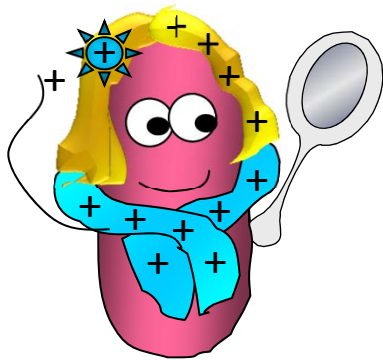
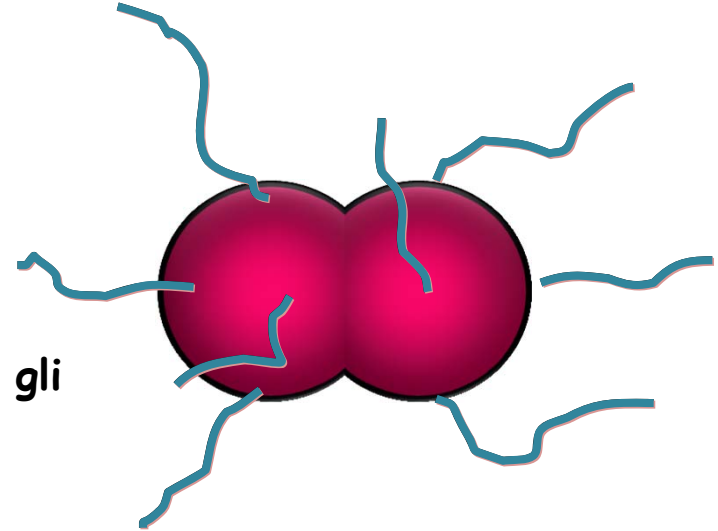




Sfuggire al S.I.: ci sono molte strategie

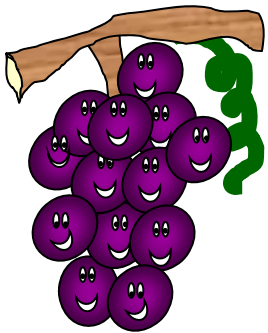
Evitare di indurre la
formazione di Ab

Variando frequentemente gli
antigeni superficiali
Es. Neisseria Borrelia

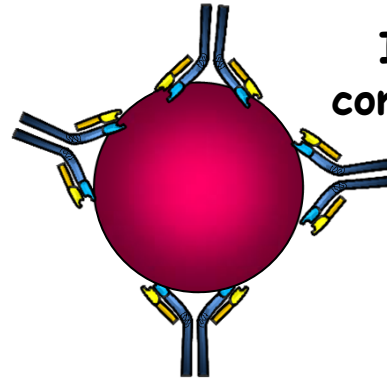
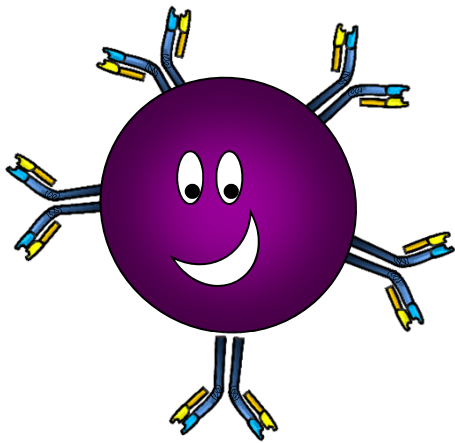


Introdurre gruppi carichi positivamente
(es, D-Ala) negli strati esterni

Protegge dall'azione delle defensine



Alcuni antigeni legano il frammento Fc delle Ig
Es. Proteina A (*S. aureus*)

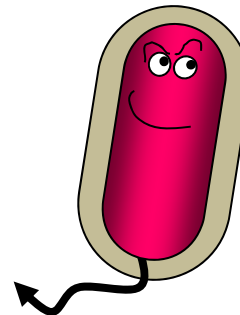


Interazione corretta, il
complemento può intervenire

la cellula batterica è ricoperta da anticorpi che non sono in grado
di agire, non possono legare C' e mascherano il patogeno

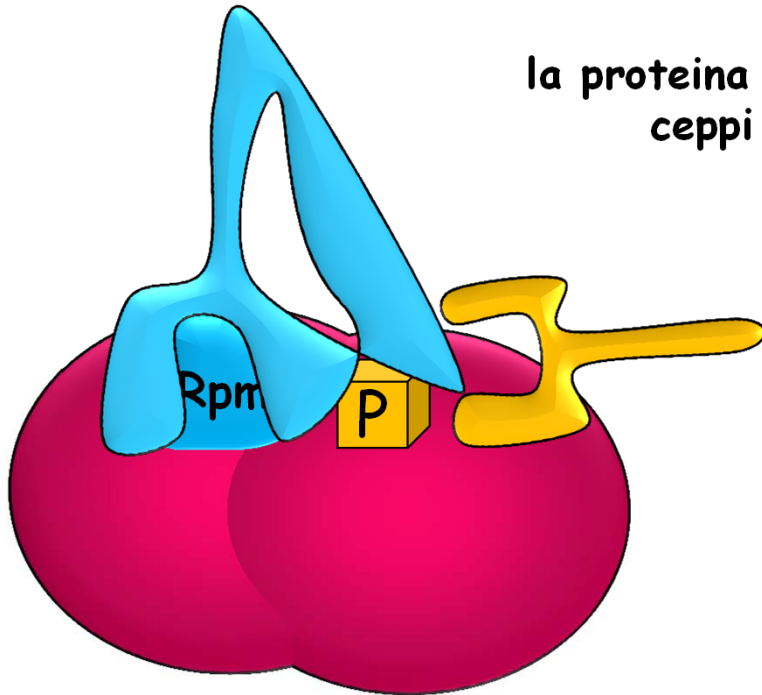
STRATI S

Impediscono la penetrazione
del M.A.C



Induzione di anticorpi inefficaci:
in *Neisseria*, la OMP Por è importante per la virulenza

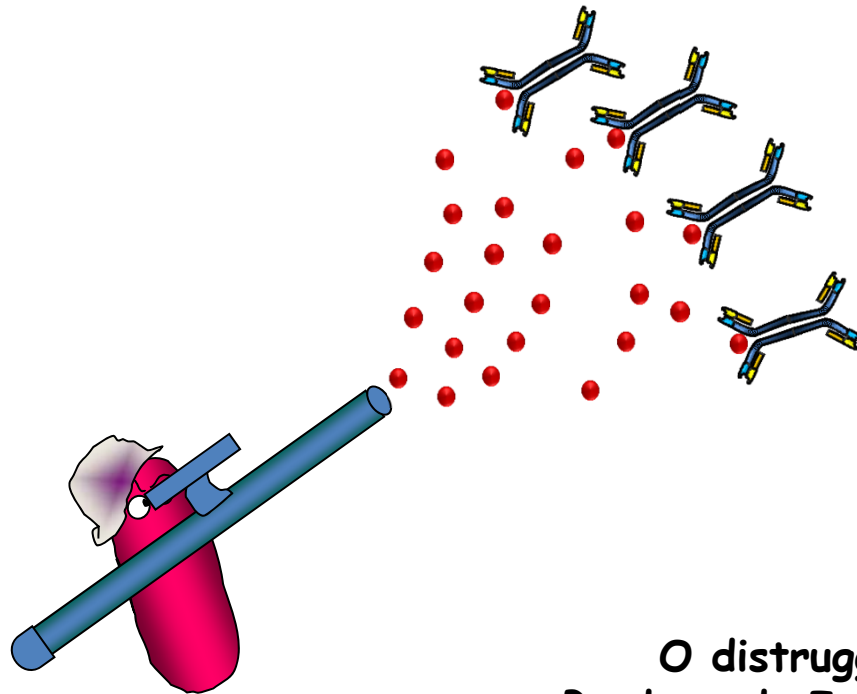
la proteina di membrana OMP-III (Rpm), comune a tutti i
ceppi di *Neisseria*, è associata al LOS e a Por



non è soggetta a variazioni di fase: è
sempre presente e abbondante

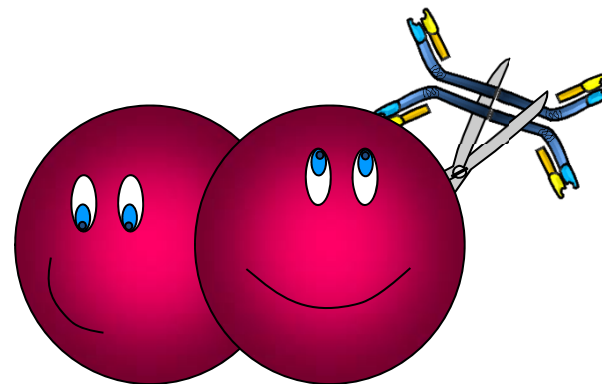
Gli Ab anti-Rpm impediscono agli Ab anti-Por di
raggiungere il proprio bersaglio, per ingombro sterico

Gli anticorpi si possono
distrarre...



Rilasciando grandi quantità
di antigeni solubili

O distruggere..
Producendo IgA-proteasi



EVITARE I FAGOCITI

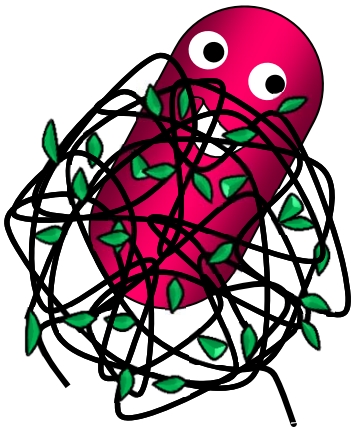
Evitare i posti.. mal
frequentati

La pelle e zone come i
dotti ghiandolari non sono
sorvegliate....

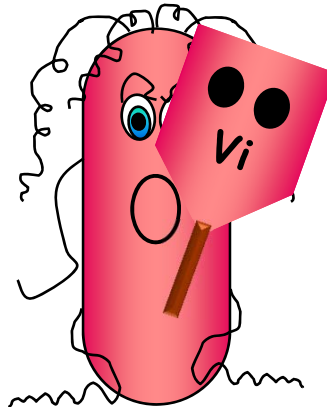
NON FARSI RICONOSCERE

Occultare la propria superficie

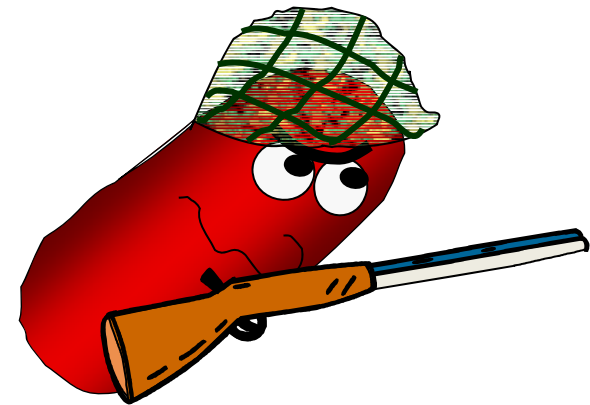
NASCONDERSI



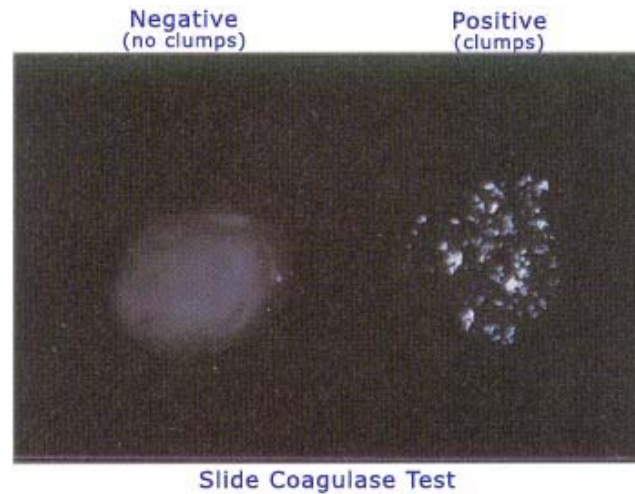
MASCHERARSI



MIMETIZZARSI



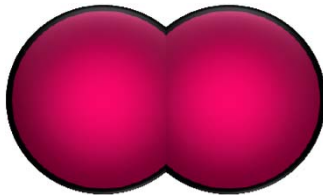
NASCONDERSI



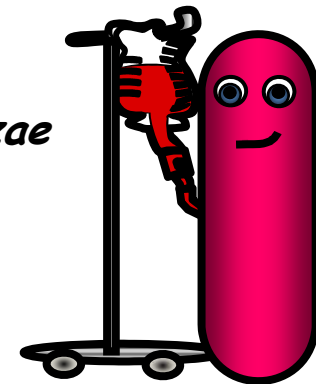
S. aureus si circonda di coaguli di fibrina grazie alla coagulasi

MASCHERARSI

legando molecole dell'ospite
es. *Neisseria gonorrhoeae* ed *Haemophilus influenzae*



usano l'acido sialico dell'ospite fissandolo al LOS con una sialil-transferasi

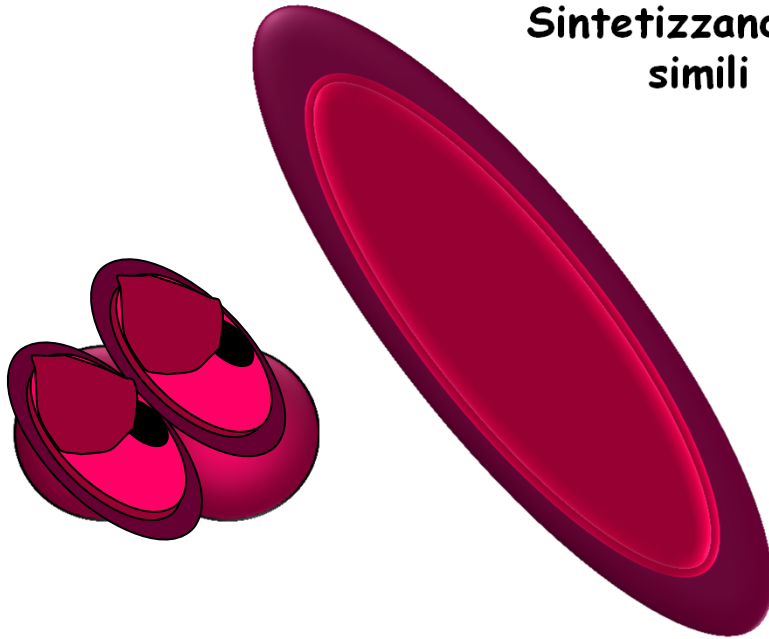


MIMETIZZARSI

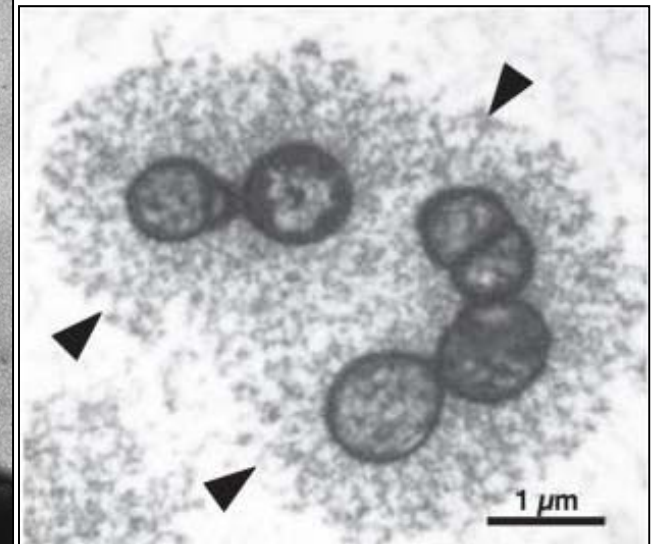
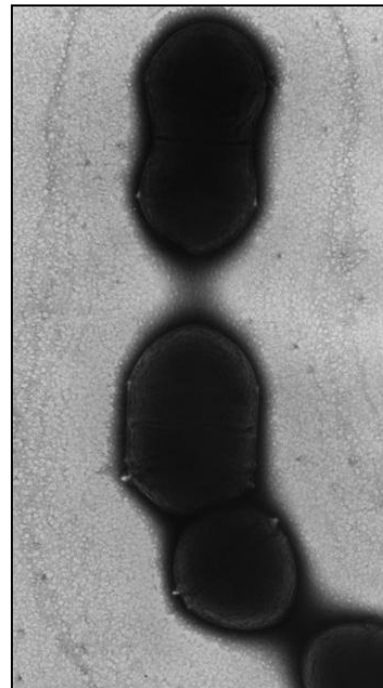
Sintetizzando molecole di superficie
simili a quelle dell'ospite

