno se è in grado di invadere e moltiplicarsi con conseguente danno dell'organismo ospite

La PATOGENICITA' dipende da:

- ✓ fattori di virulenza
- ✓ carica batterica (numero iniziale di batteri che infettano)
- ✓ stato di salute, in particolare immunitario, dell'ospite

L'esito della battaglia dipende dalle ARMI (FATTORI DI VIRULENZA) del batterio da una parte e dai meccanismi di DIFESA del sistema immunitario dall'altra

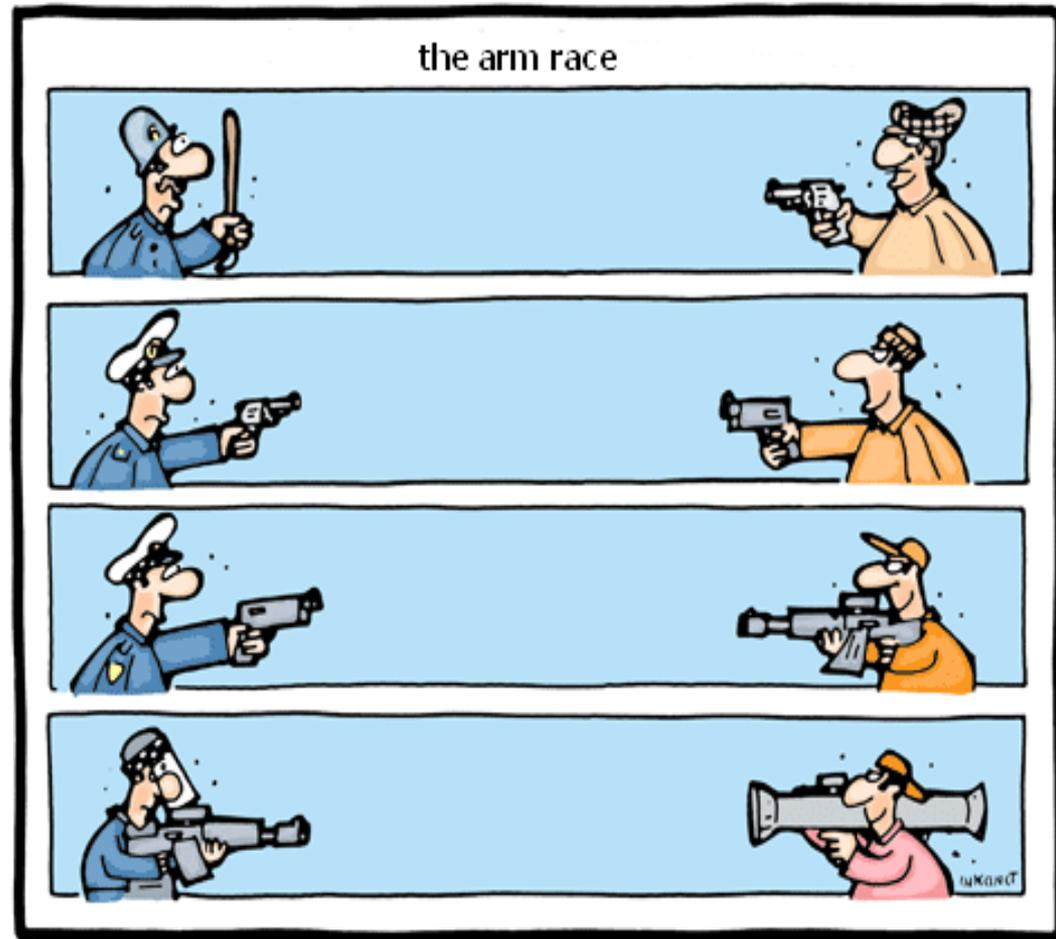


Azione patogena dei batteri mediata da
FATTORI DI VIRULENZA

Fattori elaborati da batteri patogeni, funzionali al loro ciclo vitale e coinvolti nella patogenesi della malattia causata dall'infezione batterica

I **fattori di virulenza** sono il prodotto di un processo di co-evoluzione dei microorganismi con il loro ospite.

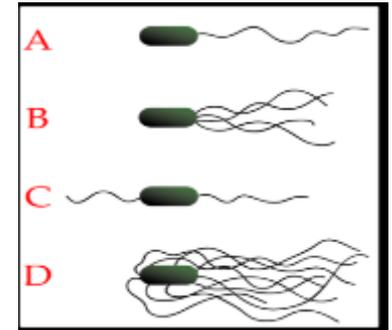
Durante l'evoluzione un microorganismo patogeno "*impara*" come sovvertire la fisiologia dell'ospite a proprio vantaggio, i.e. i fattori di virulenza sono creati "su misura" attorno a funzioni chiave fisiologiche.



