

## L'AZIONE PATOGENA DEI BATTERI

Moltissime specie batteriche vivono nell'ambiente a spese di materiale inanimato (vita saprofitica) mentre soltanto una minoranza è capace di vita parassitaria a carico di organismi superiori. Alcuni casi questi ultimi possono essere addirittura utili per l'ospite (batteri simbiotici) o indifferenti (batteri commensali), mentre in altri sono capaci di insediarsi nei tessuti dell'ospite, alterandone la funzionalità dell'organismo (batteri patogeni). La patogenicità dovrà essere sempre intesa come riferita ad uno o più ospiti determinati. Non esistono batteri patogeni per qualunque specie animale. Nei batteri a circolazione esclusivamente umana si può dare il caso di un'infezione per trasmissione di un microrganismo patogeno da un individuo infetto ad un individuo sano (infezione esogena) oppure per il passaggio di un microrganismo già presente come commensale in qualche distretto dell'ospite in altre sedi dello stesso (infezione endogena). Soggetti che li albergano, anche se non presentano sintomi morbosi, costituiscono una fonte di infezione per i loro simili. Ad esempio, il *Cornebacterium diphtheriae* è un parassita esclusivo della specie umana ed i soggetti infetti albergano il batterio nel faringe e di norma vanno incontro ad un'infezione subclinica che si conclude con l'instaurarsi di una solida immunità e con l'eliminazione del batterio dall'organismo. Solo in alcuni casi, il batterio riesce a prevalere sulla reazione dell'organismo ed a provocare la comparsa di sintomi morbosi assai gravi che possono anche portare a morte il paziente. Sia il malato che il portatore sano costituiscono la fonte di infezione per gli altri esseri umani non immuni. È evidente che il batterio a circolazione esclusivamente umana ed in grado di provocare infezioni esogene, hanno evoluto con la specie umana un rapporto che consente la sopravvivenza del batterio nell'organismo per un periodo sufficiente a garantirne la trasmissione ad altri altri individui della stessa specie.

Per i batteri a circolazione umana in grado di provocare infezioni endogene. Le infezioni sono la conseguenza della dislocazione accidentale di un batterio commensale da una zona dell'organismo, dov'è ospite abituale, in un'altra dove è in grado di provocare un processo morboso (*Escherichia coli*).

Per i batteri a circolazione in vari specie animali l'infezione può essere trasmessa accidentalmente da queste all'uomo (zoonosi). In genere queste infezioni provocano malattie conclamate di notevole gravità. Una situazione particolare può verificarsi quando batteri ambientali che in genere non conducono vita parassitaria, infettano accidentalmente l'uomo. Ad esempio *Pseudomonas*. In ultimo va considerata la possibilità che batteri che inquinano determinati ambienti presentano accumulo di veleni spesso altamente tossici. Un esempio è *Clostridium botulinum*.

### Meccanismo dell'azione patogena dei batteri

Un batterio può essere definito patogeno, in quanto capace di invadere i tessuti di un organismo e di moltiplicarsi, danneggiando in modo più o meno grave il normale funzionamento dell'organismo ospite con la produzione di una o più sostanze tossiche specifiche. La patogenicità dipende da peculiari proprietà rappresentate, dalla capacità di colonizzare le mucose dell'organismo, dalla capacità di penetrare attraverso l'epitelio mucoso, dalla produzione di una serie di molecole in grado di modificare l'ambiente tissutale rendendolo favorevole allo sviluppo microbico, dalla possibilità di evadere le difese antimicrobiche, dalla tossicità di alcuni componenti della cellula batterica e dalla produzione di proteine dotate di un selettivo potere tossico. Queste proprietà dipendono ovviamente dalla presenza nel genoma batterico di una serie di geni in grado di codificare la produzione di relative molecole effettrici. I geni codificatori sono talora fisicamente riuniti in precisi segmenti di DNA che formano le isole di patogenicità.

## **La moltiplicazione batterica in vivo**

I batteri patogeni, una volta penetrati nell'organismo ospite, si moltiplicano negli spazi intercellulari e all'interno di elementi cellulari. La moltiplicazione intracellulare può essere una scelta preferenziale. Per alcuni batteri in grado di parassitare cellule del sistema reticoloendoteliale o, comunque, in grado di sopravvivere all'interno di fagociti professionali, oppure transitoria o occasionale, per alcuni batteri in grado di penetrare le cellule dell'epitelio mucoso per parirsi un varco verso i tessuti della sottomucosa, ma che, in ogni caso, è solo alternativa alla possibilità di moltiplicazione negli spazi intercellulari, oppure obbligata, se il batterio dipende, dalla struttura e dal metabolismo della cellula ospite.

