

(Flores et al., 2009)

***Escherichia coli* patogeni:**  
un focus su  
***Escherichia coli* enteroaggregativo (EAEC)**  
ed ***Escherichia coli* aderente-invasivo (AIEC)**

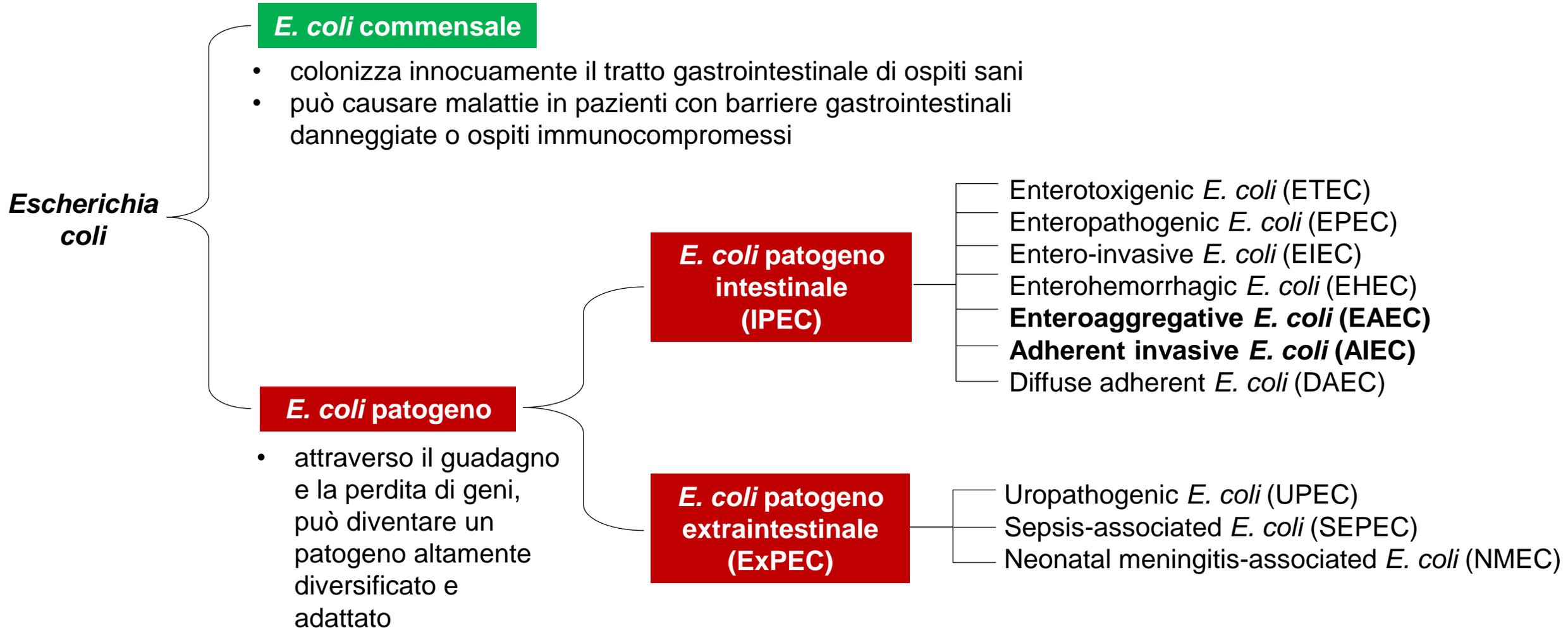


SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA



# ESCHERICHIA COLI

L'*Escherichia coli* è un batterio **Gram-negativo**, ossidasi-negativo, a forma di bastoncino appartenente alla famiglia delle **Enterobacteriaceae**. È in grado di crescere sia aerobicamente che anaerobicamente, preferibilmente a 37°C, e può essere immobile o mobile, con flagelli peritrichi. Fu **isolato** per la prima volta dalle **feci di neonati** e caratterizzato da **Theodor Escherich** nel **1885**.

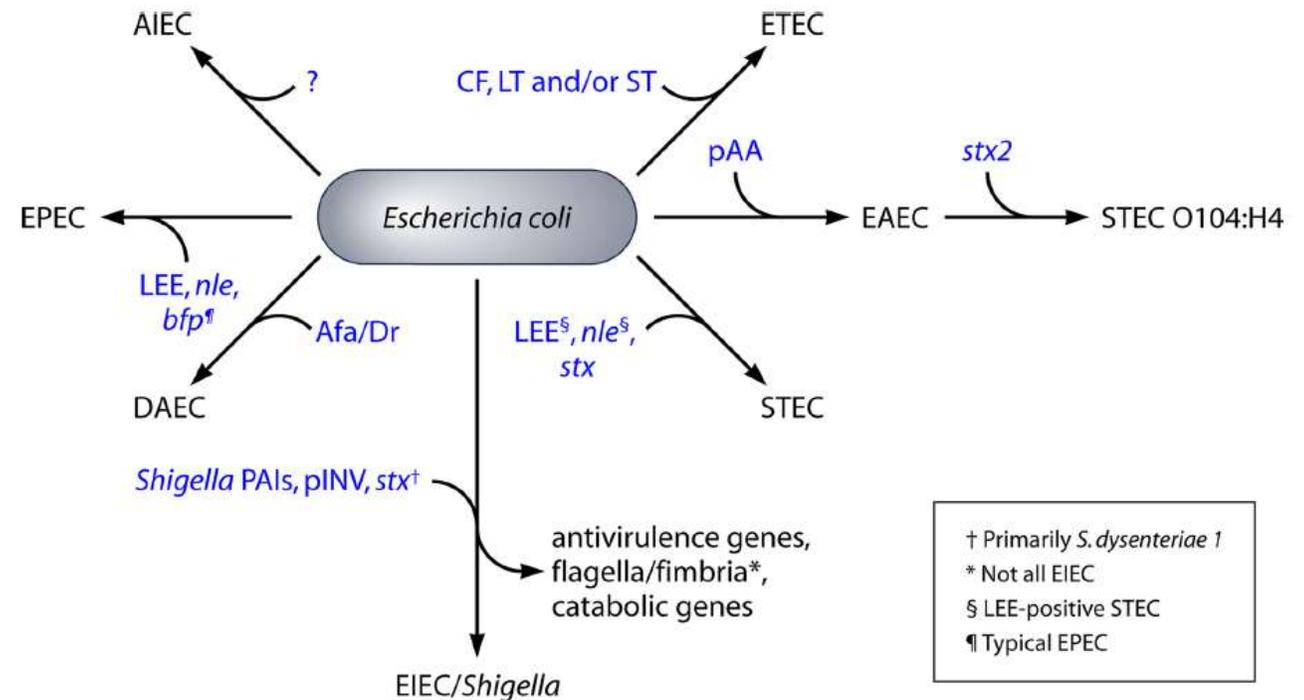


# EVOLUZIONE DELL'ESCHERICHIA COLI PATOGENO

I genomi di *E. coli* sono divisi tra un **GENOMA CENTRALE** e un **POOL GENETICO FLESSIBILE** → quest'ultimo garantisce la capacità patogena di *E. coli*, attraverso l'acquisizione e la perdita di materiale genetico in una serie di *hot points* in tutto il genoma.