Il LOS di *Helicobacter pylori* è simile
all'antigene di Lewis (gruppi sanguigni)

Alcuni meningococchi sintetizzano
acido sialico de novo



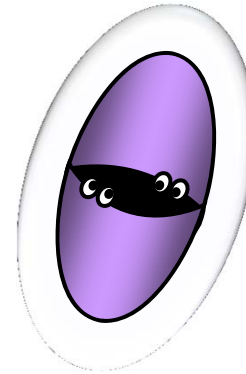
S. pyogenes produce una
capsula di acido ialuronico



Una volta trovati... **RESISTERE**

I polisaccaridi capsulari
(pneumococco, Klebsiella, Emofilo)

Diversi elementi di superficie
hanno un'azione antifagocitaria



ASM MicrobeLibrary.org © Pritt

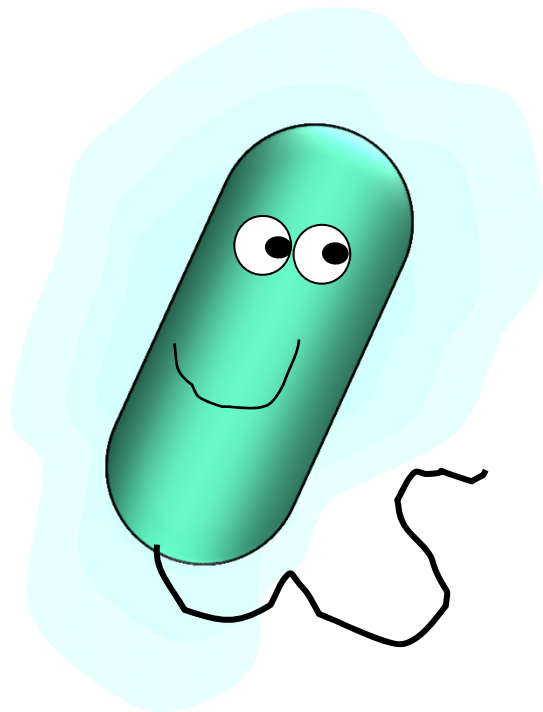


l'estremità N-ter della prot.M di *S. pyogenes*, è antifagocitaria

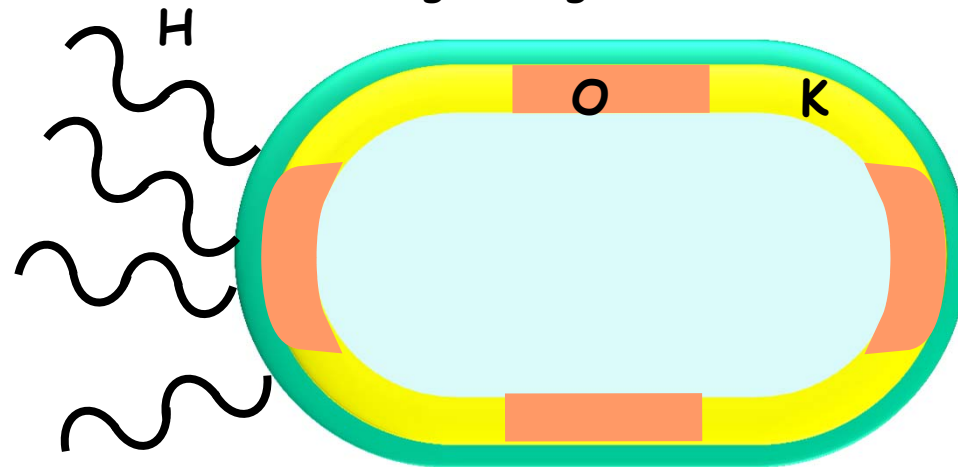
blocca anche la deposizione
delle frazioni di C'

Tra i gram-negativi questa funzione è svolta

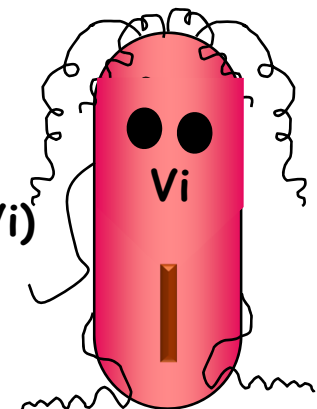
Dallo slime di *Pseudomonas aeruginosa*



Dagli antigeni O di *E. coli*

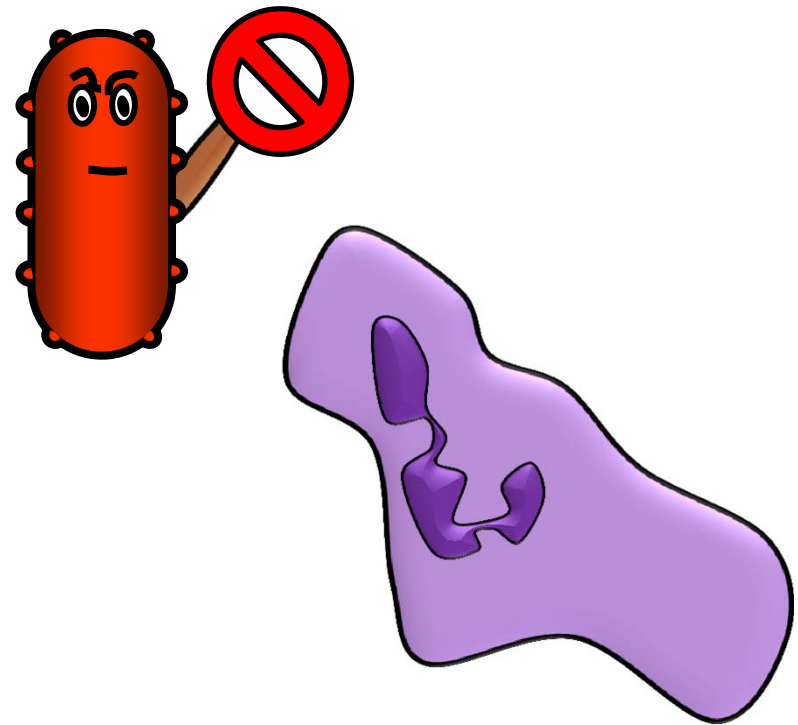


Dagli antigeni K degli
enterobatteri (in *Salmonella*: Vi)



Un'altra opzione è evitare che i fagociti arrivino

Le emolisine streptococciche, alcuni frazioni di
Mycobacterium tuberculosis



Possono inibire la chemotassi
dei neutrofili

OPPURE UCCIDERLI QUANDO GIUNGONO

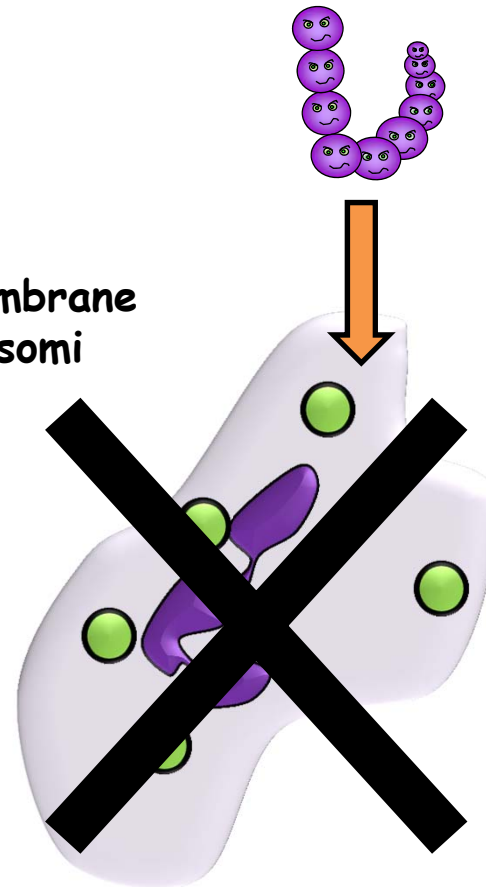
I cocci Gram-positivi patogeni producono
enzimi extracellulari (emolisine/leucocidine)
che uccidono i fagociti

la streptolisina O si lega al colesterolo delle membrane
eucariotiche e provoca la degranulazione dei lisosomi

Gli enzimi, riversati nel
citoplasma, uccidono la cellula

Lo stesso effetto si ha anche
subito dopo la fagocitosi

Anche le leucocidine stafilococciche
sono in grado di uccidere i neutrofili

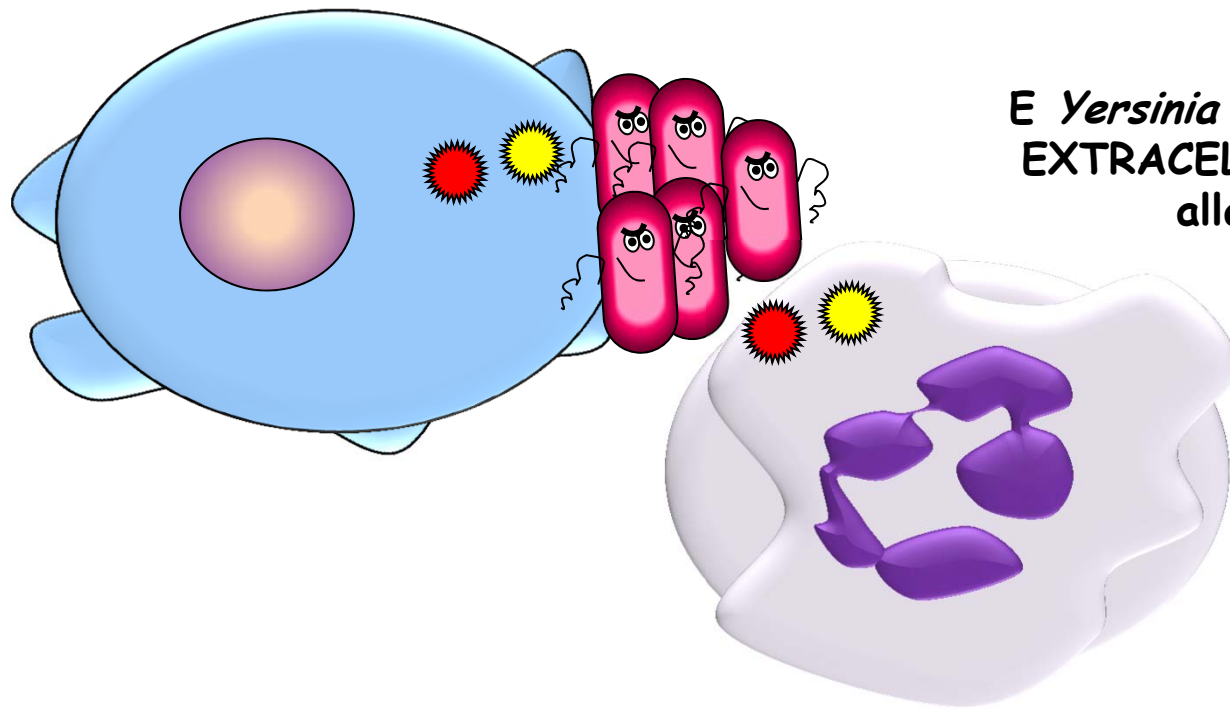


Yersinia evita la fagocitosi

Aderendo a Macrofagi e PMN

E paralizzandone il citoscheletro di actina
(T3SS → YOP E/H)

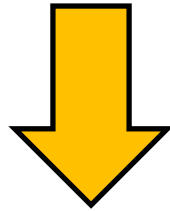
i fagociti si arrotondano (Yop E/H)



E *Yersinia* cresce in aggregati
EXTRACELLULARI resistenti
alla fagocitosi

Un'altra possibile strategia è quella di ENTRARE nelle cellule (invadere)

non fagocitarie

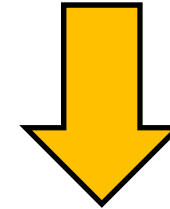


Elusione del S.I.

fuga nel citoplasma
(*Listeria*, *Shigella*)

Permanenza nel vacuolo
(transcitosi → sito bersaglio)

fagocitarie



Strategie
dedicate alla
sopravvivenza

Adattamento e replicazione in
Compartimenti lisosomiali (*Coxiella*)

Blocco della maturazione fagosoma
(*Legionella*, *Mycobacterium*,
Salmonella, *Chlamydia*)

Un buon esempio di diversi adattamenti, tra cui l'ingresso nelle cellule, è quello dei ceppi UPEC di *E. coli*, che si sono adattati ad un ambiente per colonizzare un ambiente molto particolare

I ceppi UPEC possiedono fattori di virulenza critici per:

EVITARE LE DIFESE

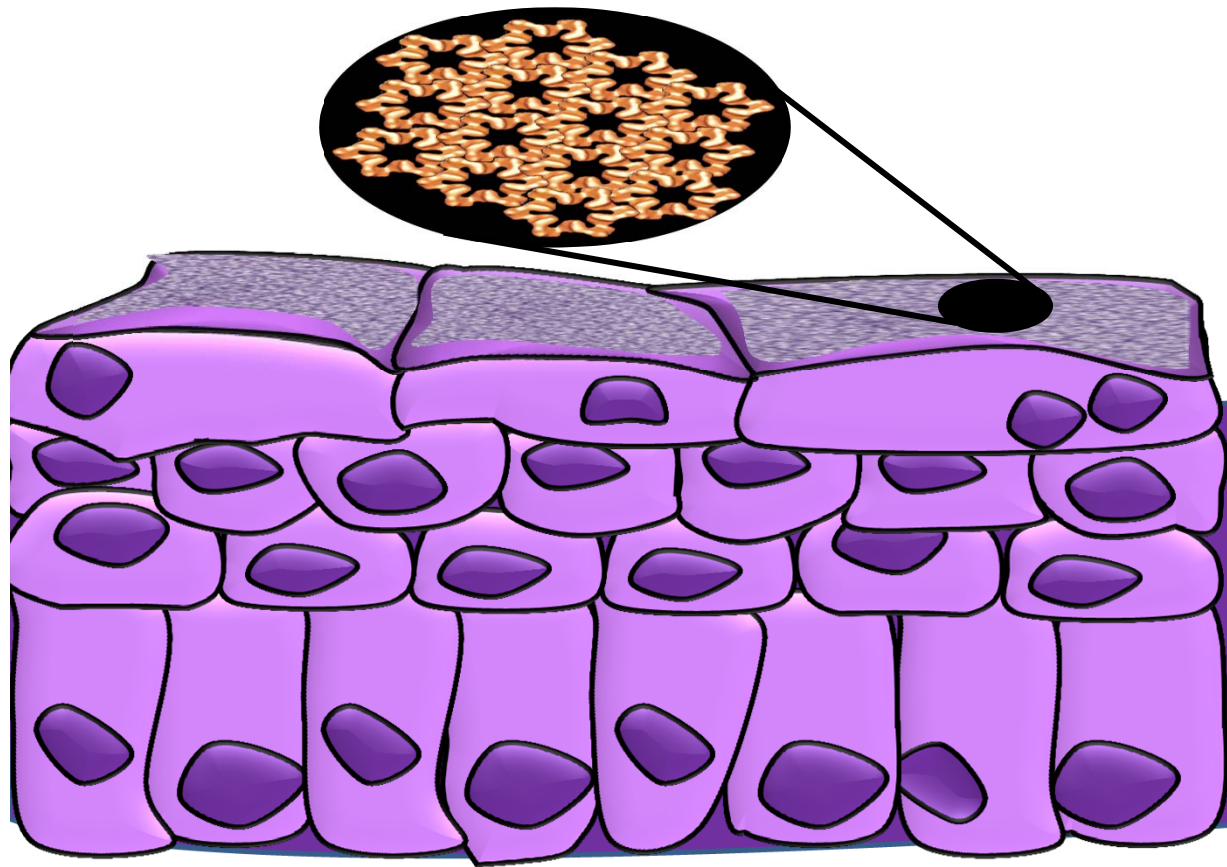
COLONIZZARE PIÙ EFFICACEMENTE

PERSISTERE

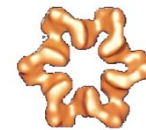
EPITELIO URINARIO (DI TRANSIZIONE)

uno strato basale (cellule cubiche o clavate) e uno superiore di cellule a ombrello, a volte binucleate

La superficie apicale delle cellule-ombrello è parzialmente ricoperta da uno strato proteico cristallino regolare