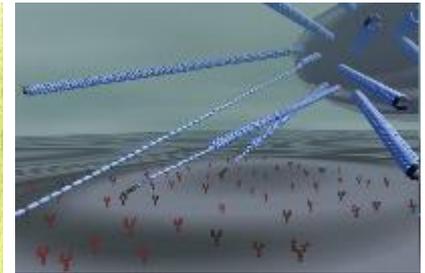
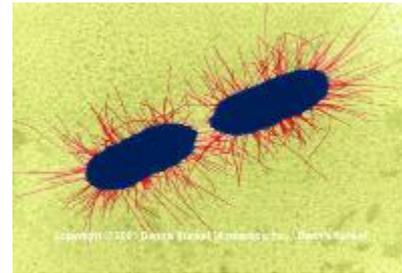
BATTERI COME SPINTA EVOLUTIVA!!!

FATTORI DI VIRULENZA

- **Flagelli:** aiutano la penetrazione negli strati mucosi e dentro i tessuti



- **Fimbrie e adesine:** mediano il legame del batterio alle cellule e alla matrice extracellulare



- **Enzimi:** degradano componenti dello strato mucoso

- **Tossine proteiche:** causano alterazione della fisiologia dell'ospite (esotossine) e/o dei suoi meccanismi di difesa in modo tale da promuovere la proliferazione e la diffusione batterica

LE TOSSINE BATTERICHE

Le tossine batteriche sono molecole elaborate e prodotte da batteri allo scopo di modificare l'ospite a proprio vantaggio.

Vantaggio = proliferazione e/o diffusione

Bersaglio più frequente sono le cellule e le molecole della Risposta Immunitaria, ma molti altri tessuti possono venir colpiti a seconda dei vantaggi specifici del batterio.

Le tossine batteriche sono disegnate dall'evoluzione attorno ad una funzione chiave dell'organismo ospite. Quindi studiarle significa:

- a) Conoscere meglio la patogenesi molecolare della malattia in cui esse sono coinvolte
- b) Conoscere allo stesso tempo meglio una funzione chiave dell'ospite
- c) Poter elaborare nuove strategie terapeutiche o preventive (farmaci, vaccini)
- d) Magari poter usare le tossine stesse come agenti terapeutici
- e) Poter utilizzare le tossine come strumenti nella ricerca biomedica

Proprietà delle tossine batteriche

<i>Proprietà</i>	<i>Esotossine</i>	<i>Endotossine</i>
<u><i>Chimiche</i></u>	Proteine secrete da batteri sia Gram-positivi che Gram-negativi Termolabili	LPS, lipoproteine rilasciate dalla lisi di batteri Gram-negativi, Termostabili
<u><i>Modo di azione</i></u>	Sintomi e azione specifici su cellule o tessuti definiti: <u>enterotossiche, neurotossiche,</u> <u>Citotossiche (o pantrope)</u>	Sistemico: febbre, diarrea, vomito, shock
<u><i>Immunogenicità</i></u>	Elevata: neutralizzabili da anticorpi	Modesta: non neutralizzabili da anticorpi

ESOTOSSINE BATTERICHE

- ◆ Proteine che danneggiano direttamente il tessuto o alterano il metabolismo della cellula bersaglio o innescano attività biologiche distruttive;
- ◆ Secrete o rilasciate a seguito lisi cellulare
- ◆ Prodotte da Gram+ e Gram-
- ◆ Talora responsabili uniche malattia
- ◆ Veleni più potenti conosciuti
- ◆ Generalmente enzimi
- ◆ Antigeniche e neutralizzabili da anticorpi