Il DNA può essere spostato tra ospiti procarioti attraverso meccanismi quali **coniugazione**, **trasformazione** e **trasduzione**, codificati da elementi genetici mobili (trasposoni, sequenze di inserzione, batteriofagi e plasmidi), con conseguente trasferimento genico orizzontale (**HGT**).

Gli elementi genetici mobili possono esistere integrati nel cromosoma o attraverso l'autoreplicazione all'interno del nuovo ospite, per fornire nuovi tratti e vantaggi in termini di fitness. Tuttavia, anche la **perdita genetica** può favorire l'idoneità o l'adattamento di un agente patogeno ad una nicchia particolare.



Molti dei patotipi intestinali costituiscono un **grave problema per la salute pubblica** e hanno causato diverse **epidemie mortali**, in particolare nei paesi in via di sviluppo...

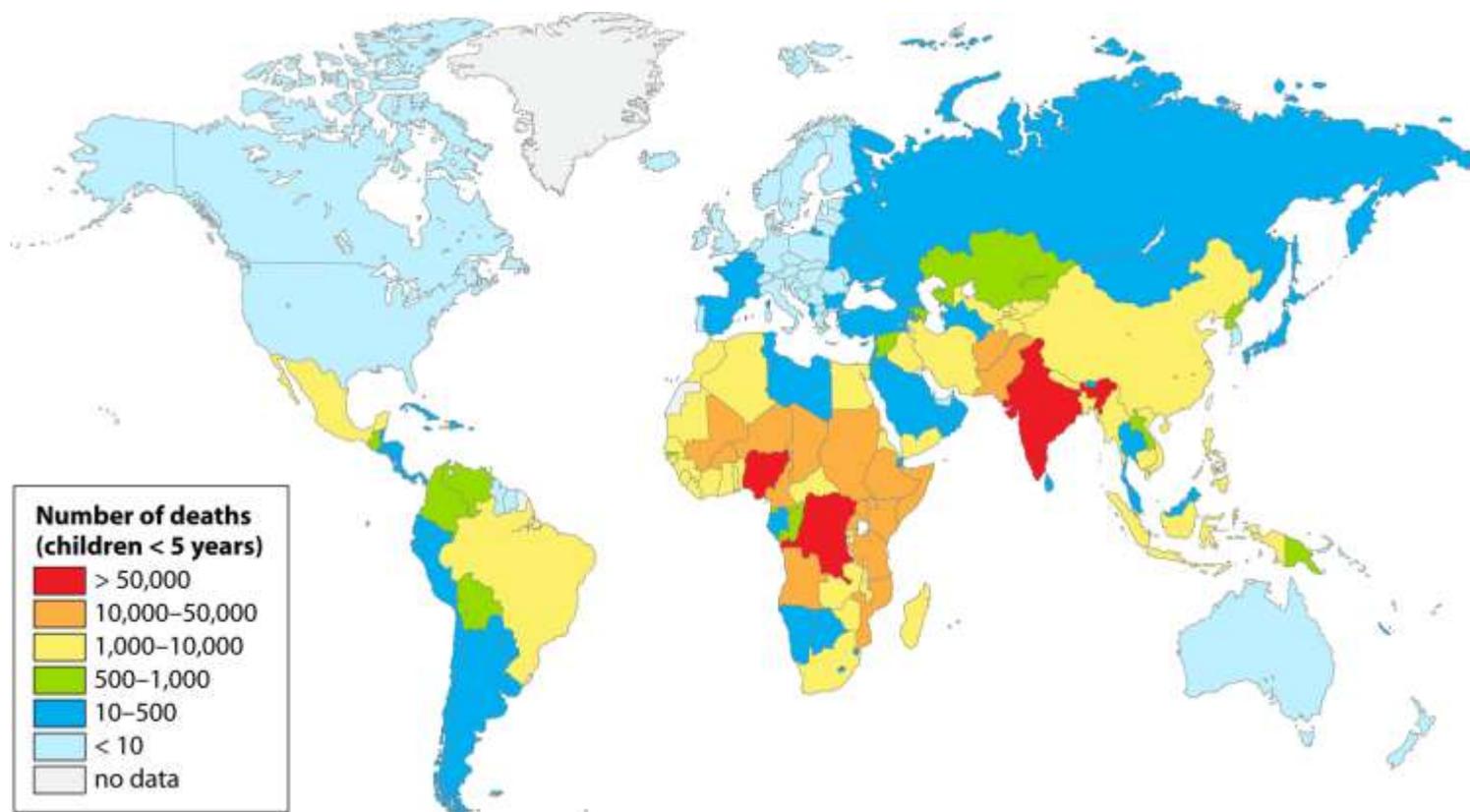
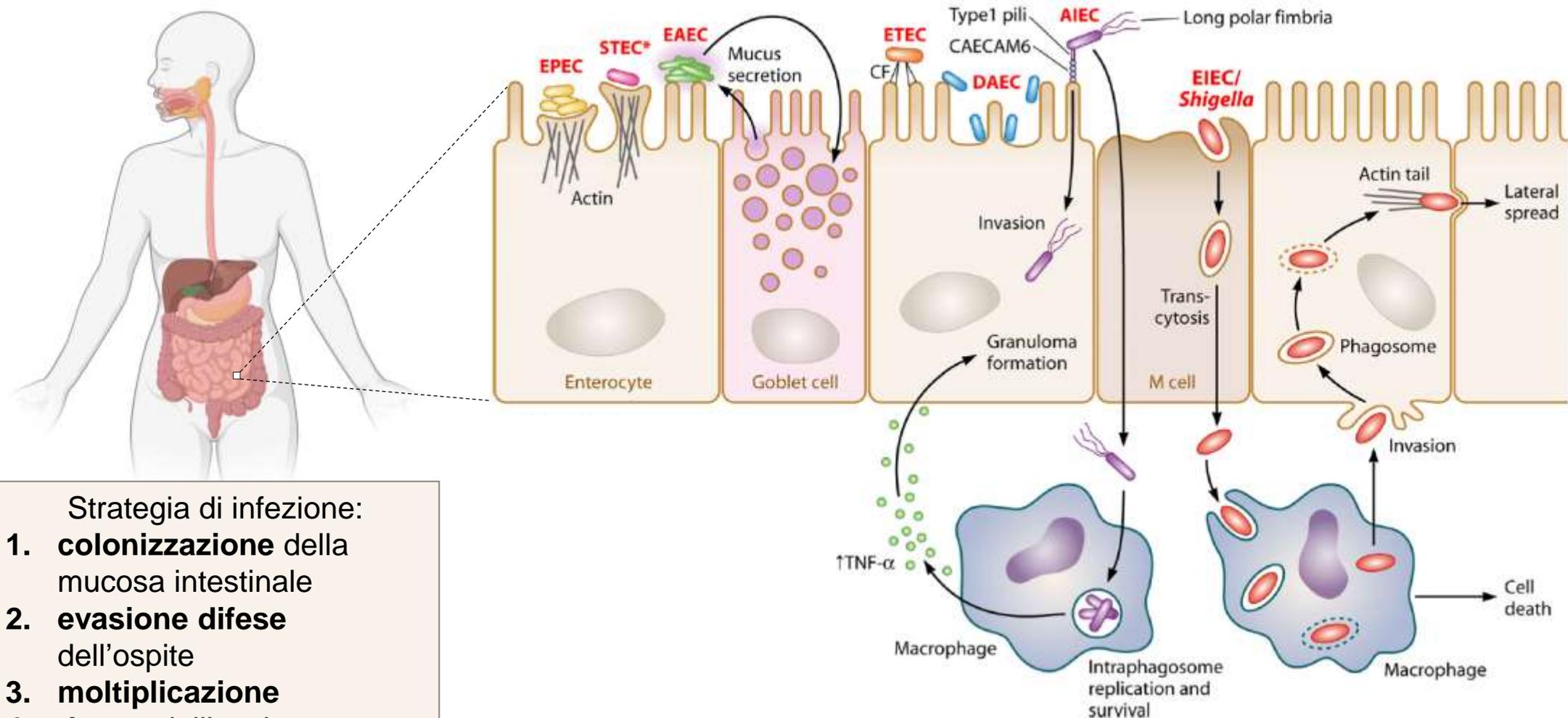