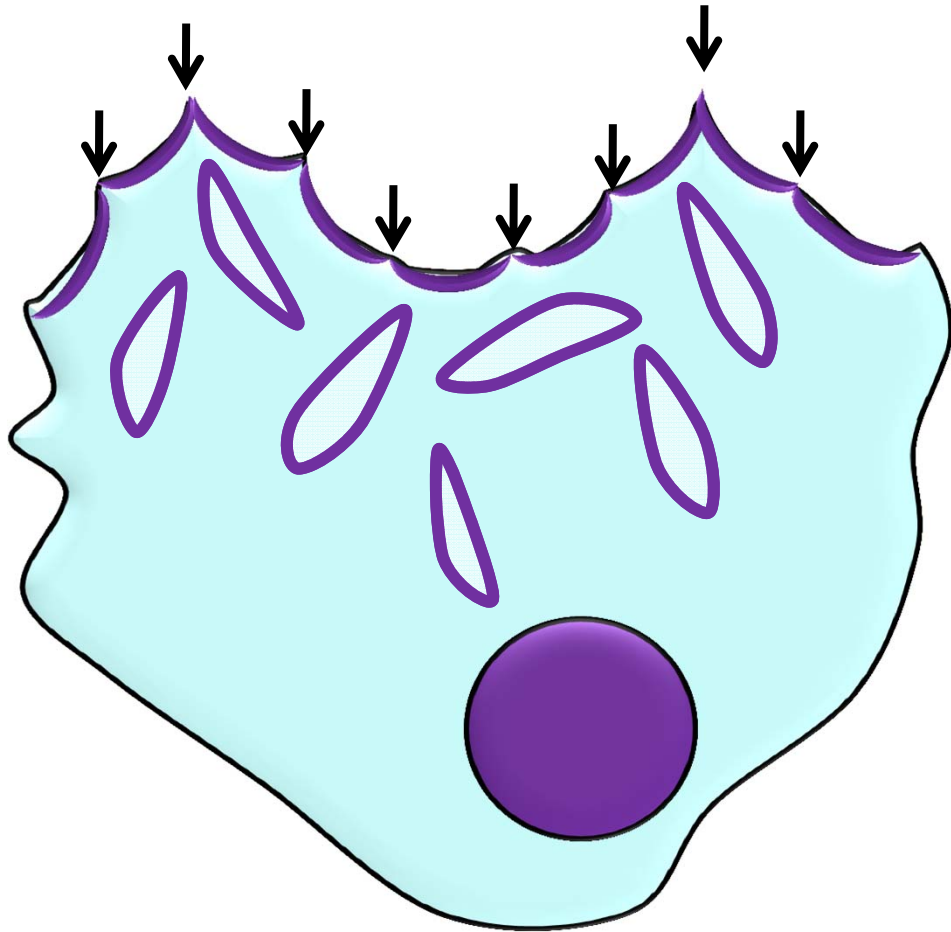


Formato da subunità di uroplachina

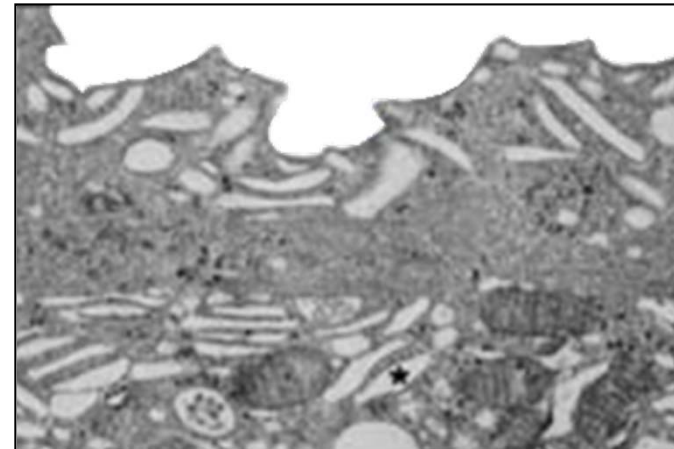


sulla superficie apicale
le placche cristalline

Si alternano con regioni di
raccordo prive di placche

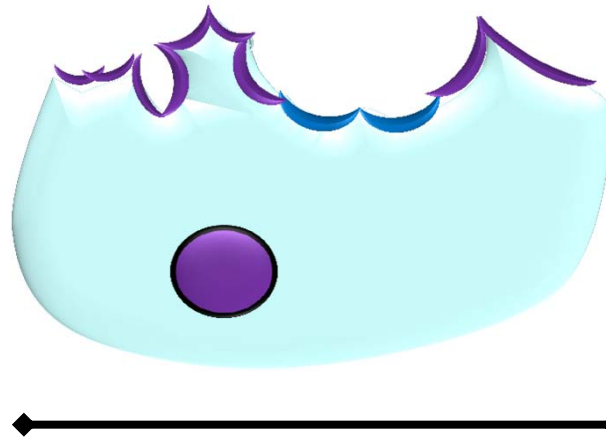
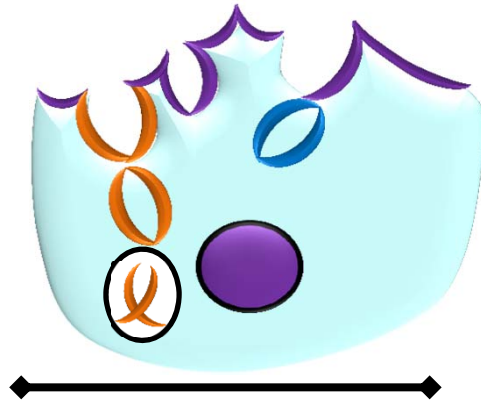


nelle cellule ombrello si trovano
vescicole fusiformi



con membrane caratterizzate da
strati cristallini di uroplachina

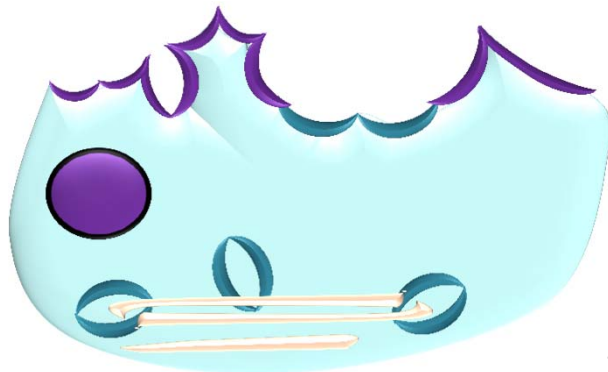
Riempimento: la membrana apicale recluta le vescicole fusiformi subapicali in modo dinamico



**Esocitosi + endocitosi
delle vescicole**

**Il bilancio aumenta comunque
la superficie cellulare**

**L'endocitosi porta le
vescicole ai lisosomi**

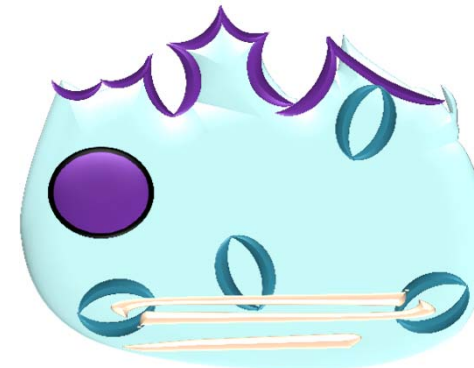


**Svuotamento: endocitosi
delle vescicole aggiunte**

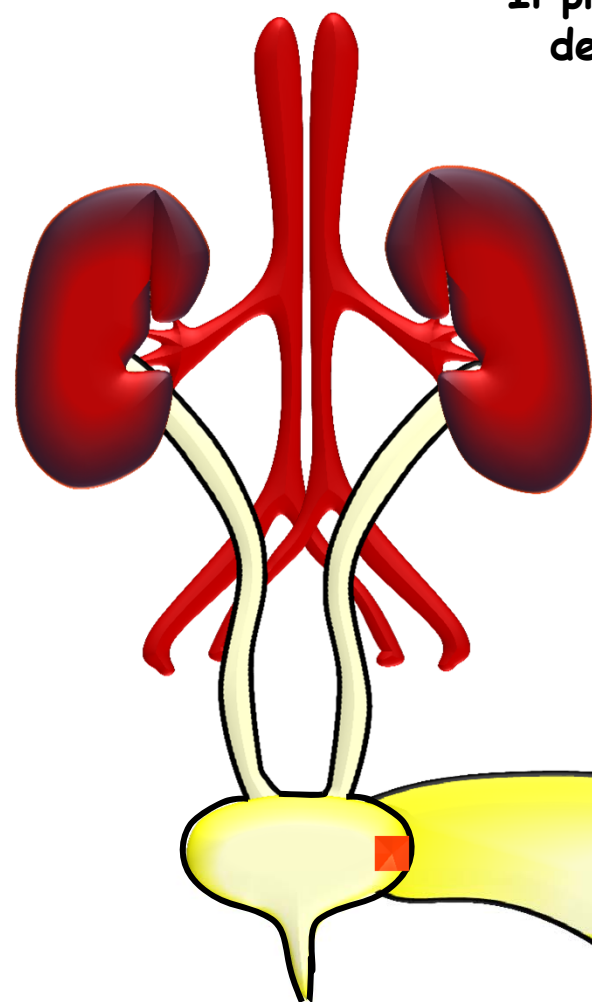
**Sintesi di nuove
vescicole dal Golgi**



**Il pool di vescicole
intracellulare si ricostituisce**



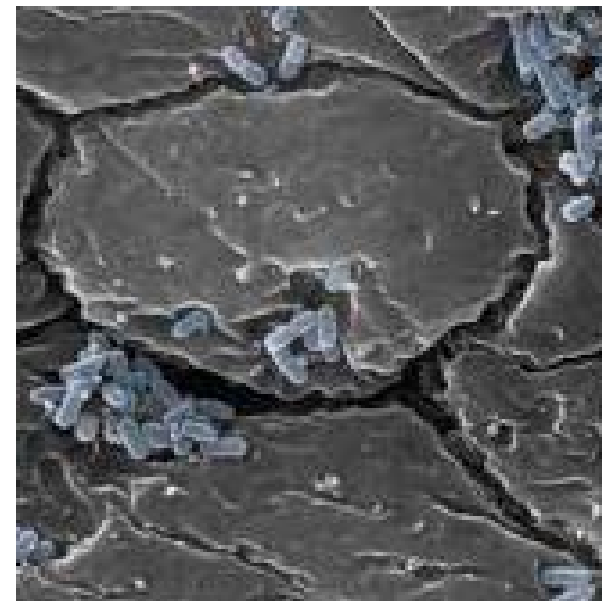
**Il primo passo per una UTI è la contaminazione
dell'area periuretrale da parte di un UPEC**



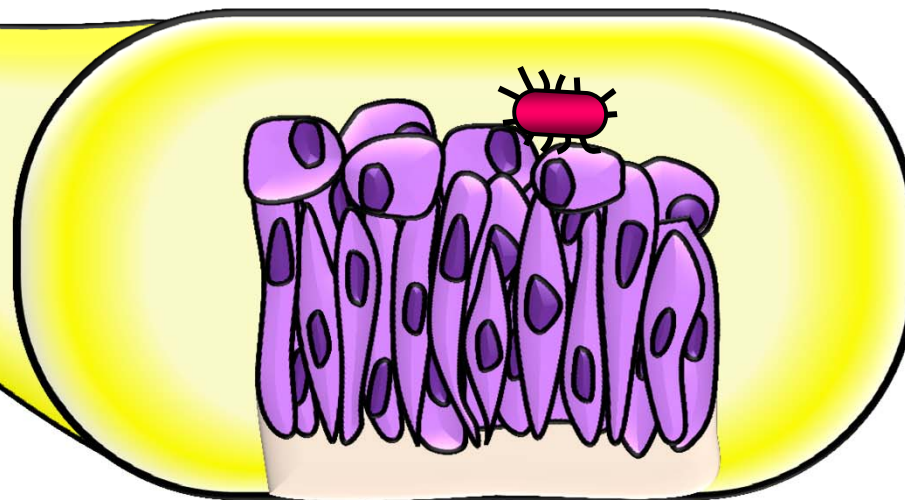
**Seguita dall'adesione
all'urepitelio**



UPEC colonizzatore



**adesione alle cellule uroepiteliali
(FimH-fimbrie di tipo 1)**



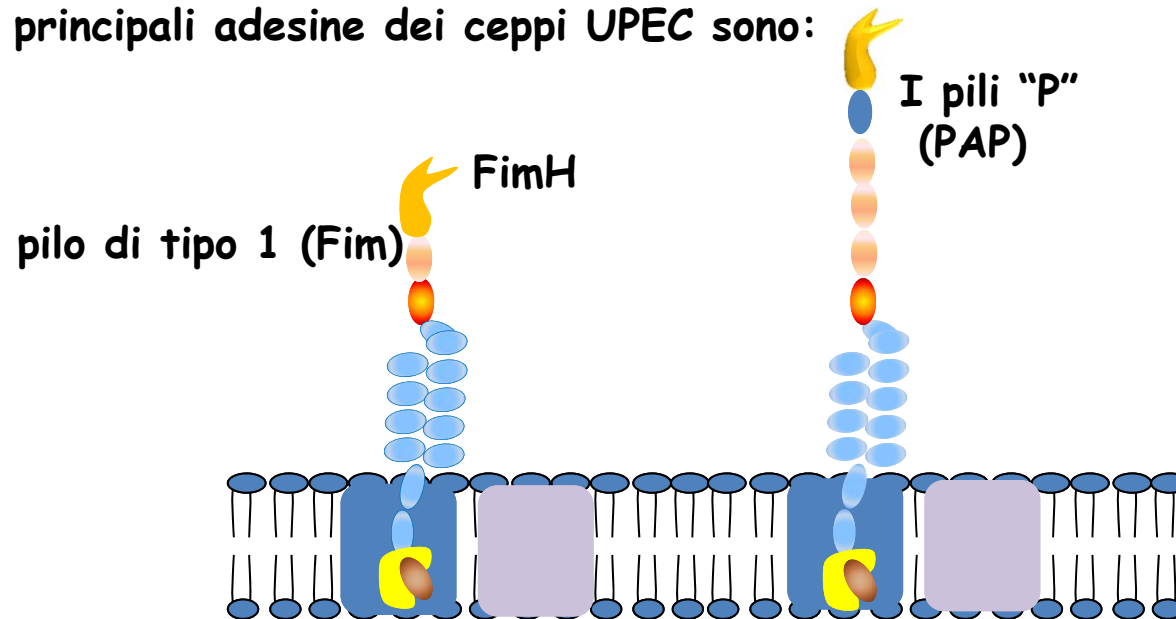
Un punto chiave della virulenza dei ceppi UPEC è la produzione di adesine

Che facilitano l'ascesa dei batteri lungo le vie urinarie e le relazioni con il tessuto epiteliale

Alcuni genomi di UPEC possono avere >10 diversi cluster genici che codificano fimbrie

I fattori ambientali favoriscono le variazioni di fase e la creazione di sottopopolazioni aumentando le possibilità di
aderenza invasione (specificità di ospite)

Le principali adesine dei ceppi UPEC sono:



Le fimbrie di tipo I sono le più diffuse tra i ceppi e sono associate alla loro virulenza

La loro presenza è determinante per la patogenesi delle UTI

adesione

Invasione

Formazione
di biofilm

FimH riconosce diversi recettori contenenti mannosio nelle glicoproteine dell'ospite