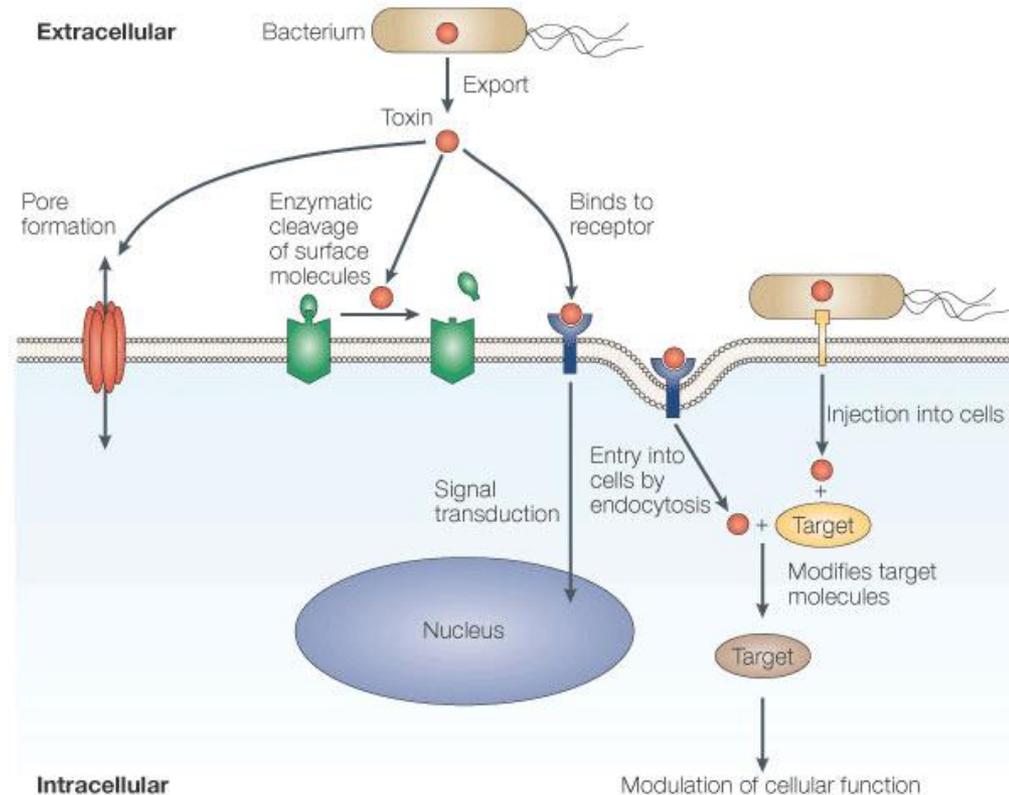
Meccanismi d'azione delle Esotossine

1) Tossine che agiscono sulla superficie della cellula eucariotica (circa il 35% di tutte le tossine)

- a) *creando un danno di membrana*
- b) *a livello di recettori di superficie*

2) Tossine che si legano a recettori superficiali e agiscono su bersagli intracellulari

3) Tossine che vengono iniettate dal batterio all'interno della cellula eucariotica e agiscono su bersagli intracellulari



1) TOSSINE CHE AGISCONO SULLA SUPERFICIE CELLULARE

- creando un danno a livello della membrana plasmatica

Agiscono tutte alterando la fisiologia e/o la struttura della membrana, determinando la lisi della cellula

3 CLASSI:

a) Tossine formanti PORI (Emolisine e Leucotossine)
(circa 70% delle tox che danneggiano la membrana)