Fig. Global mortality from diarrhea in children under the age of 5 in 2010.  
Source data for the map: World Health Organization

# ESCHERICHIA COLI PATOGENI INTESTINALI

L'*E. coli* provoca una **varietà di malattie diarroiche nell'uomo**, a causa di specifici fattori di colonizzazione e virulenza associati a ciascun patotipo. Per ciascuno, il sito e il meccanismo di colonizzazione dell'ospite, la malattia, i sintomi e gli esiti clinici possono differire, esemplificando la diversità di *E. coli*.

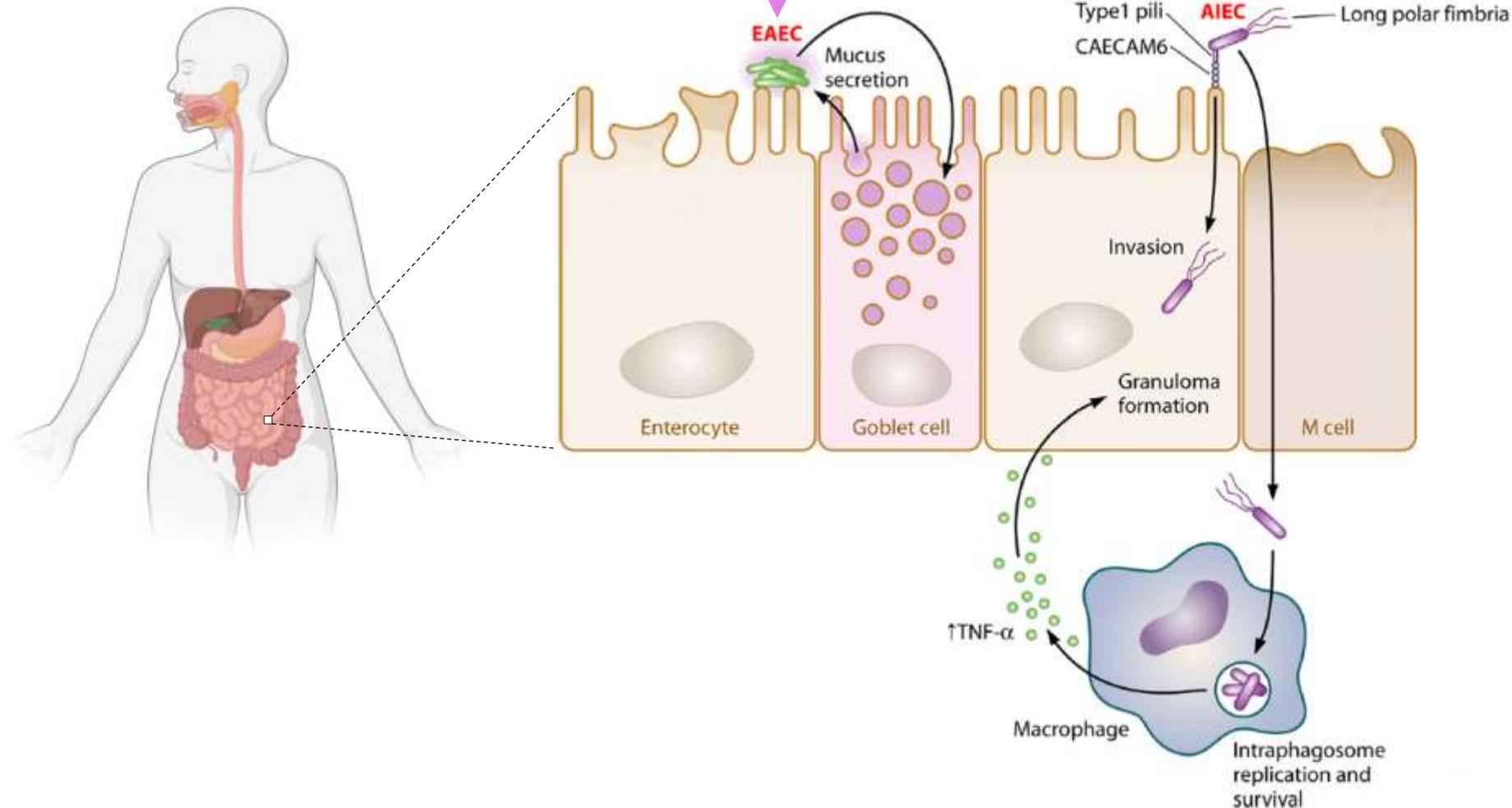


- Strategia di infezione:
1. **colonizzazione** della mucosa intestinale
  2. **evasione difese** dell'ospite
  3. **moltiplicazione**
  4. **danno** dell'ospite