Il recettore principale è l'uropalachina Ia, la più abbondante proteina di rivestimento delle cellule BEC

numero di fimbrie + arrangiamento cristallino dell'uropalachina che ricopre le cellule superficiali



legame stabile e forte

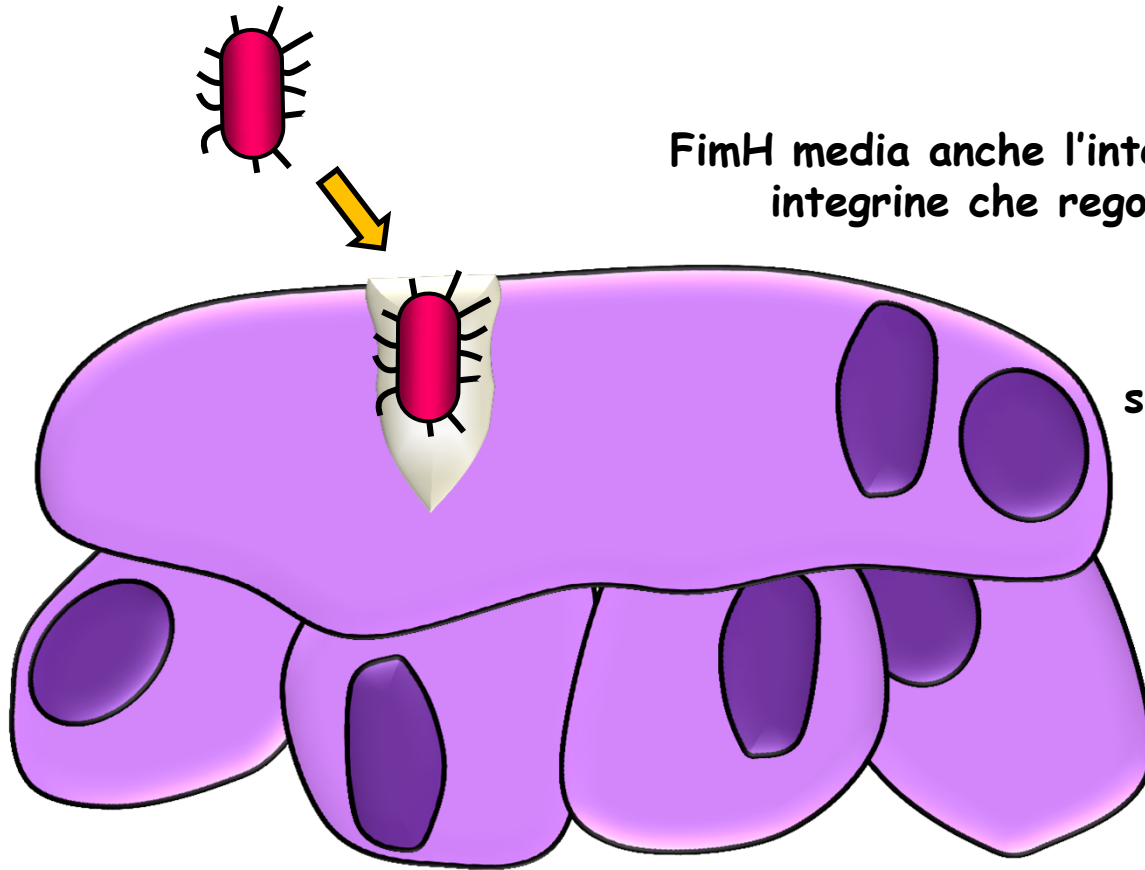
INVASIONE

Porta i batteri adesi all'interno delle cellule-ombrello

Il traffico delle vescicole che alterna endo a esocitosi

FimH media anche l'internalizzazione interagendo con le integrine che regolano le dinamiche dell'actina

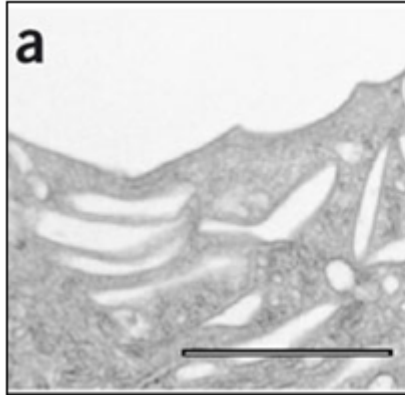
L'internalizzazione avviene in spazi non delimitati da membrana



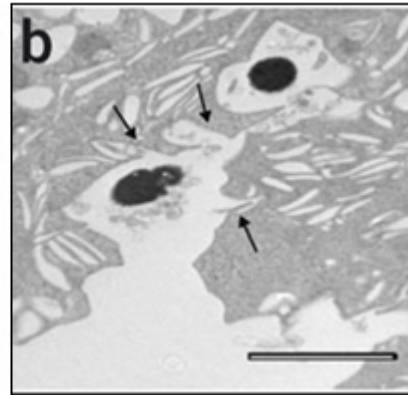
Il polimorfismo nelle integrine $\alpha 3\beta 1$ e in altri recettori è una possibile causa per la maggiore suscettibilità di alcuni individui a soffrire di UTI, ricorrenti o croniche

**UPEC CI5 in canali
tubulari nel citoplasma**

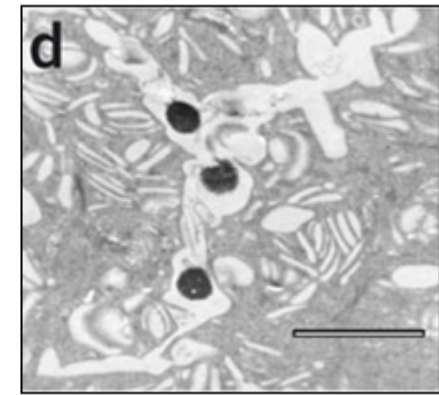
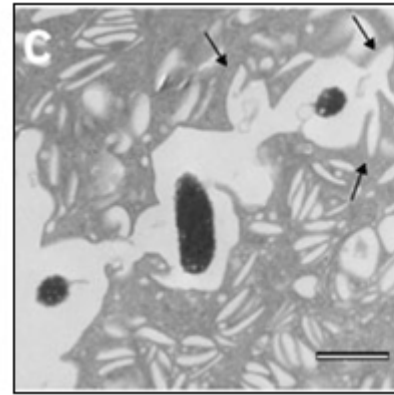
epitelio vescicale non infetto



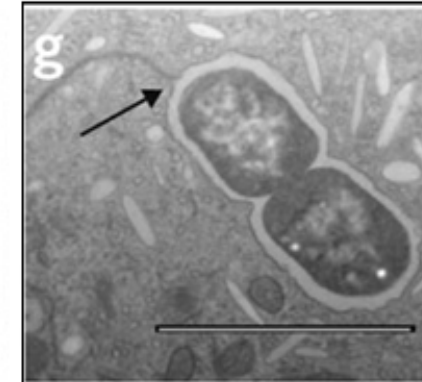
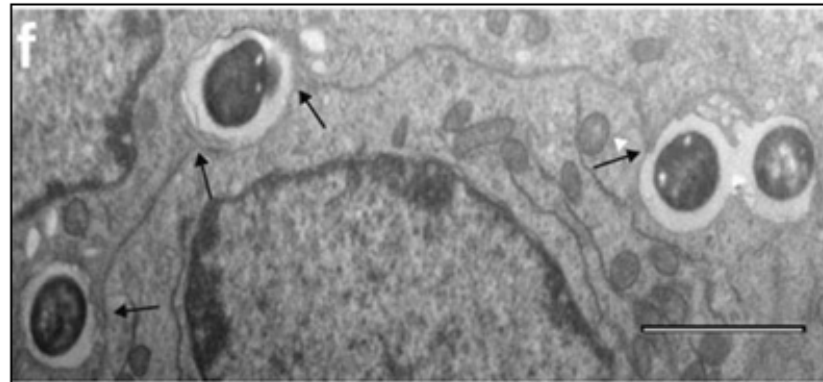
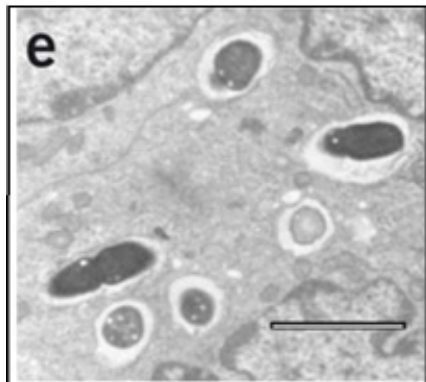
**batteri adesi alle placche, associati
a vescicole fusiformi fuse**



**non più in contatto con la
superficie luminale**



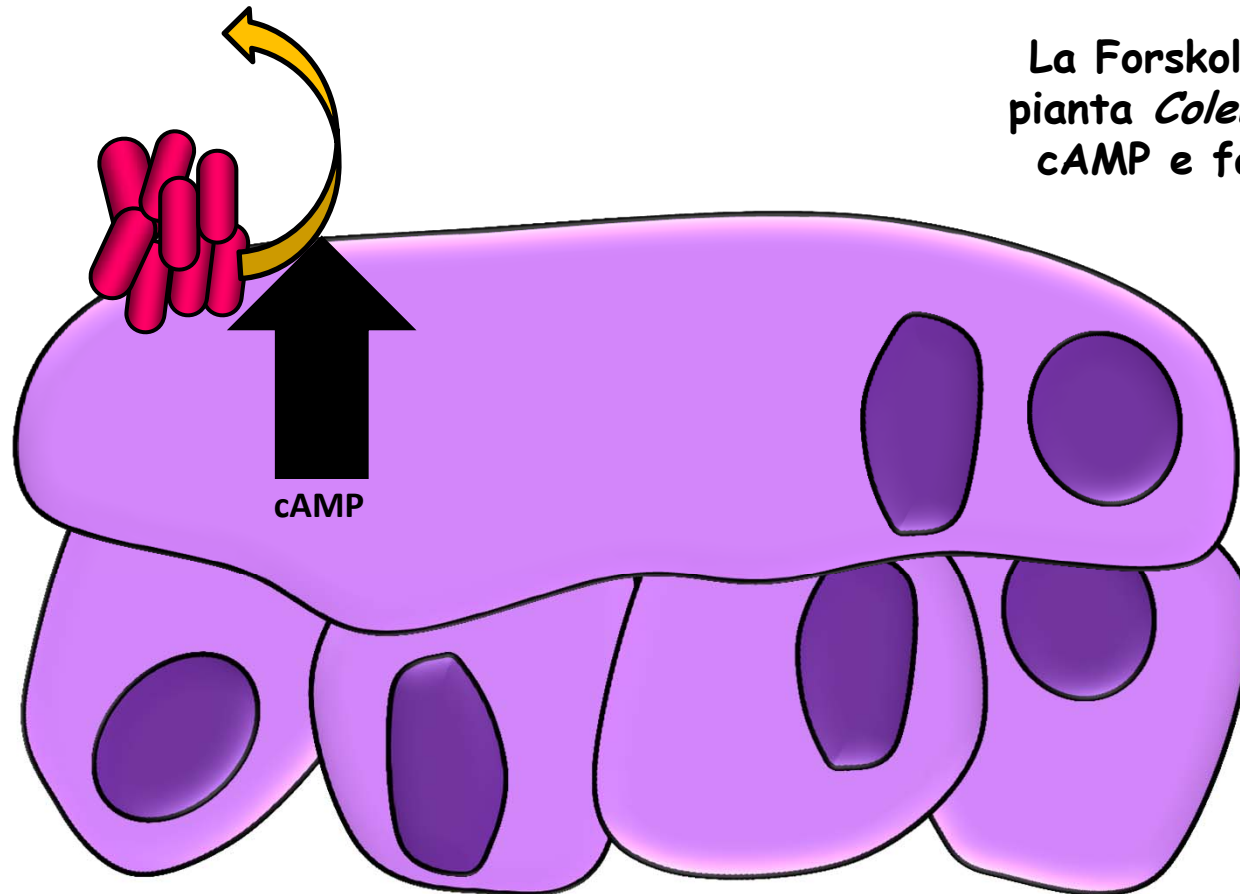
**UPEC CI5 in compartimenti non frastagliati; collegati da giunzioni costituite da un
doppio strato di membrana collassata residuo del canale tubulare**



Bishop et al. Nature Medicine 13, 625 - 630 (2007)

INVASIONE

la maggior parte dei batteri è eliminata dal processo di esocitosi, un processo cAMP-dipendente

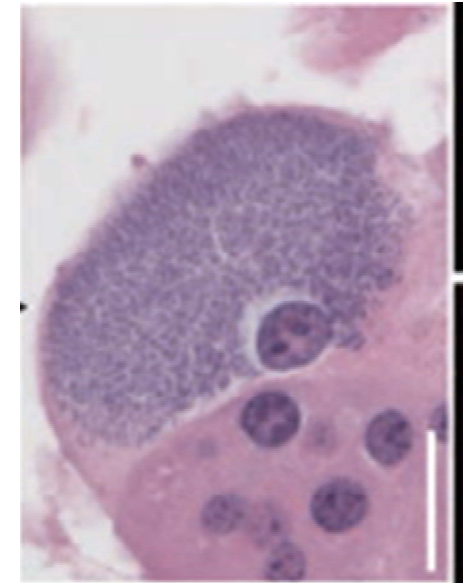
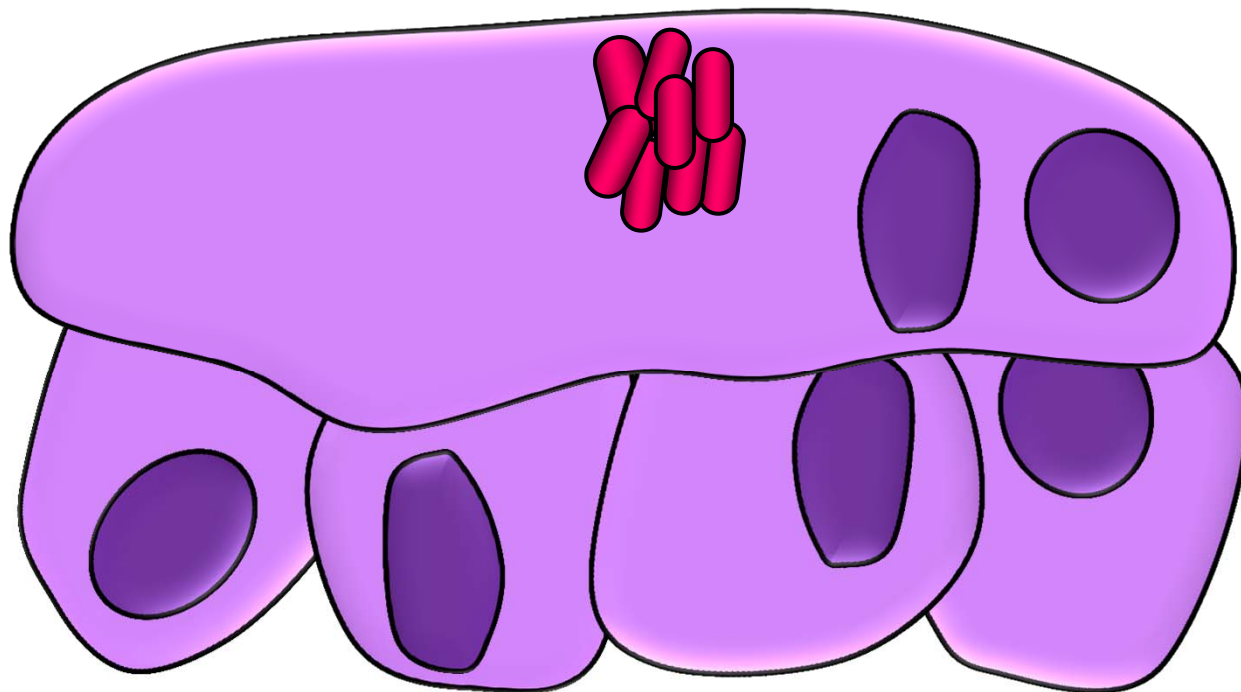


La Forskolina, estratta dalla pianta *Coleus* innalza i livelli di cAMP e favorisce l'esocitosi

Promuove il rilascio degli UPEC
e previene la progressione
verso la malattia

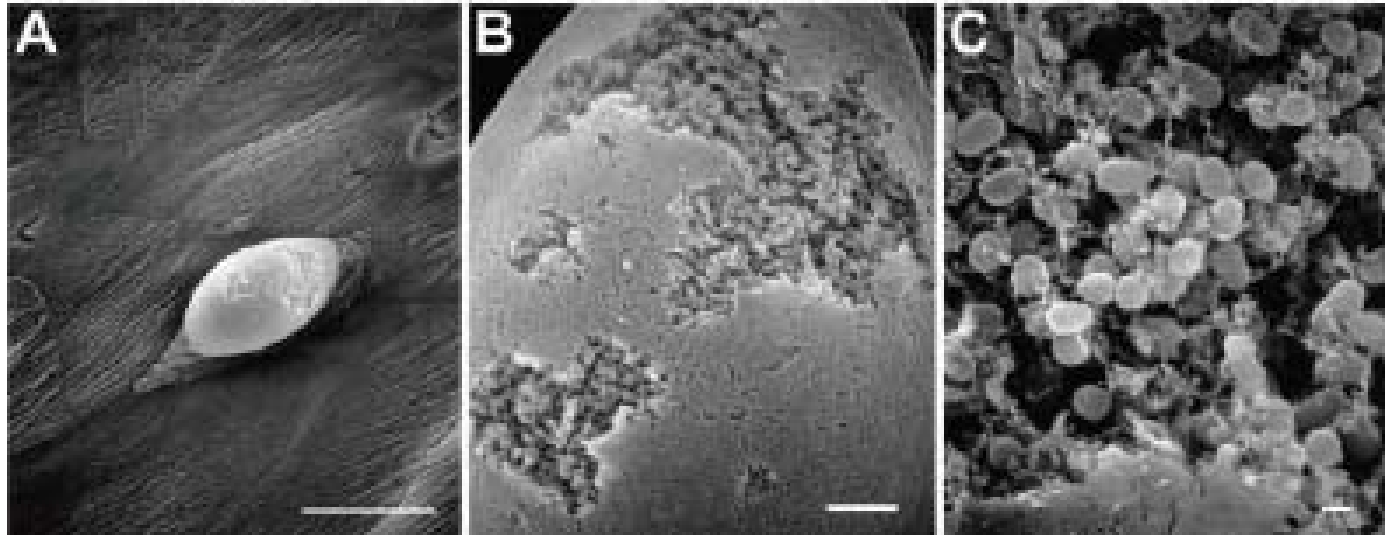
**(Intracellular Bacterial
Communities-IBC)**