b) Tossine che causano danno alle membrane attraverso una attività enzimatica

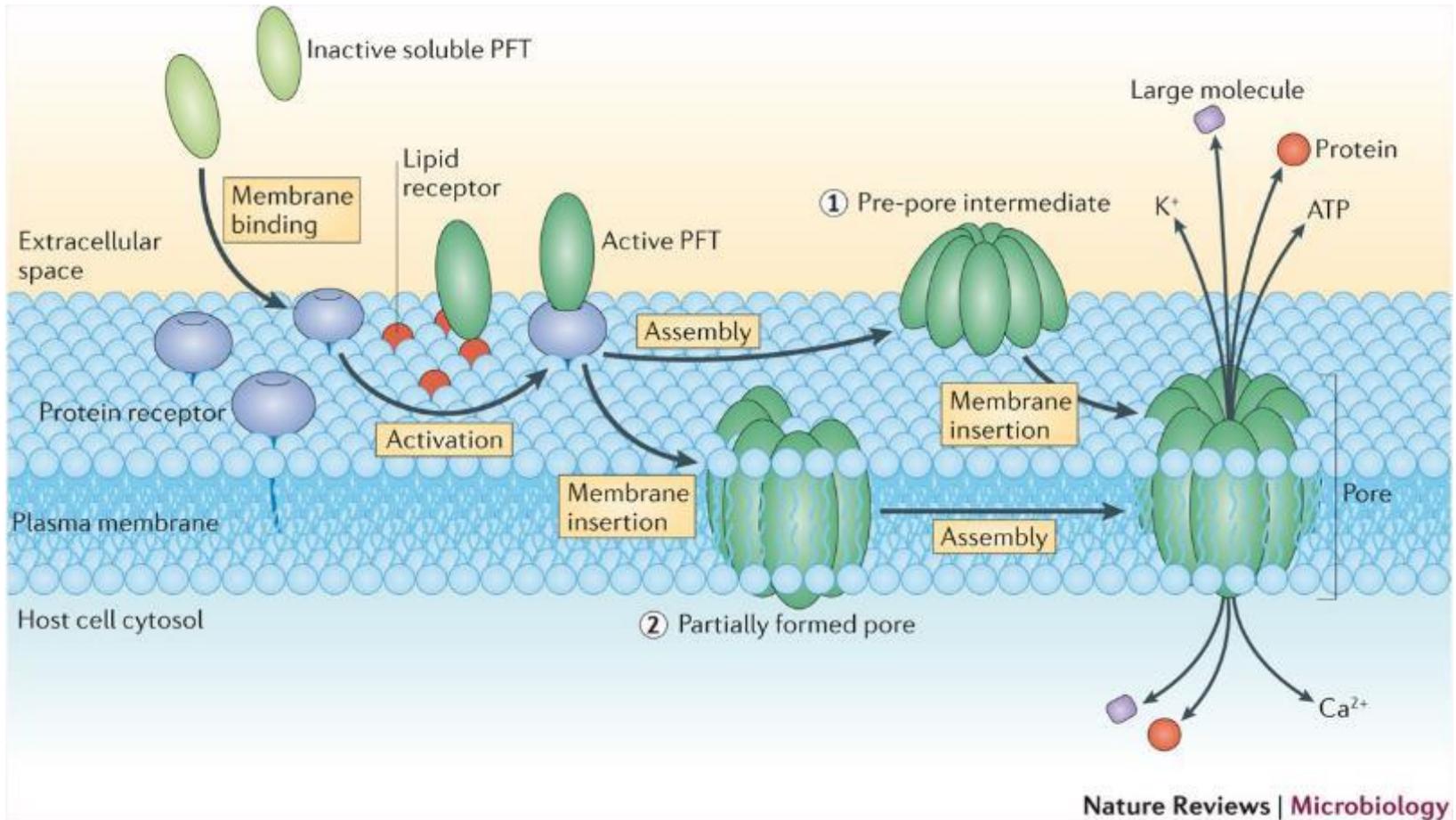
c) Tossine con effetto detergente sul doppio strato lipidico

a) TOSSINE FORMANTI PORI

Sono tossine prodotte dai batteri per attaccare i globuli bianchi dell'organismo ospite riducendone così le difese immunitarie (LEUCOTOSSINE).

Danneggiano ed uccidono le cellule permeabilizzandone la membrana plasmatica mediante la formazione di pori, oligomerici.





Dal Peraro & Van der Goot, 2016

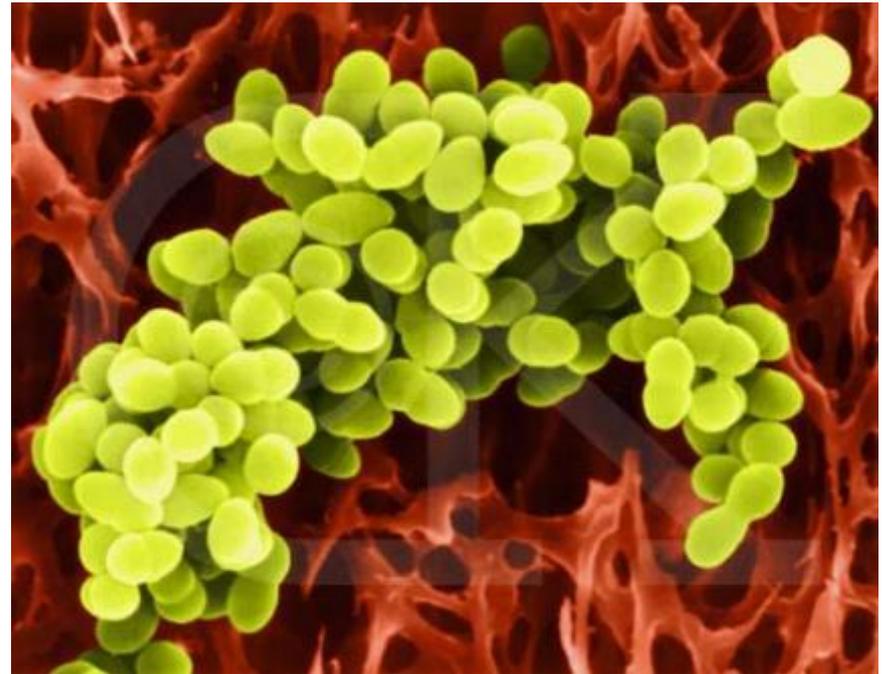
**Esempio di tossina formante pori:
 α -TOSSINA DI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Gram positivo