# EAEC e AIEC

EnteroAggregative  
E. coli (EAEC)

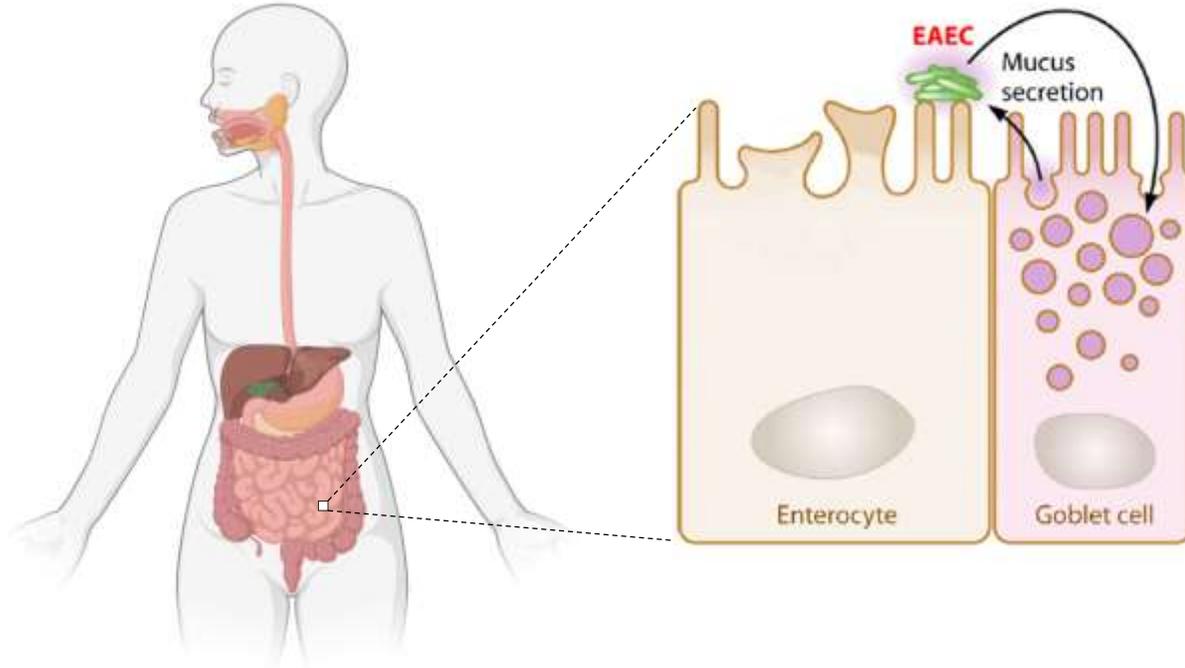
Adherent-Invasive  
E. coli (AIEC)



Discuteremo di **EAEC** e **AIEC** nel contesto:

- dell'identificazione
- dell'epidemiologia
- della patogenesi e dei fattori di virulenza

# *Escherichia coli* enteroaggregativo (EAEC)

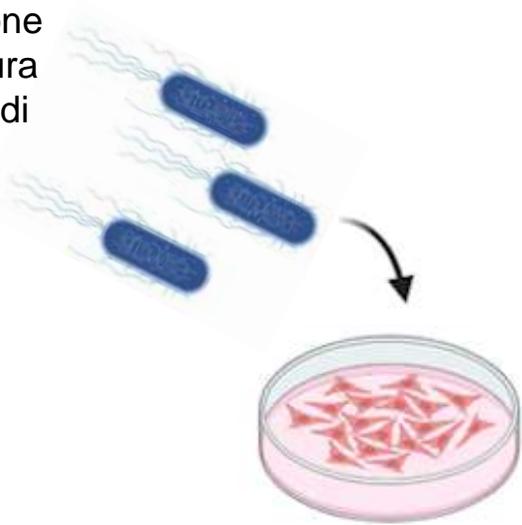


L'*E. coli* enteroaggregativo (EAEC) è stato **identificato** per la prima volta in Cile nel **1987** da Nataro e colleghi, in uno **studio epidemiologico sulla diarrea infantile** che confrontava i modelli di aderenza di oltre 500 isolati clinici

↓  
Uno dei test fenotipici più utili per la diagnosi dell'*E. coli* diarroico è il **TEST DI ADERENZA** alle cellule **HEp-2**

# Saggio di aderenza alle cellule HEp-2

Inoculazione  
della coltura  
batterica di  
EAEC



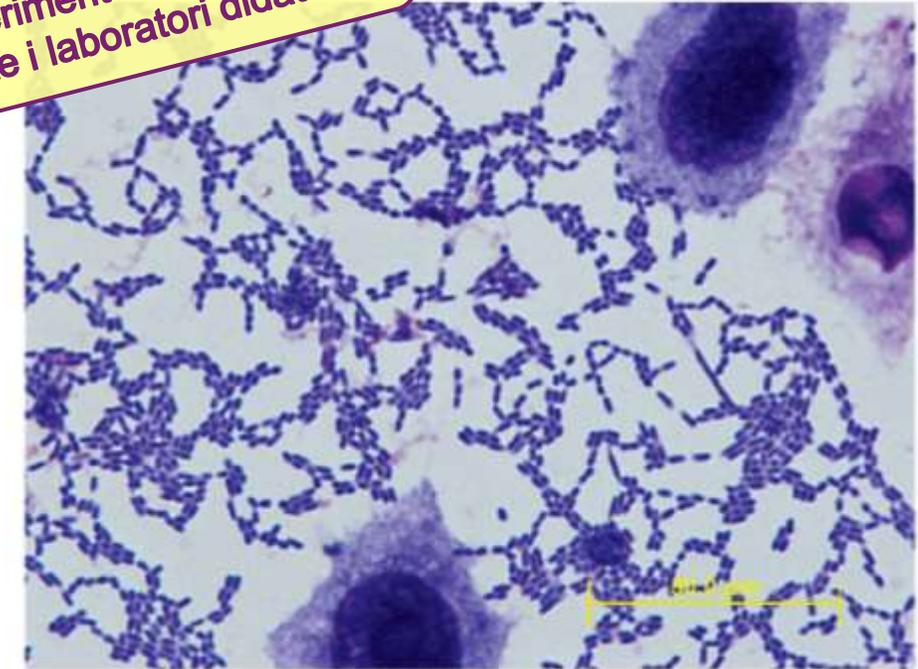
Monostrato  
semiconfluente di  
cellule epiteliali Hep-2