**Alcune cellule però si moltiplicano
nel citoplasma, in agglomerati**

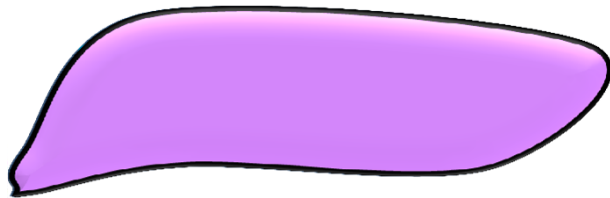


Gli agglomerati

Aumentano di volume e sporgono dalle cellule infette verso il lume della vescica



G. G. Anderson et al. Science (4) 2003



Queste formazioni sono chiamate "baccelli"

CICLO INTRACELLULARE

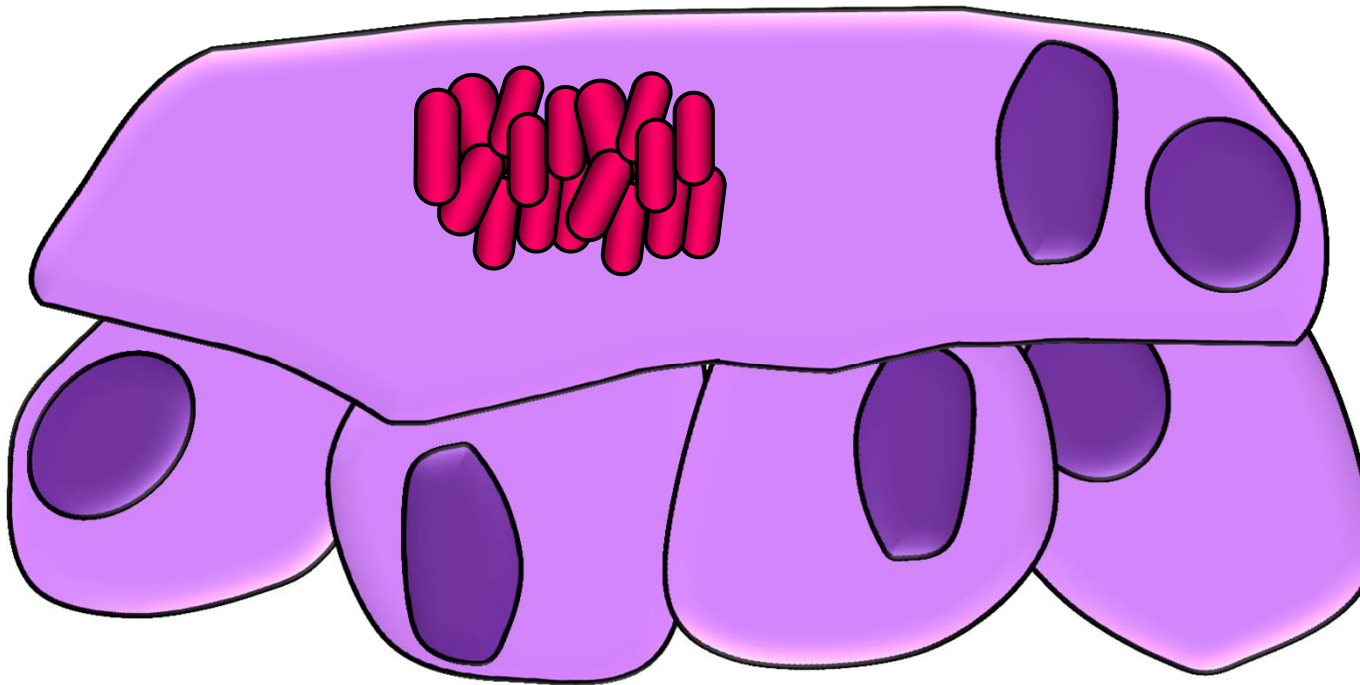
Inizialmente i batteri nelle IBC
mantengono una forma bastoncellare

Ma nel corso dell'infezione
appaiono due diverse forme:



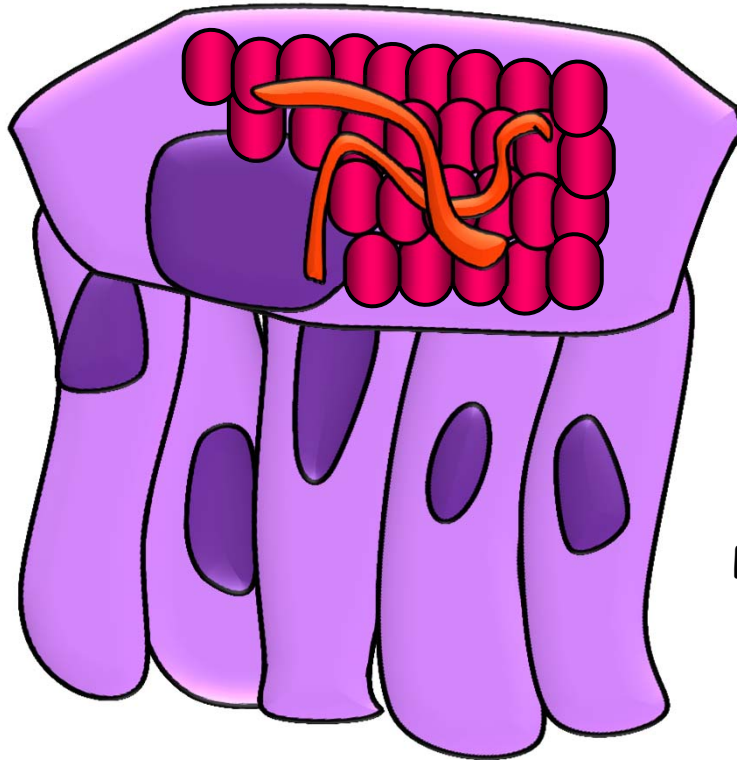
COCCOIDI

FILAMENTOSE



le cellule iniziano divisioni sincrone
che portano a forme coccoidi

La forma coccoide permette di impaccare
fino a 10^5 – 10^6 microrganismi in una cellula



Il doppio dei bastoncelli non organizzati

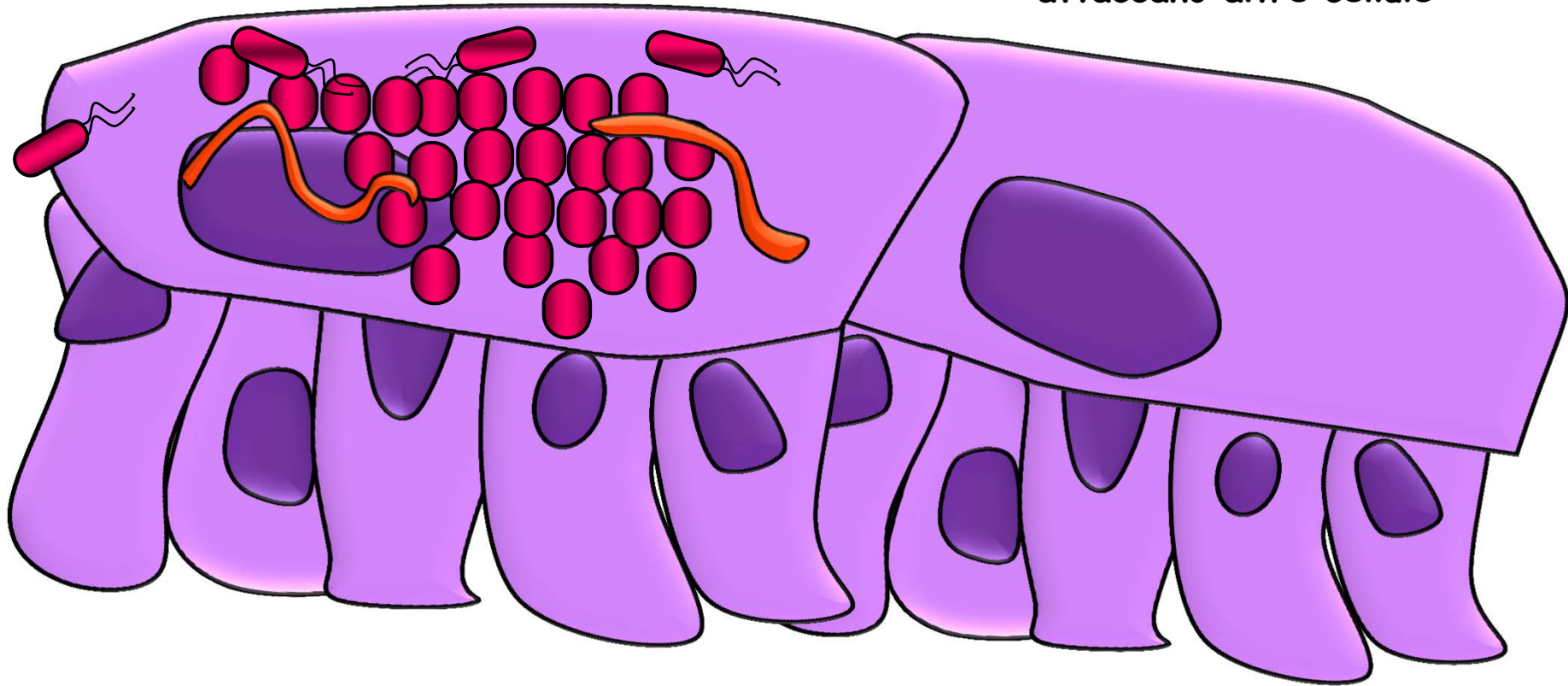
Poche cellule si differenziano in modo diverso,
con forme filamentose (~70 μm di lunghezza)

La IBC nel "baccello" evolve in forma globulare: le cellule periferiche riprendono forma bastoncellare e mobilità attiva

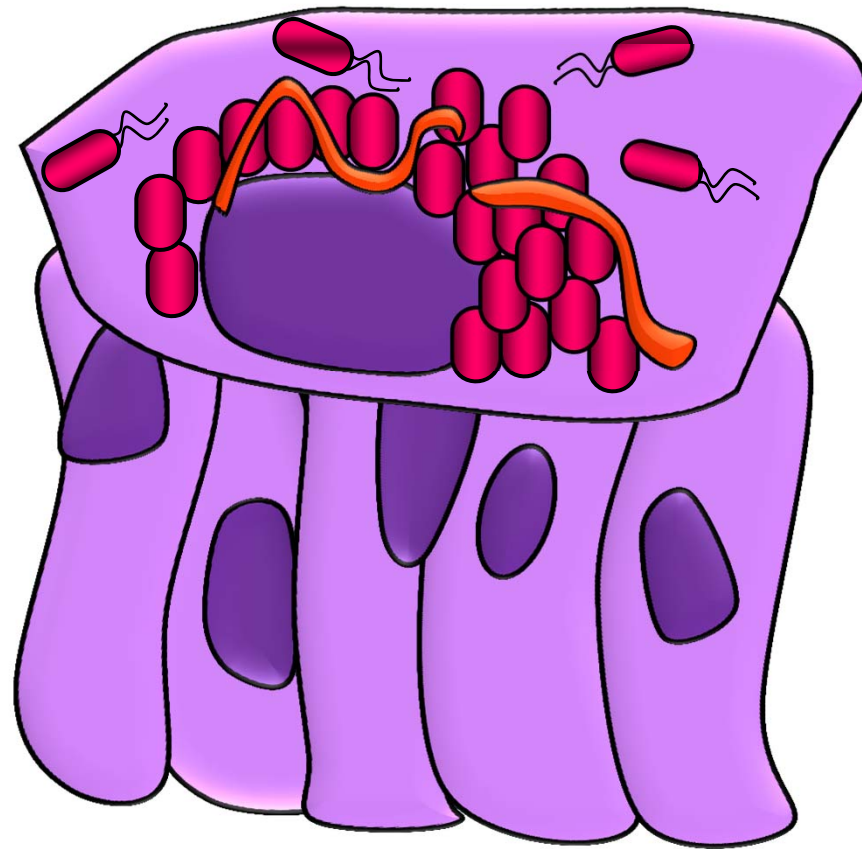
o sono eliminate
con la minzione

Abbandonano la cellula attraverso
lesioni della membrana

attaccano altre cellule



Sulle forme filamentose la fagocitosi ha successo
solo se l'interazione avviene con un polo del filamento



L'evoluzione della struttura della IBC e il ritorno alle forme mobili ricordano lo sviluppo e la maturazione dei biofilm

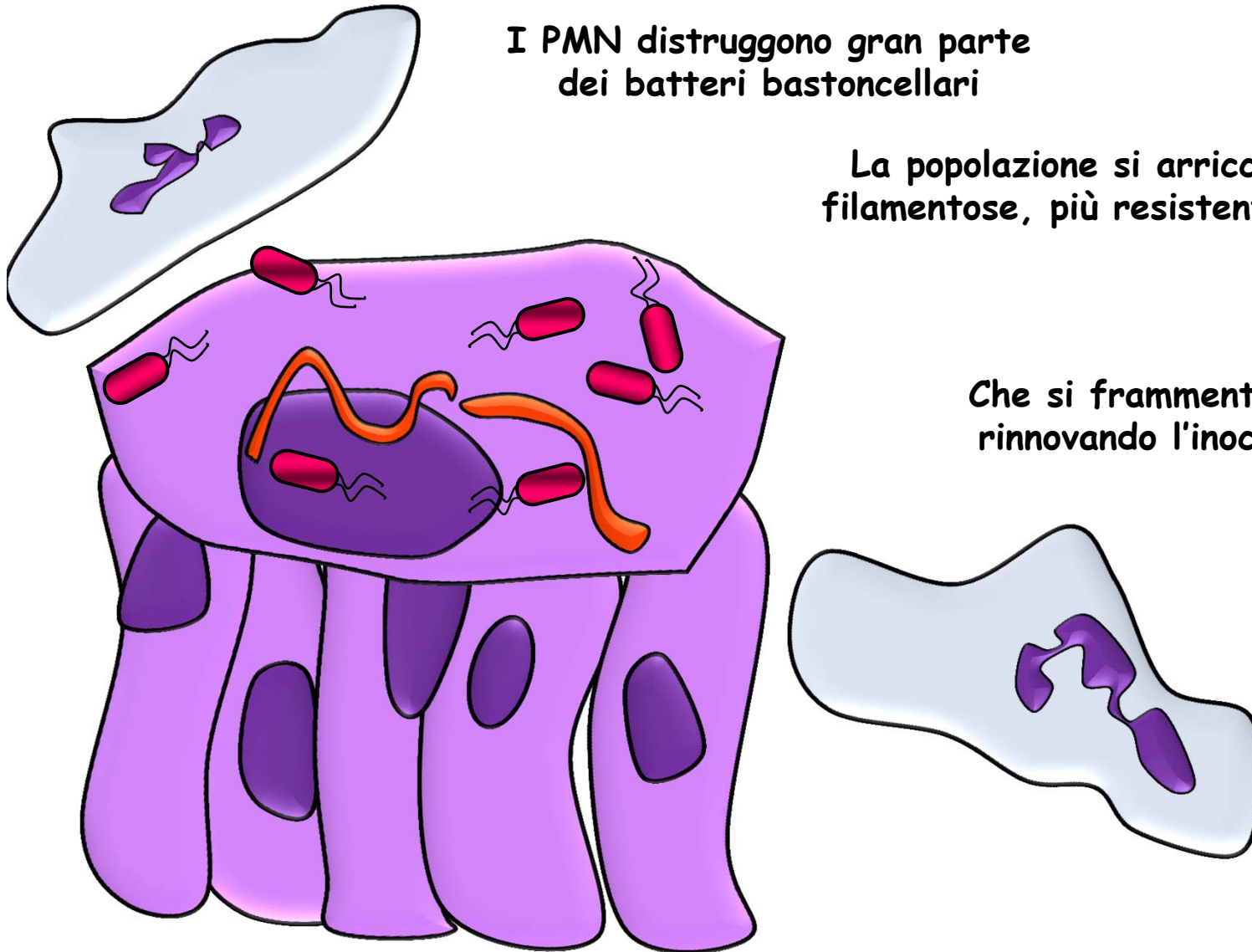
E' probabile che il processo sia lo stesso anche in mancanza di una superficie artificiale: la crescita infatti avviene a ridosso delle membrane interne eucariotiche (specialmente quella nucleare)

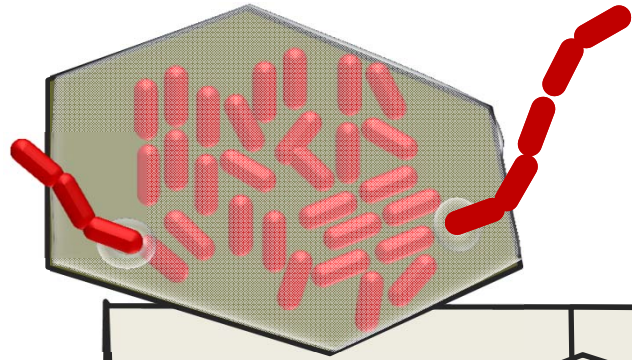
Negli stadi tardivi di maturazione delle IBC, gran parte del citoplasma della cellula è occupato: molte cellule vanno in apoptosi e muiono rilasciando i batteri

I PMN distruggono gran parte
dei batteri bastoncellari

La popolazione si arricchisce in forme
filamentose, più resistenti alla fagocitosi

Che si frammentano
rinnovando l'inoculo





Le cellule che contengono un gran numero di batteri si staccano (esfoliazione dell'epitelio)

Il processo inizia in seguito a cascate indotte dai TLR-4 (sensori per LPS)

È una difesa perché elimina l'epitelio infetto esauendo la fase acuta

Ma espone le cellule immature dello strato intermedio..