Capsulato

Aerobio/anaerobio facoltativo

Diffuso uomo e animali



Le infezioni da *Staphylococcus aureus* sono fra le più comuni infezioni da cocchi Gram positivi.

S. aureus è un cocco piogenico, con strutture a grappoli, che causa un gran numero di infezioni cutanee, polmoniti, endocarditi, una forma di shock tossico, avvelenamento alimentare, ecc.

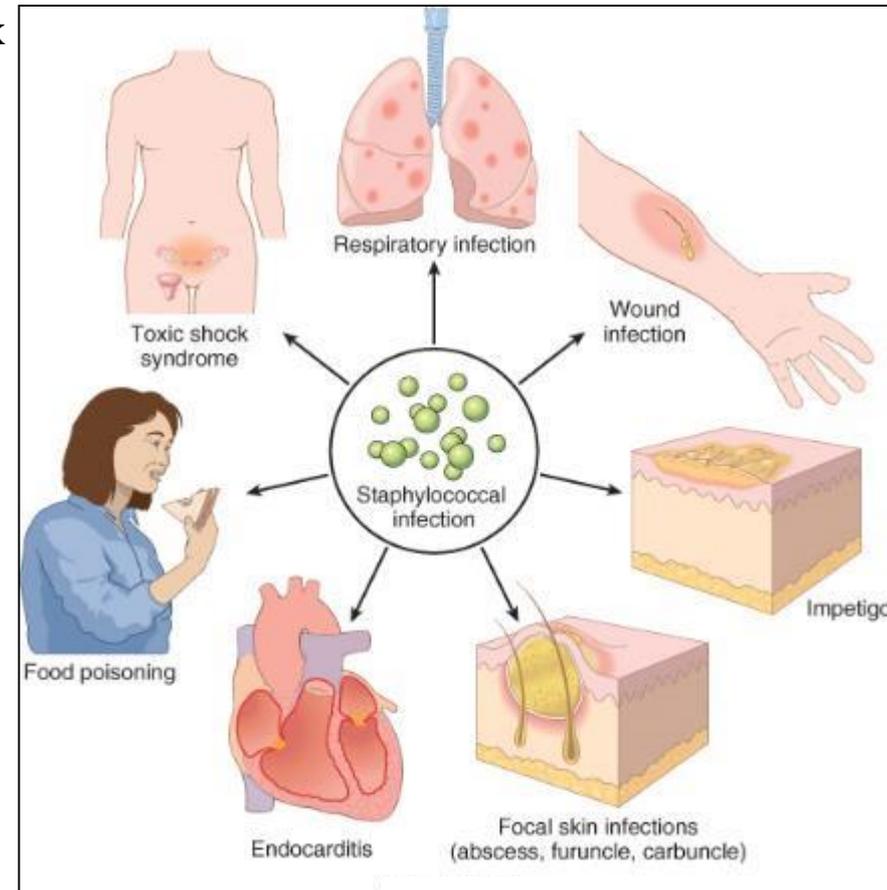
Questi cocchi hanno un gran numero di geni di virulenza, presenti o meno in un dato ceppo:

-proteine coinvolte nell'adesione ai tessuti dell'ospite (ad es. recettori per componenti della matrice extracellulare)

-enzimi idrolitici (proteasi, lipasi)

-tossine secrete (es. α -tossina, che forma pori nelle membrane);

-superantigeni; essi iperattivano i linfociti T, con conseguente massiccio rilascio di citochine pro-infiammatorie che aumentano la permeabilità vasale, e danneggiano sistema respiratorio, fegato e reni, e causano morte per shock endotossico.