## **Colonizzazione delle mucose**

L'interazione dei batteri patogeni con le cellule degli epitelii mucosi è mediata da fattori localizzati alla superficie della cellula batterica o secreti all'esterno della cellula stessa. Un primo essenziale gruppo di fattori batterici in grado di condizionare la fase iniziale del processo infettivo è rappresentato dalle cosiddette adesine, strutture superficiali di varia natura, costituite fondamentalmente da proteine presenti all'estremo terminale di fimbrie e pili, da proteine di superficie in grado di legarsi alla membrana di cellule eucariotiche o a proteine della matrice intercellulare e ad alcuni polisaccaridi capsulari. Le diverse adesine agiscono come lecitine interagendo con residui glucidici di glicoproteina o di glicolipidi presenti alla superficie delle cellule degli epitelii mucosi o nelle molecole della matrice intercellulare. La moltiplicazione batterica è seguita dalla formazione di biofilm, ossia formazione di complesse strutture, formate da una estesa matrice di materiale capsulare contenente numerosi batteri, le quali possono invadere zone assai ampie di mucosa. All'interno del biofilm, i batteri sono relativamente resistenti all'azione degli effettori delle difese antimicrobiche o farmaci antibatterici. Alcuni batteri sono in grado di colonizzare mucose dotate di epitelii minuti di cilia vibratili, sintetizzano sovente sostanze dotate di azione ciliostatica (tossine ciliostatiche) che provocano alterazioni o paralisi completa del movimento ciliare.

Una volta ancorati alla superficie di un'epitelio mucoso, i batteri patogeni si moltiplicano ed iniziano una sorta di dialogo biochimico, con le cellule epiteliali, attraverso la produzione di una serie di molecole tossiche. Nei batteri G-N, data la complessità degli involucri batterici di superficie, la secrezione delle varie proteine tossiche avviene attraverso appositi sistemi secretori. Il sistema secretorio di tipo III forma una sorta di microsiringa molecolare con la quale il batterio è in grado di traslocare varie proteine effettrici, direttamente dentro il citosol della cellula ospite. Le proteine effettrici mimano le funzioni di trasduzione del segnale, compromettendo le funzioni della cellula eucariotica sino a provocare la morte, attraverso l'innescamento della apoptosi, o possiedono proprietà che rendono capaci, di interferire con il funzionamento della cellula o di alterare strutture cellulari essenziali, causandone la necrosi. L'attivazione dei diversi geni che codificano per i prodotti effettori dell'azione patogena batterica è, regolata da una serie di segnali che i batteri, una volta insediati su di una mucosa, ricevono dalle nuove situazioni ambientali o segnali definiti quorum sensing, che divengono operanti quando la concentrazione di una serie di molecole segnalatrici, raggiunga o superi una certa concentrazione critica nel microambiente parassitato, segnalando così il raggiungimento di una certa soglia di consistenza numerica, da parte della popolazione batterica.

## **Penetrazione nei tessuti profondi dell'organismo ospite**

La colonizzazione batterica finisce con il provocare la distruzione localizzata dell'epitelio e consentire, l'apertura di un varco, attraverso il quale i batteri possono raggiungere l'area riccamente vascolarizzata della sottomucosa. In alcune circostanze i batteri possono attraversare l'epitelio

mucoso, utilizzando peculiari meccanismi invasivi che consentono loro di penetrare direttamente nelle cellule dell'epitelio mucoso. Ad esempio le salmonella enteropatogene hanno la capacità di penetrare, attraverso la porzione apicale della membrana cellulare, all'interno delle cellule epiteliali del colon, questa caratteristica è mediata da proteine effettrici.

### **Esotossine che agiscono a livello delle strutture della superficie cellulare**

**La tossina esfoliativa A e B** è prodotta da *Staphylococcus aureus* ed è causa fondamentale della sindrome della cute pseudostrofata da stafilococco (malattia di Ritter). È rappresentata dallo scollamento di più o meno ampie zone di epidermide in seguito a stimoli meccanici di assoluta modestia. Tale tossina, attraverso il circolo ematico riesce a raggiungere lo strato granuloso dell'epidermide provocando la rottura desomleina-1 che è coinvolta nella adesione intercellulare. La **tossina emolitica** comprende tossine ad esempio (emolisina alfa) di *Staphylococcus aureus*, sono inattivate in presenza di O<sub>2</sub> e sono quindi denominate emolisine O<sub>2</sub>-labili. Causano la formazione di pori che alterano profondamente gli scambi della cellula con l'ambiente, causandone la morte. Un altro esempio è rappresentato dalla emolisina-γ e dalla leucocidina di Panton-Valentine. Si tratta di 2 tossine che agiscono sui leucociti, inducendo la liberazione di citochine che stimolano una intensa risposta infiammatoria.