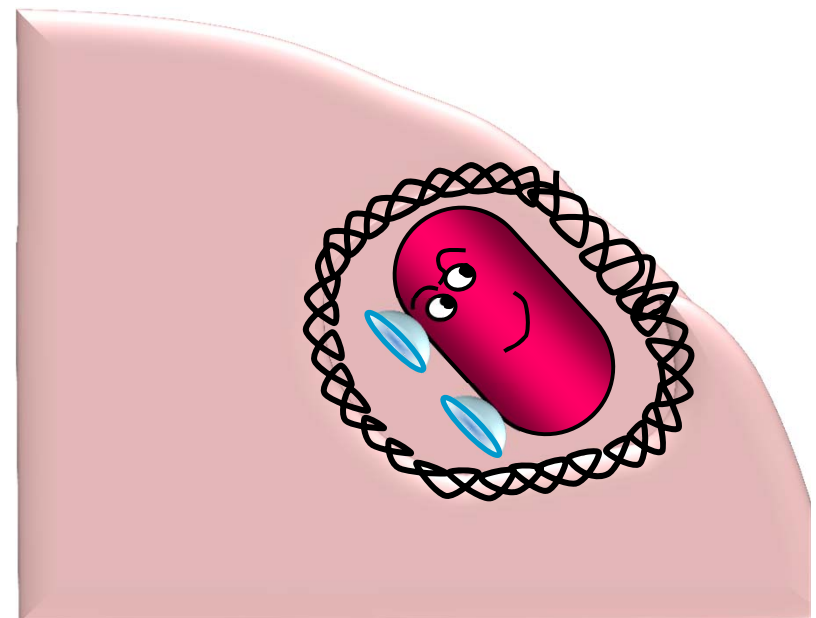
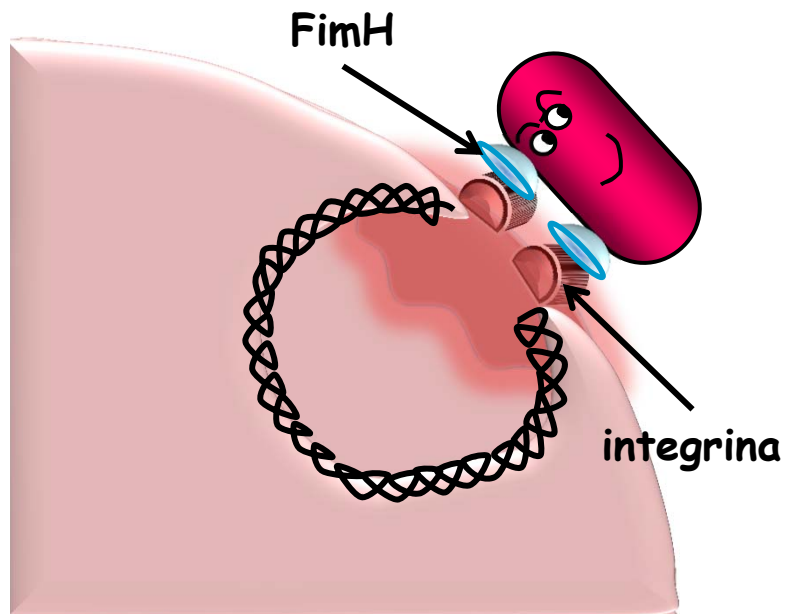
E può portare alla formazione delle "QIR"

Riserve Intracellulari Quiescenti (QIR)

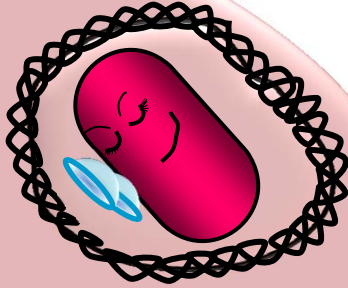
Nel modello murino l'ingresso nelle cellule immature avviene in compartimenti circondati da una rete di actina-vinculina

Tra i recettori riconosciuti da FimH c'è l'integrina

interazione → polimerizzazione di actina
e internalizzazione dei batteri



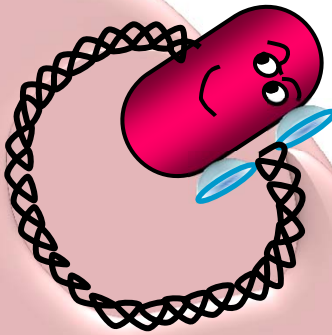
Nel comparto rivestito di actina le
cellule non si replicano



Non sono raggiunte dagli antibiotici

Sono meno immunogene

La maturazione a cellule-ombrello, con le
modificazioni del citoscheletro che comporta



Attiva le QIR →
rescrudescenza o recidiva

BATTERI IN FUGA

Alcuni patogeni escono dal fagosoma precoce e si spostano nel citoplasma

Listeria: Gram-positiva
Granulomatosi sistemica

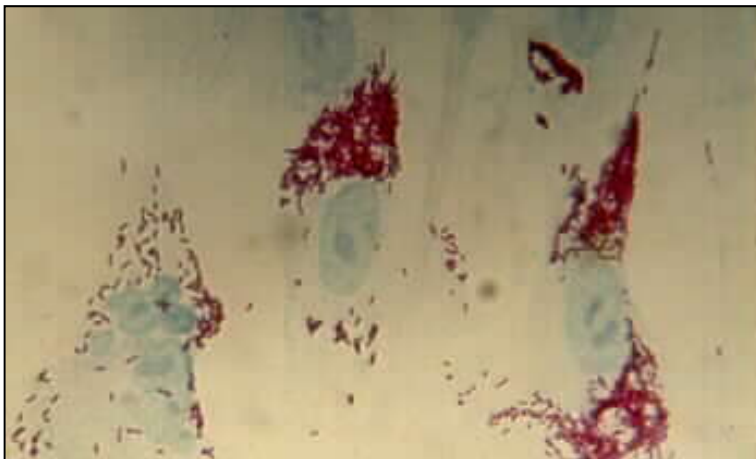
Aderisce alle e-caderine e
penetra negli enterociti

Shigella Gram-negativa
Dissenteria bacillare

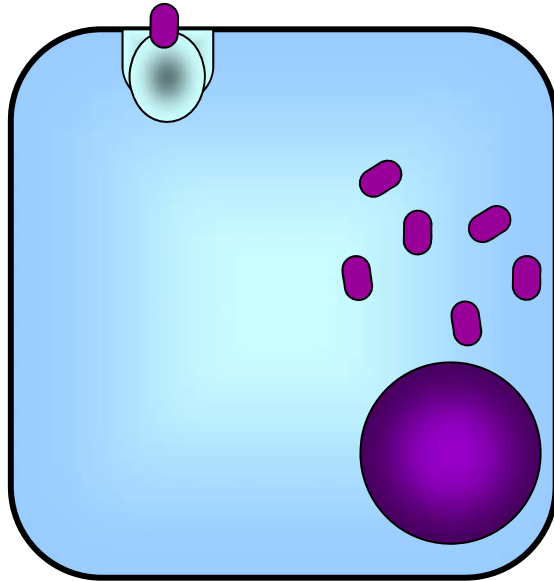
Penetra negli enterociti dalla parte
baso-laterale dopo averla raggiunta
attraverso le cellule M

Rickettsia: patogeno intracellulare
obbligato
Dermotifo/Febbre maculosa

Penetra nelle cellule endoteliali con una
fagocitosi patogeno-indotta



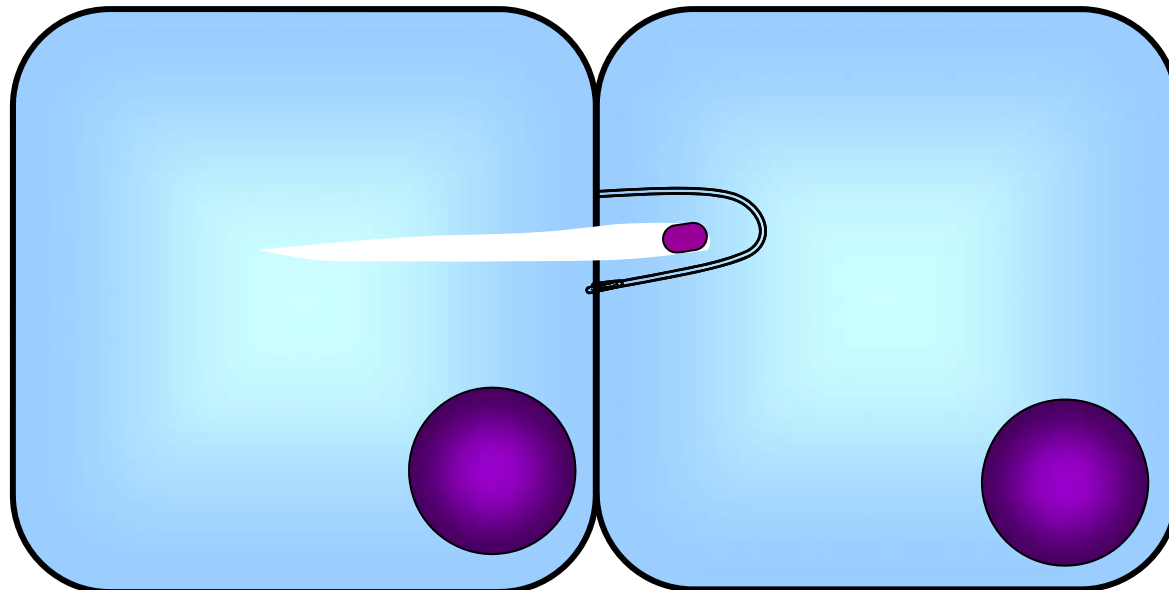
Le fosfolipasi distruggono la membrana del fagosoma



le cellule batteriche si trasferiscono nel citoplasma e si moltiplicano

l'actina dell'ospite è polimerizzata da proteine (diverse nelle tre specie) localizzate a una sola estremità della cellula batterica

Si forma una coda che spinge il batterio nel citoplasma, permettendone il passaggio da una cellula all'altra, o il rilascio



SALMONELLA spp/ Salmonella Typhi

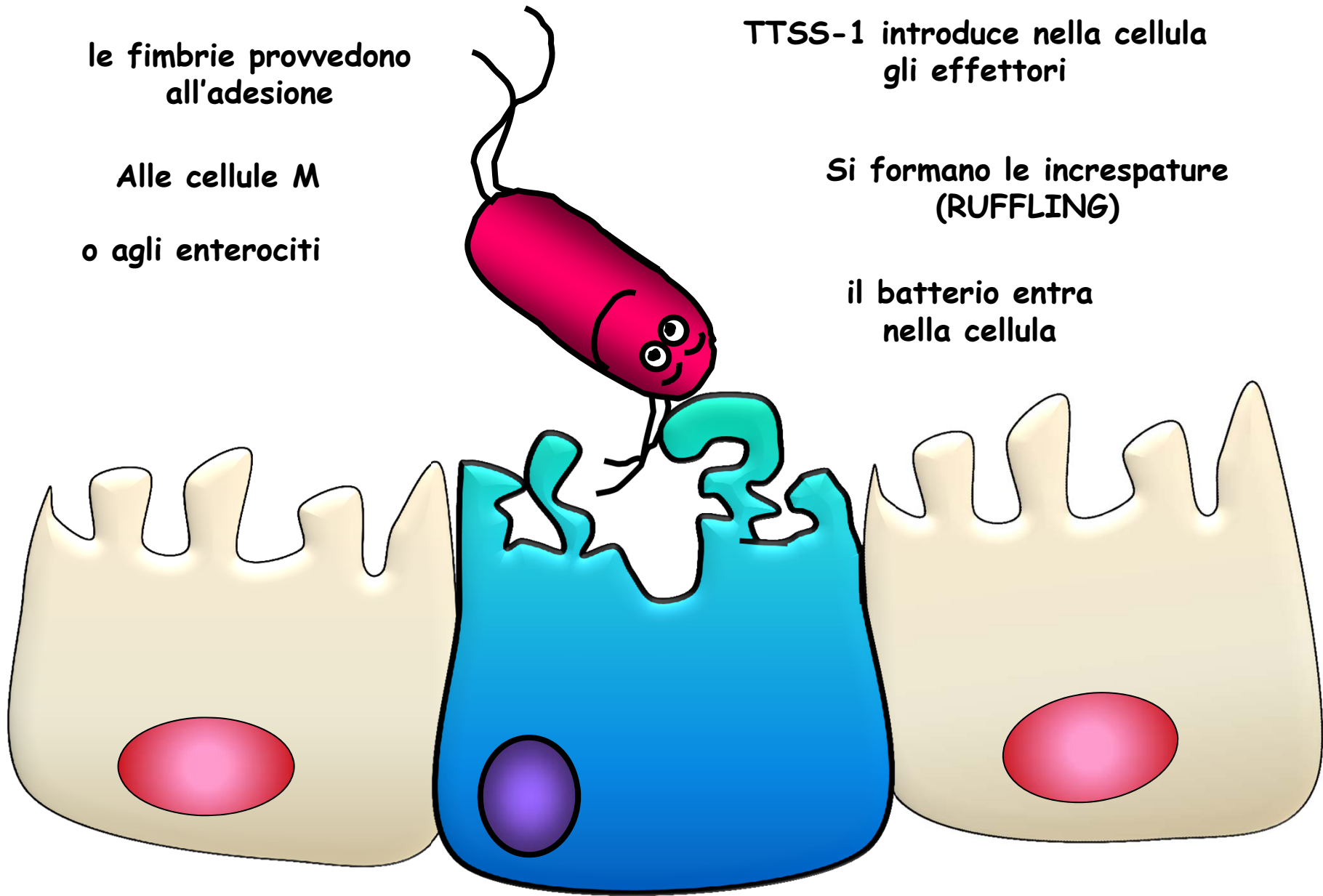
le fimbrie provvedono
all'adesione

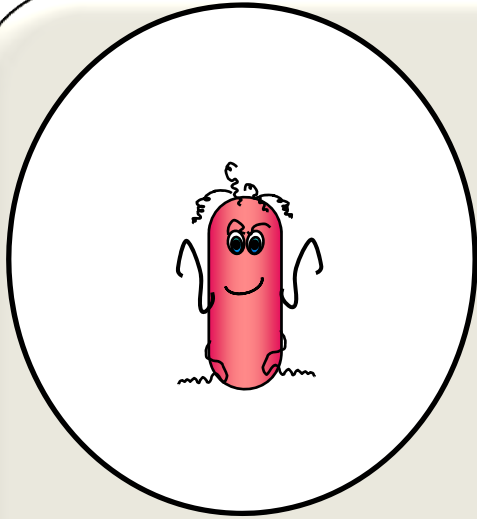
Alle cellule M
o agli enterociti

TTSS-1 introduce nella cellula
gli effettori

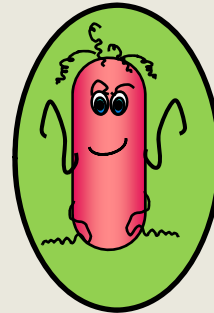
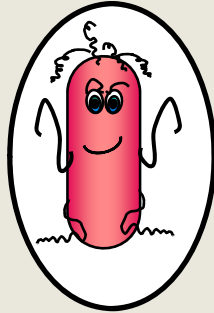
Si formano le increspature
(RUFFLING)

il batterio entra
nella cellula

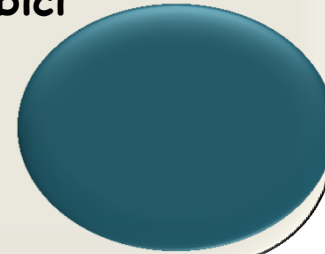




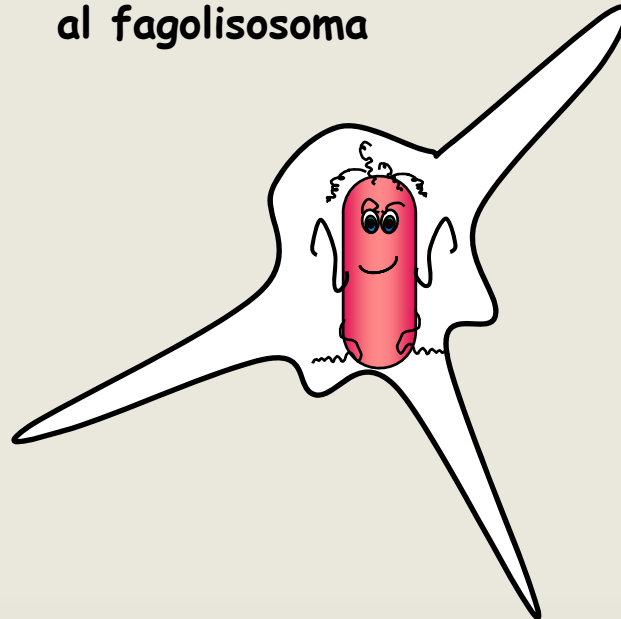
SP (spacious) → SCV (Salmonella containing Vacuole)