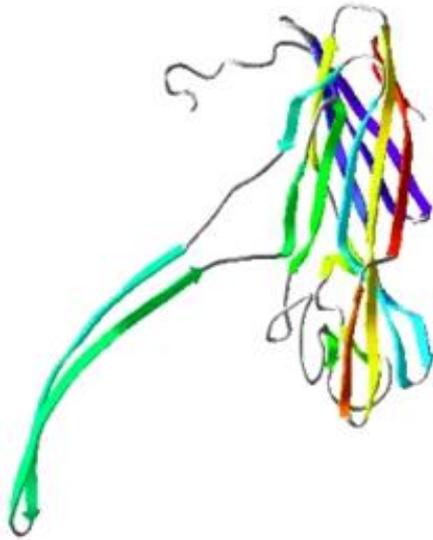
Varie conseguenze di un' infezione da stafilococchi

Tabella 1.4 Principali fattori che intervengono nella patogenicità di Staphylococcus aureus
[1]

Esotossine	Citolisine (o emolisine) α , β , γ , δ Leucocidine Tossina epidermiolitica Enterotossine Tossina dello shock tossico (TSS-1) Tossine pirogene
Esoenzimi	Coagulasi Stafilochinasi Ialuronidasi Proteasi Enzimi lipolitici DNAasi
Componenti strutturali e altre attività biologiche	Capsula Proteina A Coagulasi Catalasi e superossidodismutasi

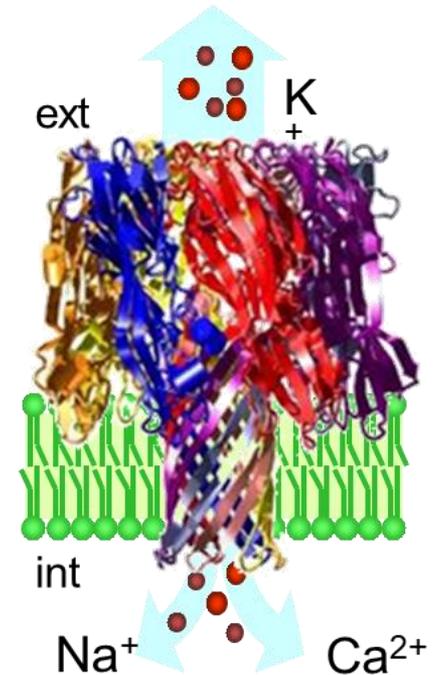
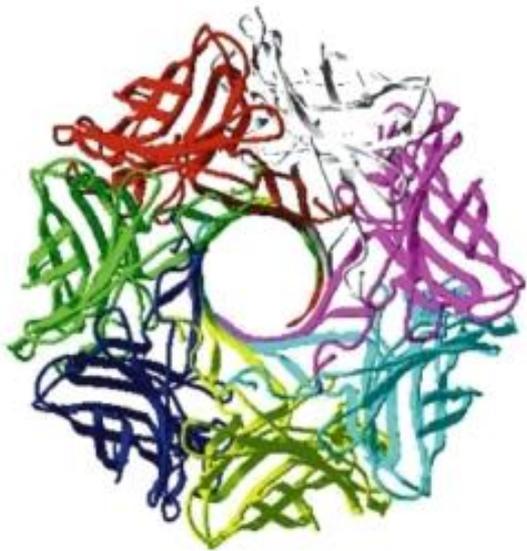
STRUTTURA DELLA α -TOSSINA DI STAFILOCOCCUS AUREUS

monomero



Si lega alla membrana cellulare attraverso recettori specifici nei GR, nelle piastrine e nei monociti o attraverso la fosfatidilcolina e il colesterolo in tutte le cellule di mammifero