Incubazione  
per 3h, 37°C,  
5% di CO<sub>2</sub>



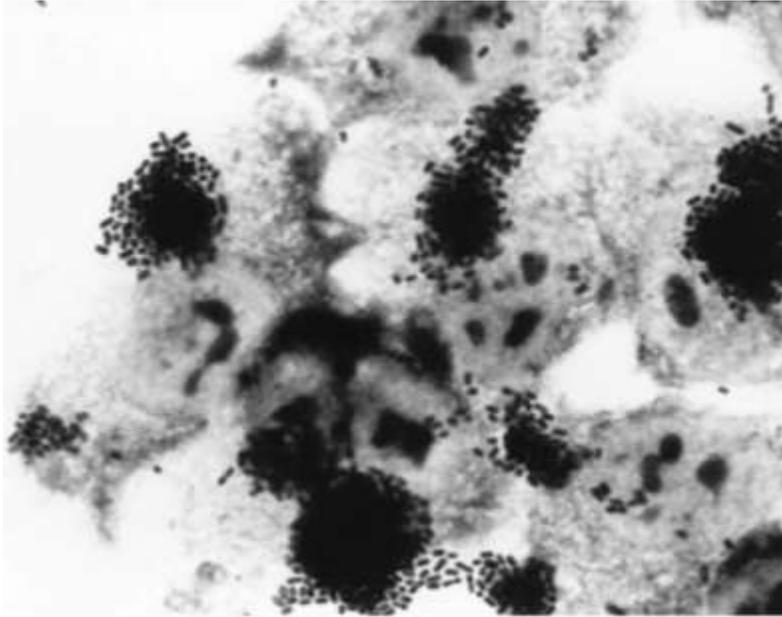
Lavaggio del  
campione, fissaggio,  
colorazione e  
valutazione al  
microscopio ottico

**Esperimento che farete  
durante i laboratori didattici!**

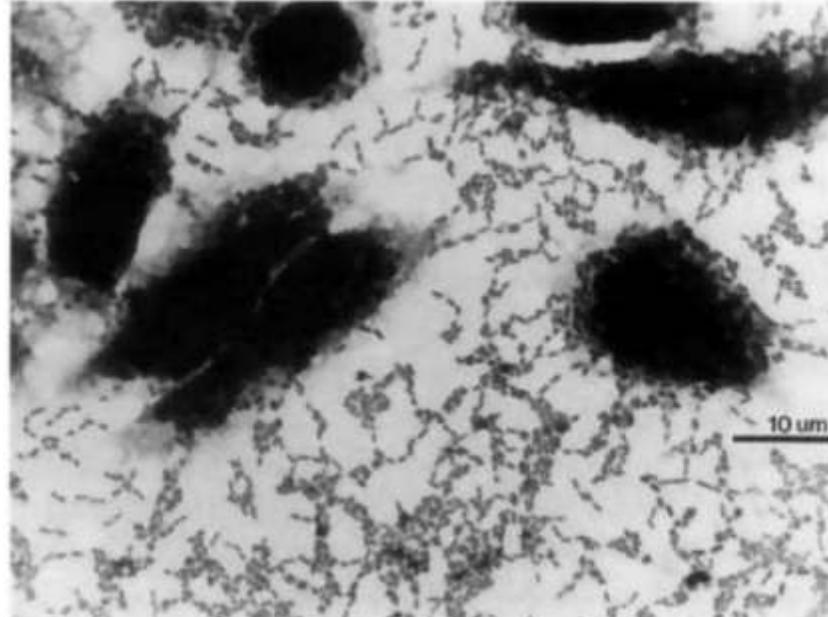


*E. coli* enteroaggregativi che  
esprimono il pattern di aderenza  
aggregativa (AA)

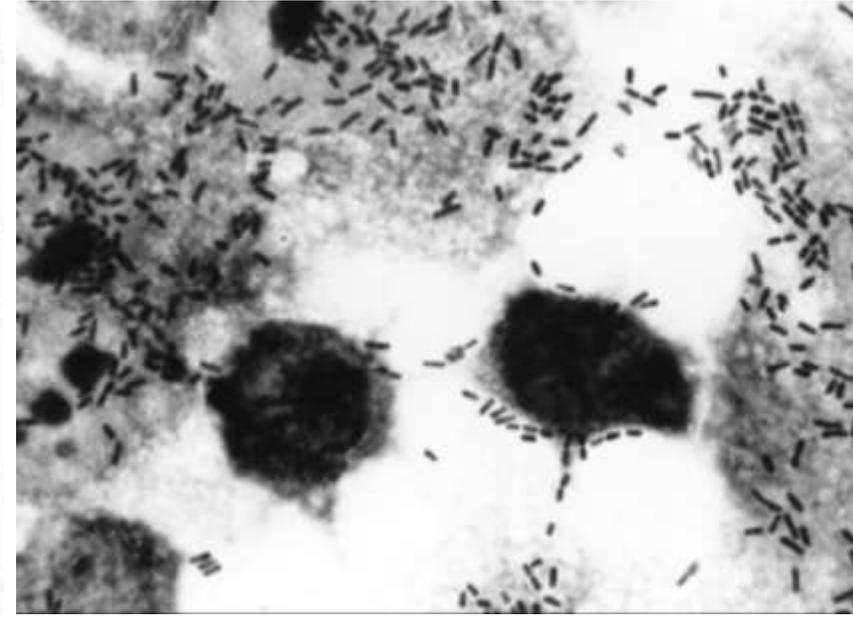
# Identificazione e classificazione *Echerichia coli* enteroaggregativo (EAEC)