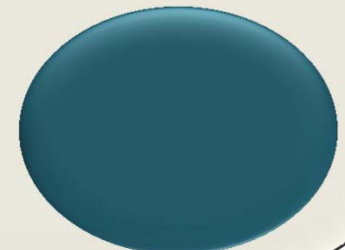
SCV + lisosoma → acido; Mg^{2+} Ca^{2+}
limitati; peptidi antimicrobici



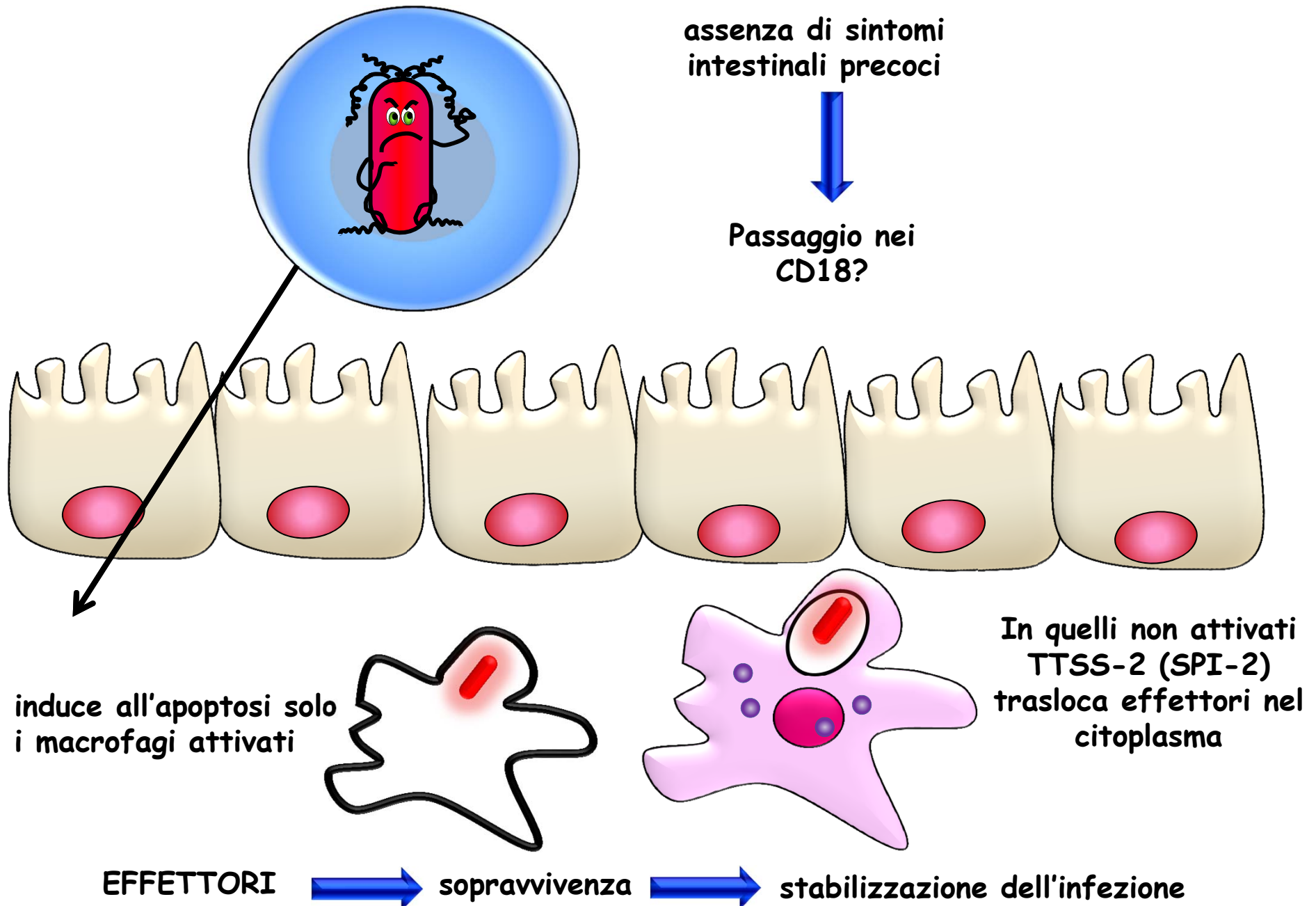
PhoP/PhoQ → PagC resistenza
al fagolisosoma



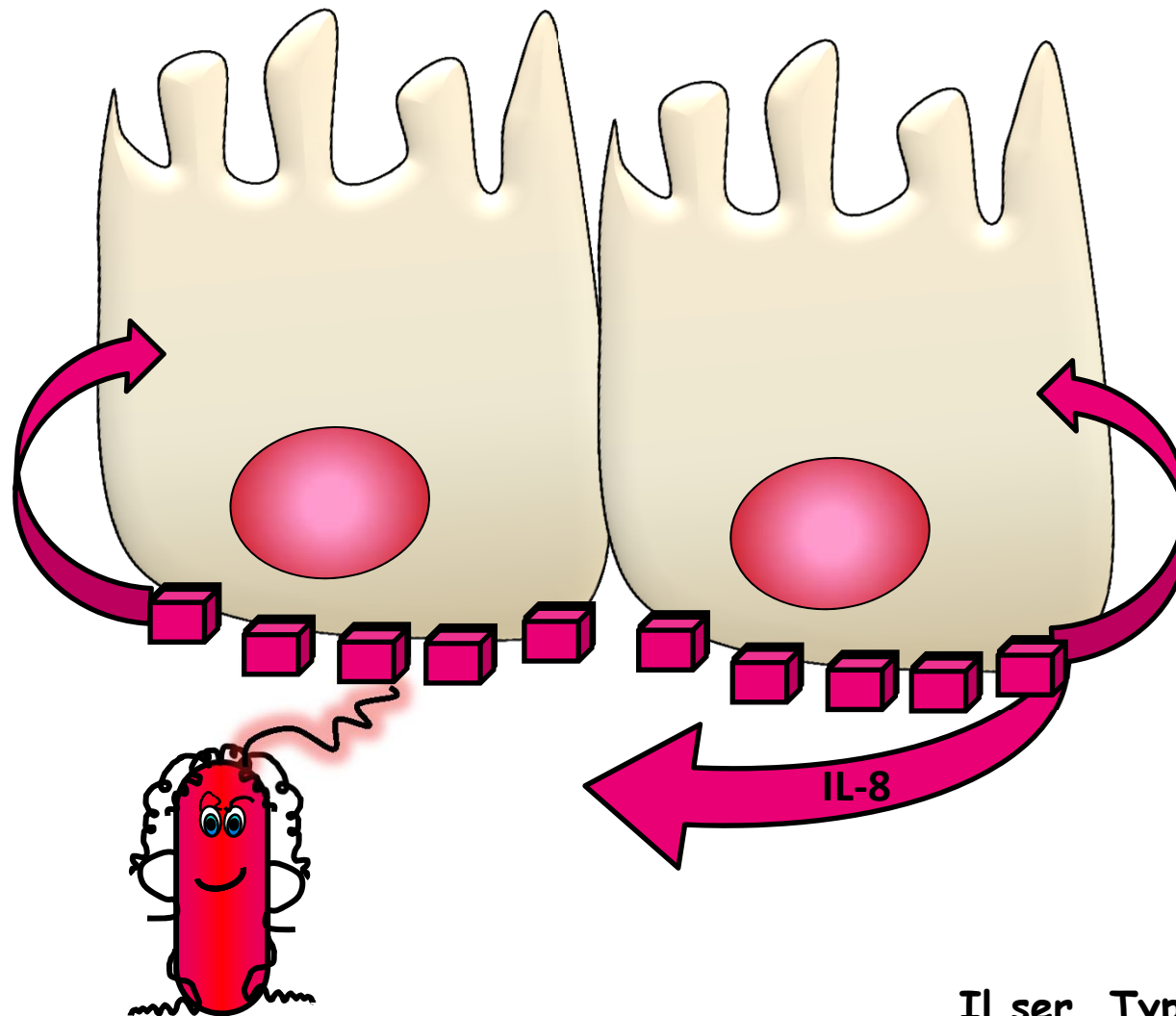
SIF
(*Salmonella*-induced filaments)



Le caratteristiche del ser. Typhi

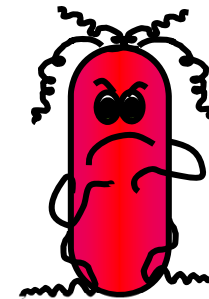
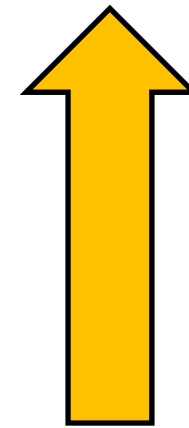


La flagellina dei sierotipi non invasivi attiva i TLR5 alla superficie basolaterale dell'enterocita



I TLR5 stimolano la produzione di IL8

Assenza di PMN
Diffusione
attraverso i MΦ
Malattia sistemica



Il ser. Typhi reprime la produzione di flagellina tramite la PAI7 che regola anche l'espressione di Vi

Inibizione del fagolisosoma

modificazione della
membrana del fagosoma

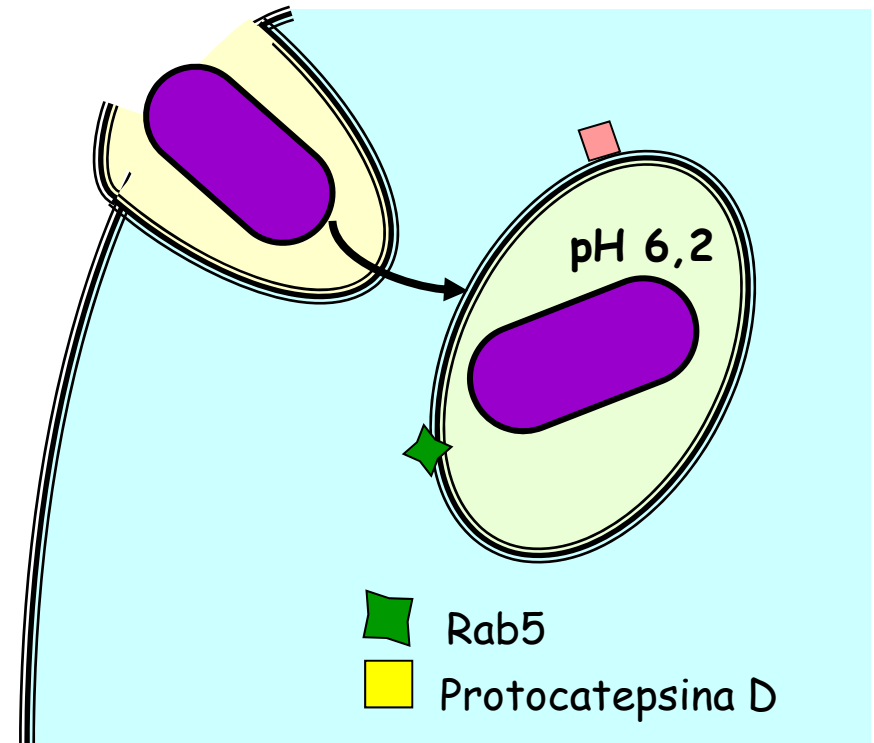
Il pH del fagosoma non
scende sotto a 6,2

Rab7, richiesto per la fusione
con il lisosoma, non è reclutato

MTU previene la maturazione del fagosoma
bloccando l'innalzamento del Ca^{++} nel fagosoma

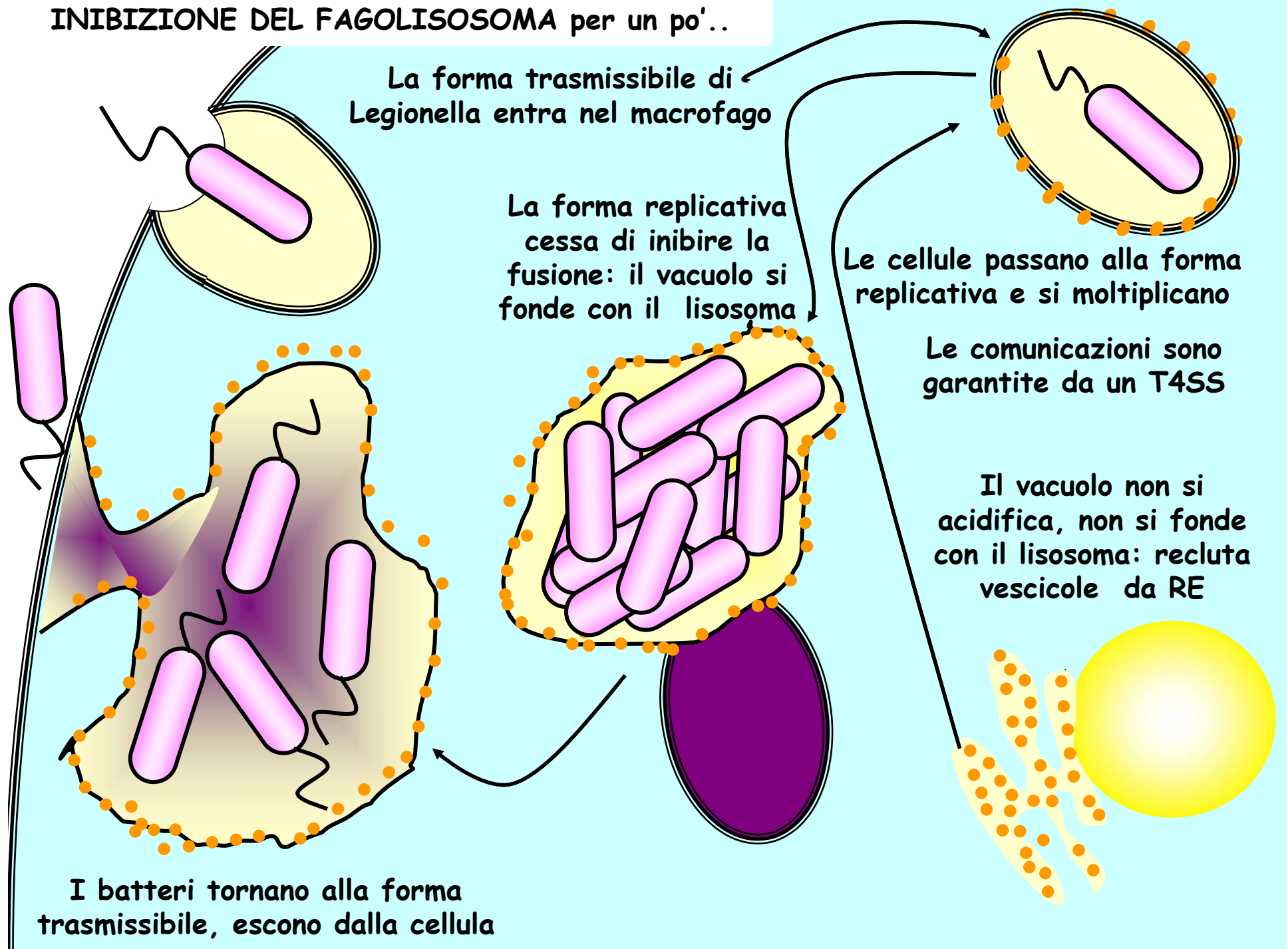
Ca^{++} regola la maturazione attivando calmodulina e la chinasi calmodulina
dipendente (CaMKII) necessaria per il reclutamento di P13K

il reclutamento di P13K è ostacolato anche dal MAN-LAM (lipoarabinomannano
incappucciato di mannosio) che blocca il reclutamento di P13K da parte della
 Ca^{2+} /calmodulina



Il fagosoma si ferma a uno stadio
"simil precoce": nella membrana sono
presenti marcatori di stadi diversi

INIBIZIONE DEL FAGOLISOSOMA per un po'..