eptamero

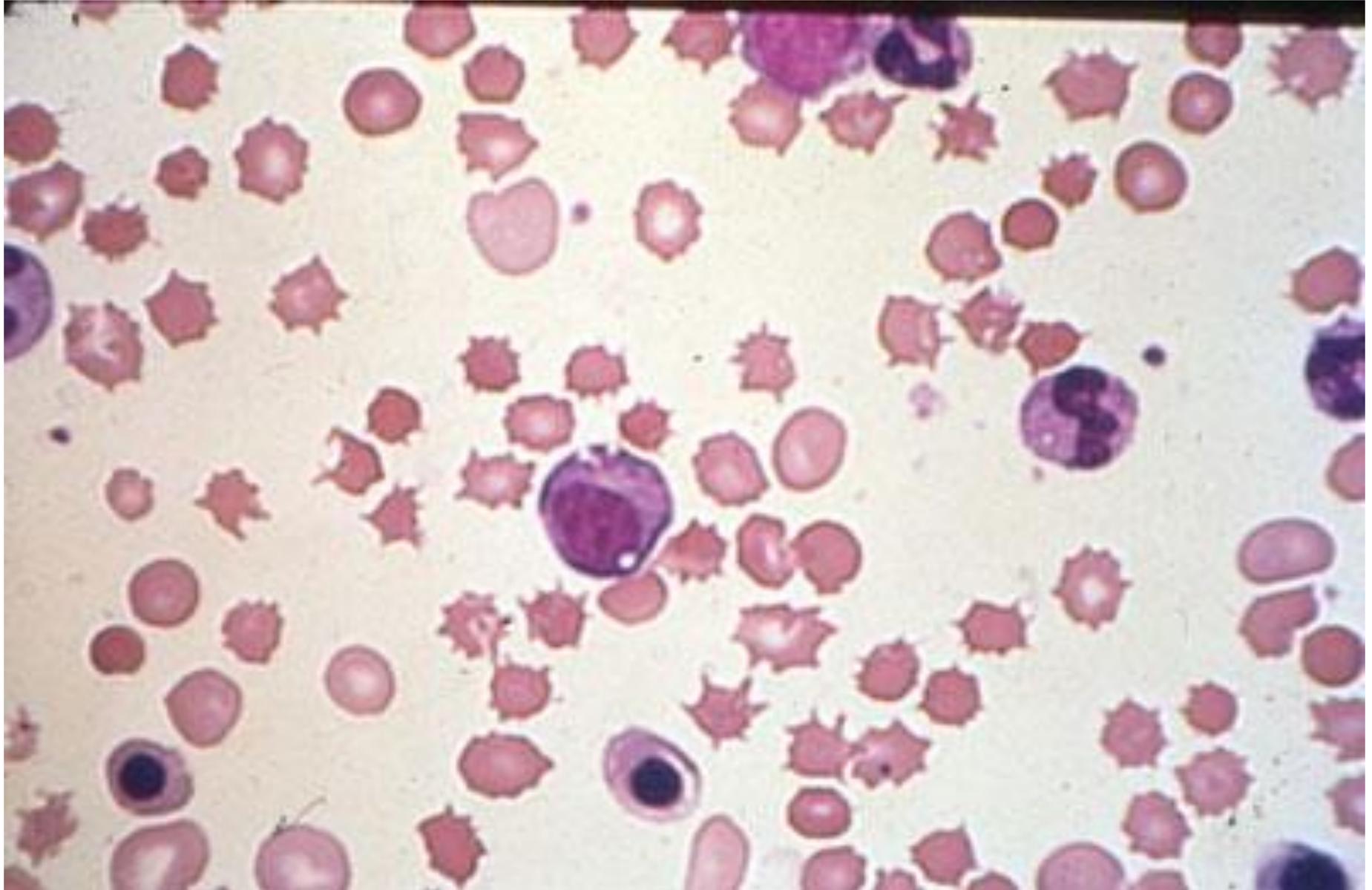


Alfa-tossina di Stafilococco aureo. Quando oligomerizza sulla membrana cellulare è costituita da 7 unità identiche e forma dei pori acquosi attraverso cui passano in modo incontrollato acqua, sali e metaboliti.

Le dimensioni del poro sono piccole

- Passano ioni
- Non passano amminoacidi, zuccheri, peptidi
- Il risultato è: un'equilibratura delle conc. ioniche fra esterno ed interno ed uno squilibrio della distribuzione delle molecole più grandi che determinano una Π_{osm}
- La Π_{osm} più elevata dentro determina un richiamo di acqua che permea attraverso la membrana plasmatica e fa gonfiare la cellula fino a che essa scoppia
- La cellula muore di lisi osmotica

Cellule del sangue esposte ad una tossina che forma pori



Il risultato della lisi osmotica è particolarmente grave quando riguarda cellule macrofagiche:

Neutrofili, macrofagi etc.

La loro morte per lisi osmotica causa il rilascio di tutte le armi che queste cellule hanno elaborato con lo scopo di uccidere e degradare batteri creando danni ai tessuti circostanti.