**EPEC → Aderenza localizzata (LA)**  
con cluster o microcolonie sulla  
superficie delle cellule HEp-2.



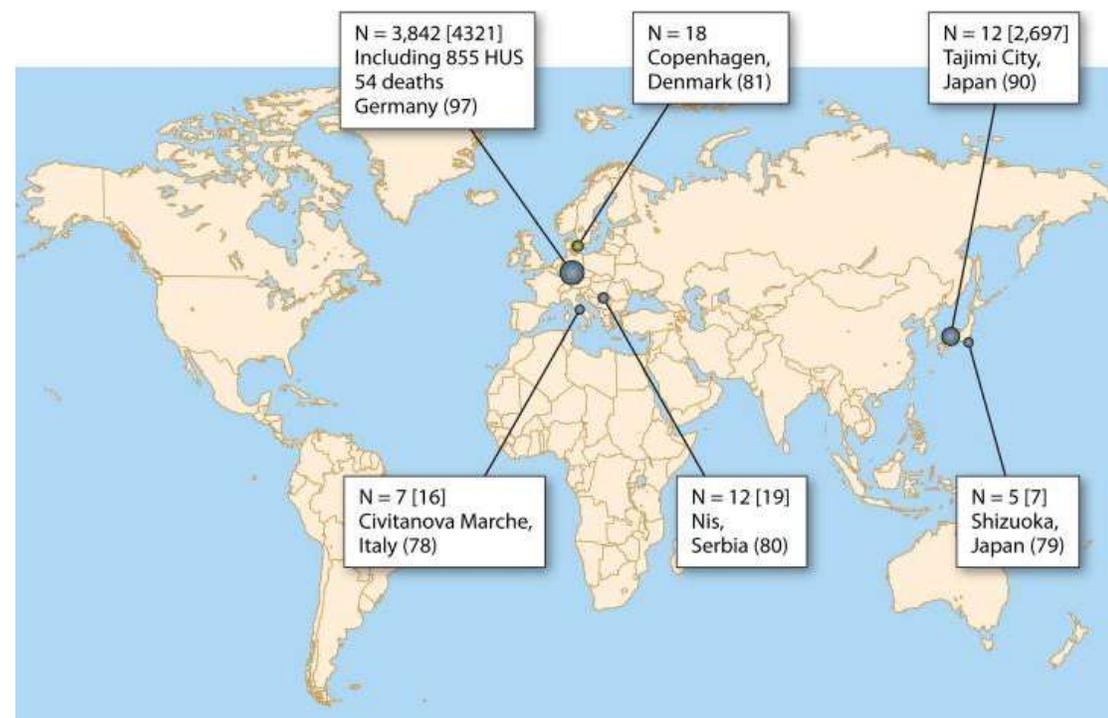
**EAEC → Aderenza aggregativa (AA)**  
con prominente autoagglutinazione  
delle cellule batteriche tra loro, sulle  
cellule e sul vetrino coprioggetto libero.  
Imprescindibile **configurazione a  
mattoni impilati (stacked brick)**.



**DAEC → Aderenza diffusa (DA)**  
con dispersione sulla superficie  
delle cellule HEp-2, scarsa  
aggregazione e scarsa aderenza  
al vetrino libero.

# EAEC: epidemiologia generale e caratteristiche cliniche

- ❖ Da quando è stato descritto nel 1987, l'EAEC è considerato un agente **patogeno emergente di origine alimentare**, associato principalmente a:
  - **diarrea infantile** acuta e persistente ( $\geq 14$ gg) e a ritardo della crescita nei paesi sviluppati e in via di sviluppo.
  - **diarrea** acuta e persistente **del viaggiatore** dopo l'ETEC nei paesi sviluppati e in via di sviluppo
  - **infezioni enteriche** nei pazienti con **HIV/AIDS**.
- ❖ Diversi **focolai di gastroenterite** causati da **EAEC** sono stati segnalati in **Paesi a basso e alto reddito**, associate al consumo di alimenti contaminati:
  - nel **1997** in **Giappone** un'epidemia ha fatto ammalare 2.697 bambini.
  - nel **1997** in un villaggio dell'**India** si verificò un'epidemia diarroica dell'EAEC che colpì circa il 15% della popolazione.
  - nel **2008**, in **Italia** i focolai di EAEC sono stati trasmessi da formaggio non pastorizzato.
  - Rilevati ceppi diarrogeni dell'EAEC nel **continente africano**, in Mali, Libia, Africa sub-sahariana e Nigeria.
  - nel **2011** in **Germania** un'epidemia ha colpito 4.321 persone, con più di 50 decessi. È stato riconosciuto un ceppo ibrido EAEC/STEC, che codifica per Stx.