Coxiella ha un ciclo particolare e ha
BISOGNO del lisosoma

Come in *Legionella*, si alternano
forme replicative (Large, LCV)
forme trasmissibili (Small SCV)

Si replica solo in cellule vive
(Monociti/Macrofagi)

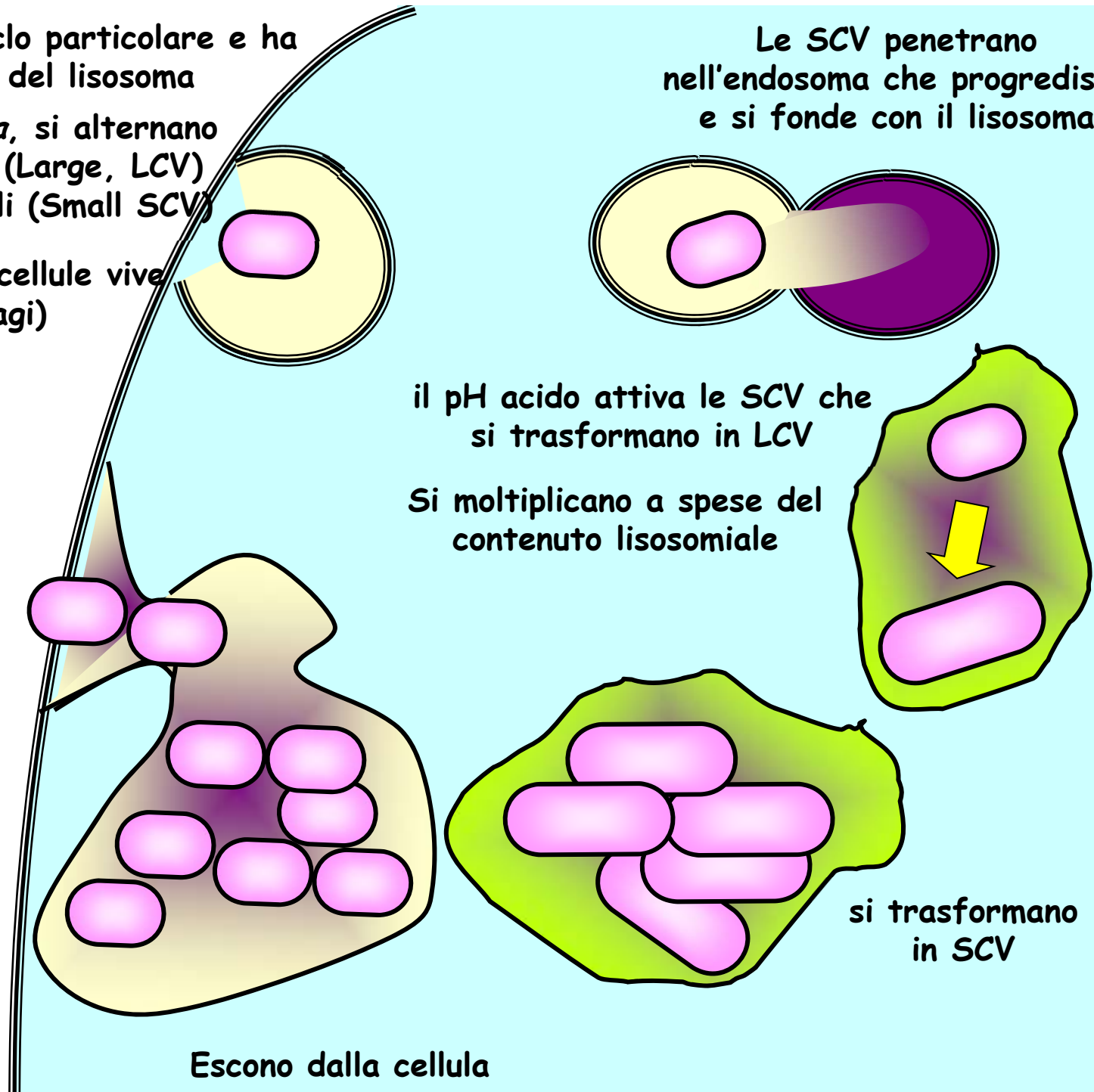
Le SCV penetrano
nell'endosoma che progredisce
e si fonde con il lisosoma

il pH acido attiva le SCV che
si trasformano in LCV

Si moltiplicano a spese del
contenuto lisosomiale

si trasformano
in SCV

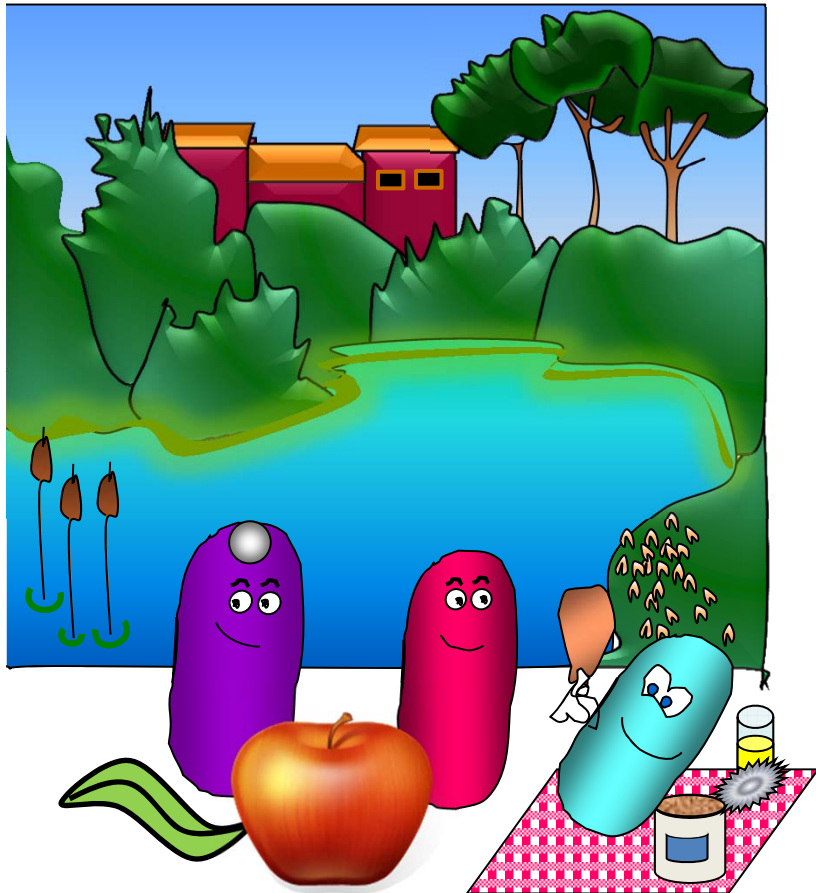
Escono dalla cellula



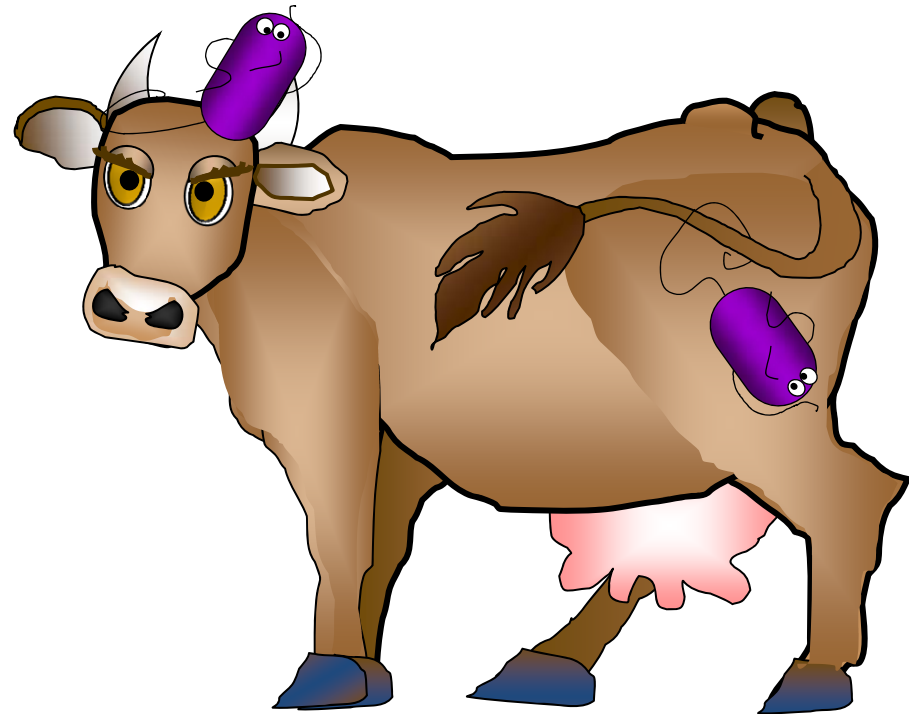
**I microrganismi che non hanno evoluto
strategie per il parassitismo**

Saprofiti (ambiente)

Materia organica decomponibile



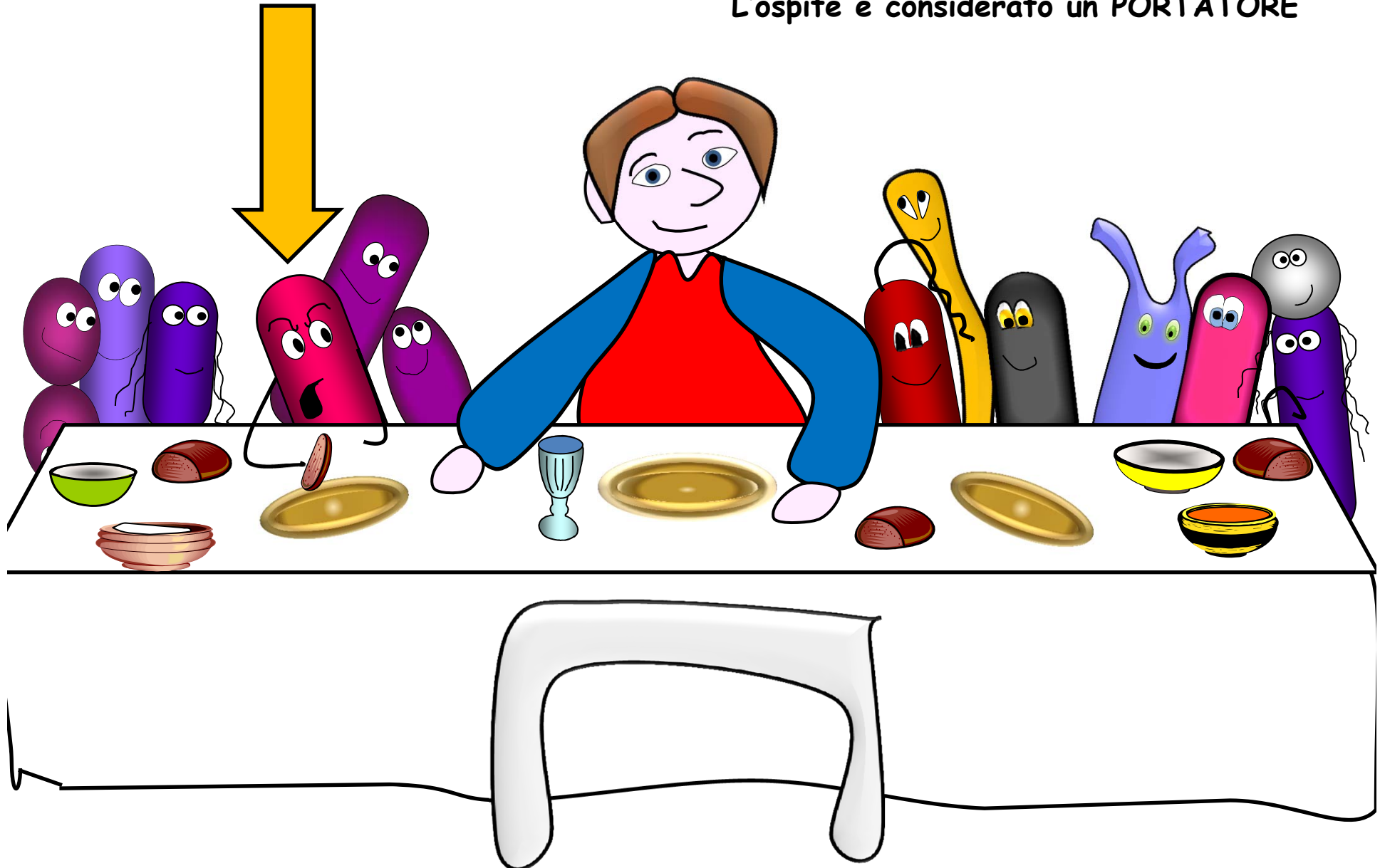
Commensali (associati a viventi)



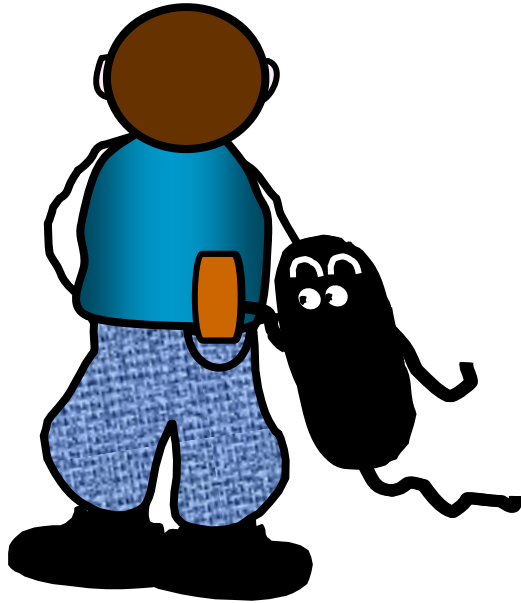
**Materia organica prodotta
dall'ospite**

In mezzo ai commensali si possono
nascondere delle potenziali insidie

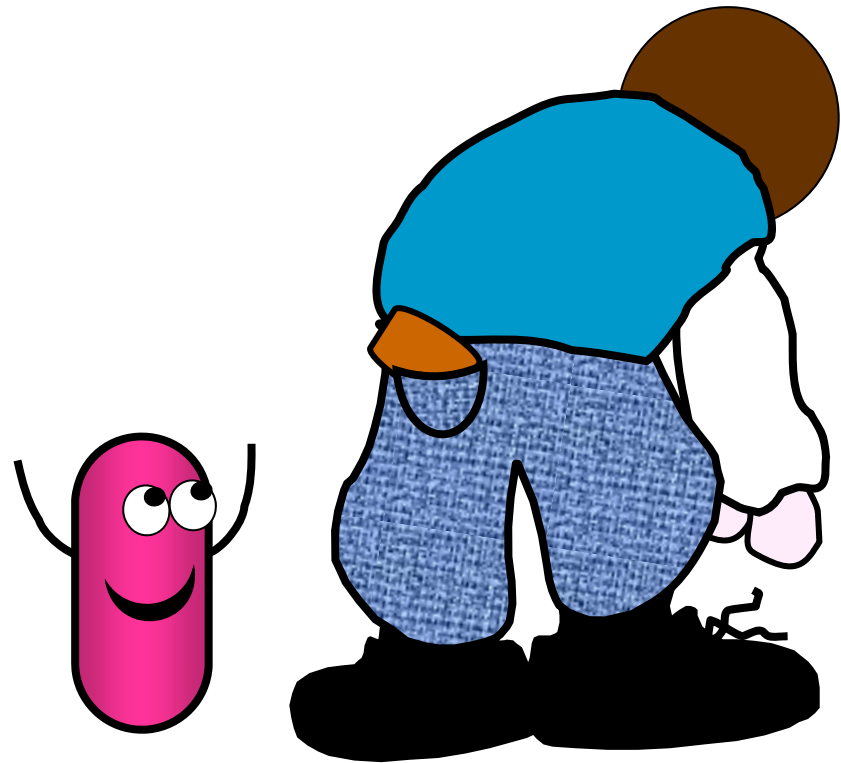
L'ospite è considerato un PORTATORE



Anche batteri commensali possono,
a volte, causare malattia



Si definiscono allora
«patogeni opportunisti»



A differenza dei patogeni «specializzati» la loro
patogenicità dipende più dalle circostanze che dall'aver
evoluto abilità specifiche