Ascessi, Pus etc. sono caratteristici di batteri come Stafilococchi e Streptococchi che producono tossine che formano pori sulle membrane delle cellule

b) Tossine che agiscono sulla membrana attraverso un'attività enzimatica

Sono fosfolipasi che attaccano la membrana delle cellule eucariotiche inducendo da sole o in collaborazione con altri enzimi la lisi cellulare

Table 5. Enzymatic cytolysins

Enzymatic activity	Organism	Toxin/ Acronym	Mol. weight (kDa)	Ref.
Phospholipase A ₂ (Lysophospholipase)	Vibrio parahaemolyticus	LDH	43-45	1
Phospholipase C <i>RIAMOVE LA FOSFO, TALCOLOINA</i>	Clostridium perfringens	α -toxin	30	2
			30	2
			23	2
			78	3
			28	4
			26	4
Sphingomyelinase*			37	5
Phospholipase D			39	5
			31	6
			31	6
			69	8
				8
Cholesterol oxidase			61	9
				8

*PERMONECROTA
ENOLITICA*

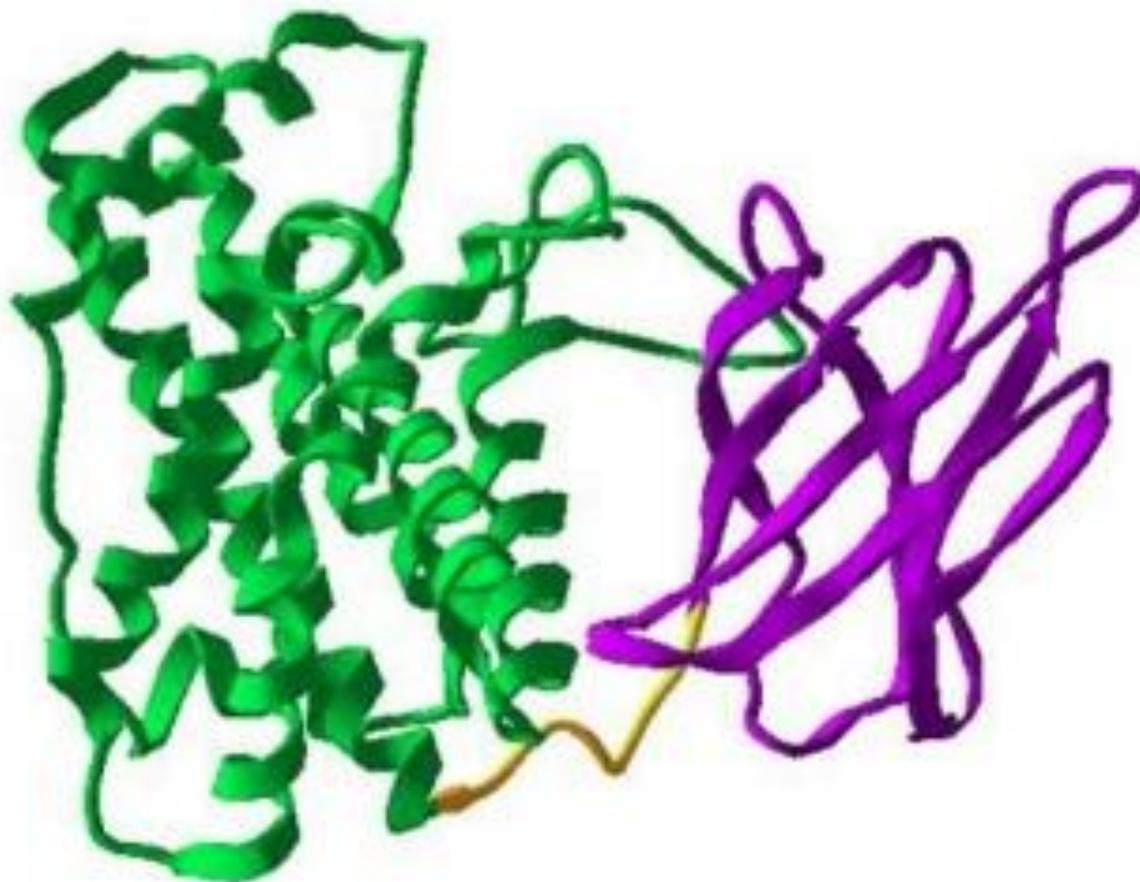
PLA1

PLA2

PLC

PLD

Esempio: α -tossina di *Clostridium perfringens* è una fosfolipasi C con azione dermonecrotica ed emolitica che causa la GANGRENA GASSOSA



Clostridium perfringens

- La gangrena gassosa rappresenta la forma estrema di infezione clostridica necrotizzante. Una ferita poco ossigenata contaminata dalle spore clostridiche ne permette la germinazione e la produzione della tossina che causa necrosi al connettivo e ai muscoli circostanti.
- La malattia è caratterizzata da edema, necrosi, colliquazione e formazione di gas della parte infetta; si ha anche sovrapposizione di infezione da piogeni in grado di aumentare la gangrena.