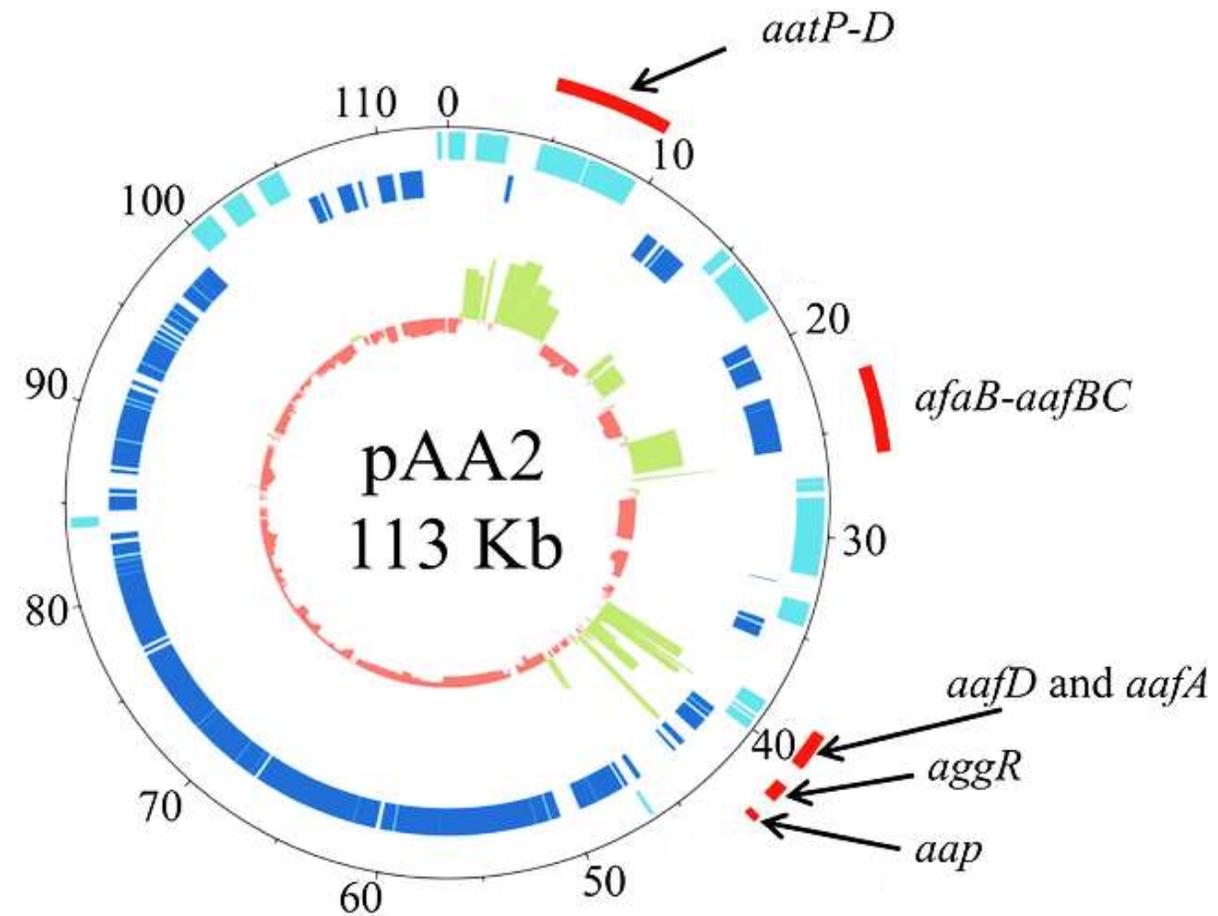


# Plasmide di aderenza aggregativa (pAA)

Il modello a "mattoni impilati" che caratterizza l'adesione dell'EAEC sulla cellula epiteliale dipende da fattori codificati dai geni che si trovano sul **plasmide di aderenza aggregativa (pAA)**.

pAA è un plasmide di 72–120 Kb, che **codifica** diversi **fattori di virulenza** come:

- fimbrie di aderenza aggregativa (**AAF, *agg/aaf***)
- proteina antiaggregazione (**Dispersina, *aap***)
- trasportatore della proteina antiaggregazione (***aatPABCD***)
- attivatore trascrizionale AggR (***aggR***)
- plasmid-encoded toxin (**Pet, *pet***)
- enteroaggregative heat-stable toxin (**EAST-1, *astA***)