### **Esotossine che agiscono alterando il contenuto Intracellulari di AMP-ciclico**

Le tossine che agiscono alterando il contenuto intracellulare di AMP-C fanno parte di due gruppi:

- 1°: agiscono attraverso la loro specifica attività enzimatica ADP-ribosilante
- 2°: agiscono attraverso una attività enzimatica adenilato-ciclasica

Al primo gruppo fanno la tossina colerica, la tossina tremolabile (LT) di *Escherichia coli* e dalla tossina pertossica. Queste tossine sono tutte tossine di tipo A-B in cui il componente B è formato da un oligomero di 5 peptidi. La tossina colerica ( principale strumento dell'azione patogena di *Vibrio cholerae*) e la LT sono prodotte da batteri che si localizzano nell'intestino tenue senza tendenza alla diffusione oltre la mucosa intestinale. Le tossine si legano agli enterociti attraverso l'interazione del componente omopentamerico B con un ganglioside (GM1) presente alla superficie cellulare, l'interazione con la superficie cellulare è seguita dalla translocazione del componente A, formato a sua volta da 2 peptidi A1 e A2 tenuti insieme da ponti disolfurici, all'interno della membrana plasmatica e dalla liberazione del componente A1 che è quello che, a questo punto, è dotato di attività catalitica ADP-ribosilante. Il bersaglio è rappresentato fondamentalmente da una proteina trimerica di membrana rappresentata da una proteina G che regola positivamente l'attività della adenilato-ciclastasi presente, con una collocazione transmembranaria, nella cellula bersaglio. La proteina-G è formata da tre peptidi (α,β,γ), è legata a recettori stimolatori (R<sub>s</sub>) in grado di ricevere i segnali di attivazione dell'enzima, attraverso il legame con specifiche molecole, inclusi alcuni ormoni. In condizioni fisiologiche, lo stimolo attivatore provoca il legame di GTP al peptide alfa-s che si distacca dal trimero originario e si lega all'adenilato-ciclastasi che ne risulta attivata. La successiva azione di una GTPasi endogena trasforma il GTP in GDP che si distacca dal peptide alfa-s che, a questo punto, si riassocia nell'eterotrimerico originario. La ADP-ribosilazione del peptide alfa-s/GTP, ad opera sia della tossina colerica sia della LT di *Escherichia coli* enterotossigeni, promuove la dissociazione permanente del peptide alfa-s/GTP, che non risulta più attaccabile della GTPasi endogena, per cui la stimolazione dell'adenilato ciclastasi è continua, con la conseguente produzione di concentrazione intracellulari patologicamente elevate di AMP-c. Ciò provoca una rapida eliminazione nel lume intestinale di una serie di elettroliti e, conseguentemente, di una notevole quantità di acqua che finisce con il superare la capacità di riassorbimento del colon, con il risultato di una profusa diarrea. L'enterotossina termolabile (ST) prodotta in due varietà (I e II) da E.c. sono costituiti da piccoli peptidi che si legano al recettore di membrana guanilato-ciclastasi che ne risulta attivata. L'aumento della concentrazione di GMP-c negli enterociti ha effetti comparabili a quelli

dell'aumentata concentrazione di AMP-c indotta dalla tossina colerica. E provoca la perdita di ioni e di acqua nel lume intestinale (diarrea).

La tossina pertossica ed è costituita da una struttura esamerica (A-B<sub>5</sub>) composta da 5 differenti subunità. L'oligomero B serve a legare la tossina ad alcune glicoproteine della superficie cellulare ed a favorire la traslocazione intracellulare del componente A che, attivato per il distacco di un frammento peptidico, presenta un'azione ADP-ribosiltrasferasica che catalizza il trasferimento di ADP-ribosio ad un residuo cisteinico vicino al termine carbossilico della subunità-alfa di una serie di G-proteine. La modificazione covalente, disaccoppia la subunità alfa della proteina G dal suo recettore con la permanente alterazione nella traduzione di una serie di segnali di membrana (adenilato ciclasi). Una volta ADP-ribosilata, la subunità alfa della proteina G non riesce a tradurre i segnali di regolazione negativa dell'enzima, per cui l'adenilato ciclasi presenta un più elevato livello di attività. L'incremento della concentrazione intracellulare ai AMP-C e altre vie di trasmissione del signalling di membrana.

**La tossina difterica** è prodotta da *Corynebacterium diphtheriae*. La tossina è codificata dal gene *tox* di un fago temperato integrato nel cromosoma batterico che viene trascritto in condizioni di stress da carenza di ferro. La tossina, di tipo A-B, è sintetizzata come unico peptide, il cui estremo carbossi-terminale forma il componente B, mentre la porzione amino-terminale la componente A. La tossina diffonde nell'organismo e si lega con la porzione C-terminale (componente B) a recettori glicoproteici ampiamente diffusi nelle cellule animali dove viene scissa da proteasi di membrana nei due componenti A e B che rimangono uniti da un ponte disolfuro. La tossina viene introdotta nella cellula per endocitosi mediata da recettore e, dopo l'interruzione del ponte disolfuro, il componente A viene traslocato nel citosol attraverso la membrana della vescicola endocitica. Il componente A possiede un'attività catalitica ADP-ribosilante. Il bersaglio del componente A è rappresentato dal fattore di allungamento che interviene nella sintesi della catena peptidica a livello della traslocazione sul ribosomi. Il complesso EF-2-ADP-ribosio che ne risulta è inattivo e, di conseguenza, la sintesi proteica viene bloccata, portando a morte la cellula.

**La tossina di shiga**, prodotta da *shigella dysenteriae* di tipo 1 e le tossine shiga-like presentano un'identica azione tossica che si traduce nella inibizione della sintesi proteica cellulare. La prima si lega con l'oligomero B ad un glicoside di membrana e viene introdotta nella cellula per endocitosi mediata da recettore. Il frammento A1 della tossina di shiga è un enzima con una specifica attività catalitica N-glicosidica che stacca un residuo di adenina vicino alla porzione 3'-terminale dell'RNA ribosomiale 28S, la cui depurazione provoca il fallimento del legame, EF1 dipendente, dall'aminoacil-t-RNA al sito A del ribosomi, dal che deriva il blocco della sintesi proteica con conseguente morte cellulare.

### **Esotossina Carbonchiosa**

La tossina carbonchiosa, prodotta da *Bacillus anthracis*, è formata da tre componenti nessuno dei quali è tossico da solo, denominati rispettivamente: fattore I, II, III. I fattori attivi responsabili della tossicità della tossina sono i fattori I, III. Il fattore II invece rappresenta il componente B della tossina che rende possibile l'ancoraggio e la penetrazione dei fattori A nella cellula bersaglio, sicché gli anticorpi attivi nei suoi confronti sono in grado, da soli, di neutralizzare completamente l'azione tossica del complesso, da cui la denominazione di antigene protettivo, i tre componenti della tossina sono secreti separatamente dal batterio ed in porzioni variabili. La tossina carbonchiosa rappresenta insieme alla capsula, il principale fattore di virulenza di *Bacillus anthracis*.

## Esotossina tetanica ed esotossina botulinica

**La tossina tetanica** si diffonde nell'organismo per via ematica e risalendo centripetamente lungo i nervi periferici, raggiunge il sistema nervoso centrale dove blocca gli impulsi inibitori della contrazione muscolare riflessa, provocando una serie di spasmi generalizzati, che interessano contemporaneamente sia i muscoli flessori che estensori (paralisi spastica). La tossina tetanica presenta una sola configurazione antigenica ed è codificata da un plasmide come singola catena peptidica che si libera in seguito alla lisi del batterio ed è tagliata da una proteasi intrinseca in 2 peptidi (peptide H e peptide L) che rimangono uniti da un ponte disolfurico. Il peptide H è il componente B della tossina che si lega alla cellula nervosa consentendo la penetrazione nel citosol del peptide L, che rappresenta il componente A della tossina, è una zincopeptidasi che ha il suo bersaglio nella sinaptobrevina, presente nell'apparato neuroesocitosico preposto alla esocitosi del neurotrasmettitore a livello sinaptico nel SNC, che viene bloccata.

**La tossina botulinica** è una tossina che pur essendo distrutta dalla esposizione a 80° per 30 minuti è relativamente resistente all'azione dei succhi gastrici, la quale una volta introdotta con gli alimenti, si assorbe nell'intestino e diffonde nell'organismo con un bersaglio specifico a livello del SNP impedendo il rilascio di acetilcolina a livello delle sinapsi colinergiche delle giunzioni neuromuscolari, con conseguente paralisi flaccida. Della tossina botulinica si conoscono almeno sette distinti tipi antigenici (A-G). La tossina botulinica viene sintetizzata come un unico peptide che viene poi scisso in 2 frammenti H e L tenuti insieme da un ponte disolfurico. Anche in questo caso il componente H è quello che si lega al recettore e il componente L quello enzimaticamente attivo, ed è anch'essa una zincopeptidasi che ha il suo bersaglio sempre in proteine coinvolte nel processo di rilascio del neurotrasmettitore.

## L'endotossina

Per l'endotossina, la parte tossica è il lipide A. Al lipide A, è legata una complessa struttura polisaccaridica formata da una porzione prossimale o core identico in tutti i batteri G-N, cui, a sua volta, è ancorata la porzione polisaccaridica specifica, formata da una lunga catena che costituiscono l'antigene O. Il lipide A è relativamente termostabile e poco o punto dotato di potere immunogeno.