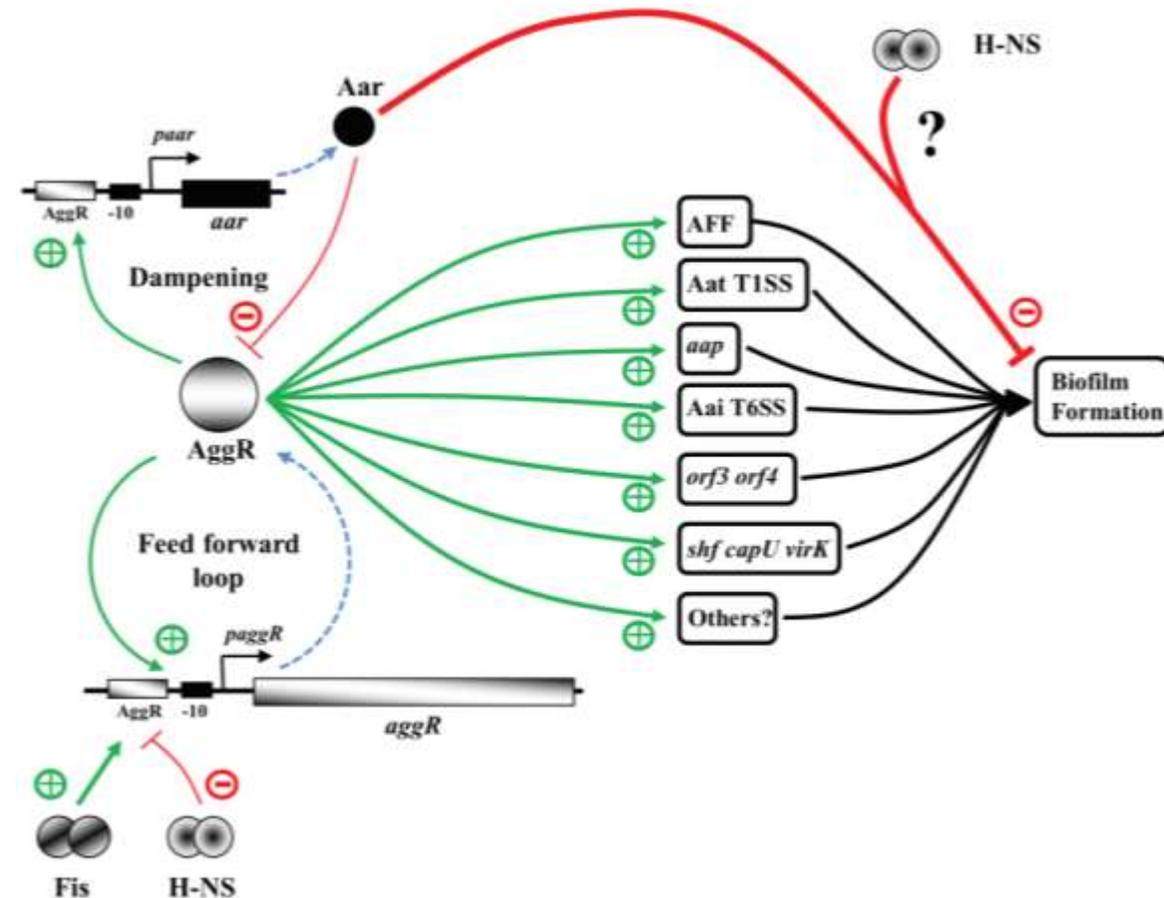


# AggR come regolatore della virulenza negli EAEC



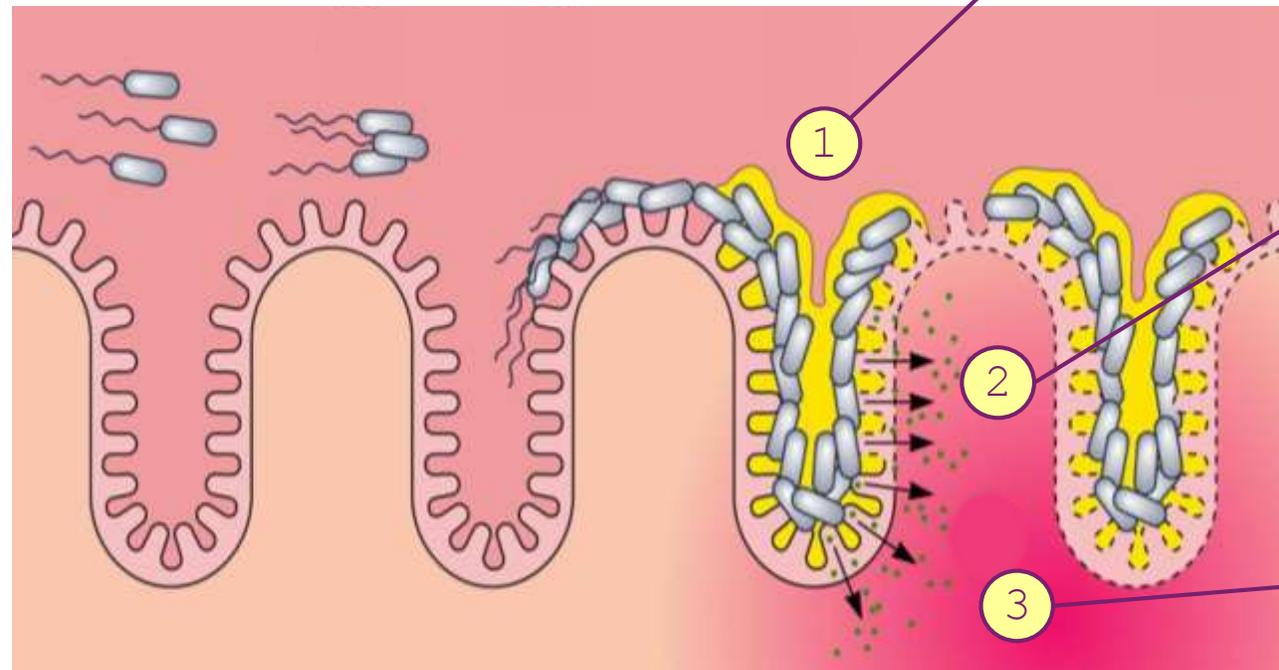
**AggR** è un attivatore trascrizionale e regola l'espressione di vari fattori di virulenza presenti nel cromosoma e nel plasmide pAA dell'EAEC

- Proteina della **famiglia di fattori di trascrizione AraC-XylS** che presentano diverse caratteristiche conservate e includono anche AraC, CfaR, Rns, ToxT, e VirF (il master regulator in *Shigella*).
- I **regolatori negativi** dell'espressione di *aggR* includono la proteina associata al nucleoide **H-NS** (che in genere agisce come inibitore trascrizionale legandosi a sezioni curve del DNA) e la proteina **Aar**, membro della famiglia di regolatori negativi AraC.
- I **regolatori positivi** dell'espressione di *aggR* includono sia la proteina **FIS** (che si lega al DNA sotto forma di dimeri e generalmente attiva la trascrizione) che il secondo messaggero nucleotidico **(p)ppGpp**. Inoltre, l'espressione di AggR è sovraregolata dall'**AggR** stesso.



# La patogenesi in tre fasi

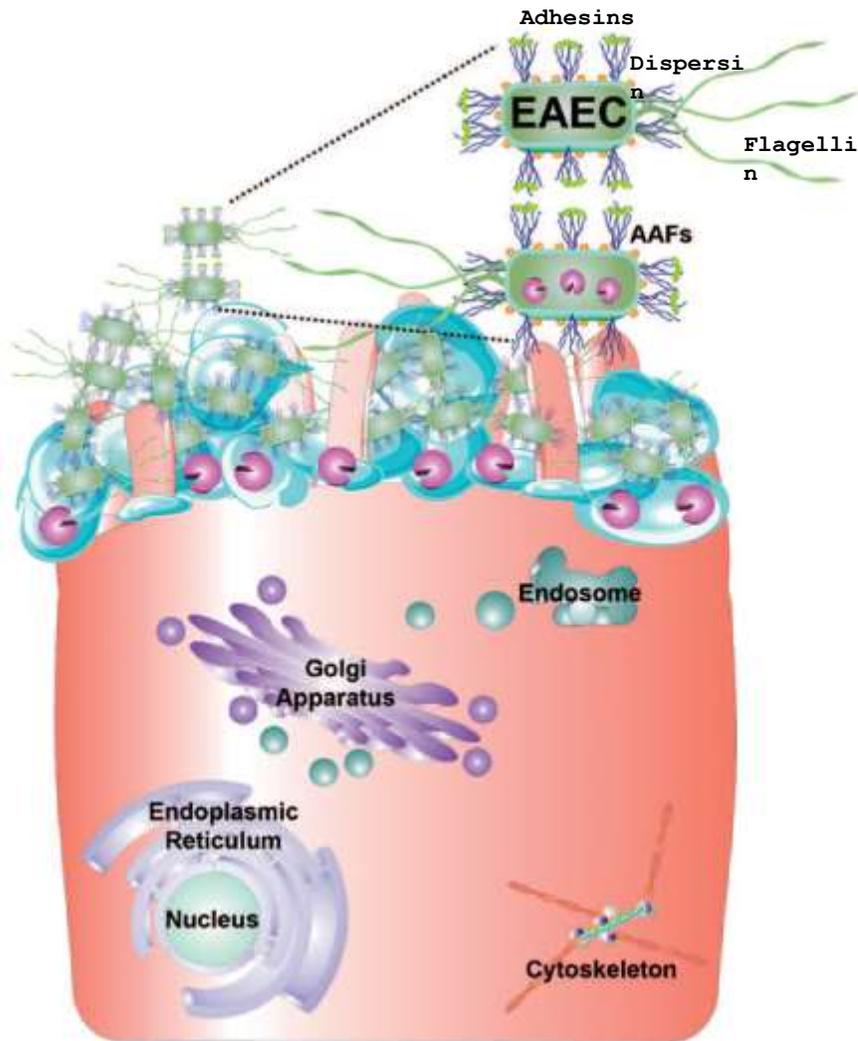
- La **patogenesi di EAEC è complessa**, poiché i ceppi di EAEC sono molto eterogenei.
- Anche il **sito di infezione** nel tratto gastrointestinale **non è uniforme**: EAEC può legarsi all'epitelio del digiuno, dell'ileo e del colon.



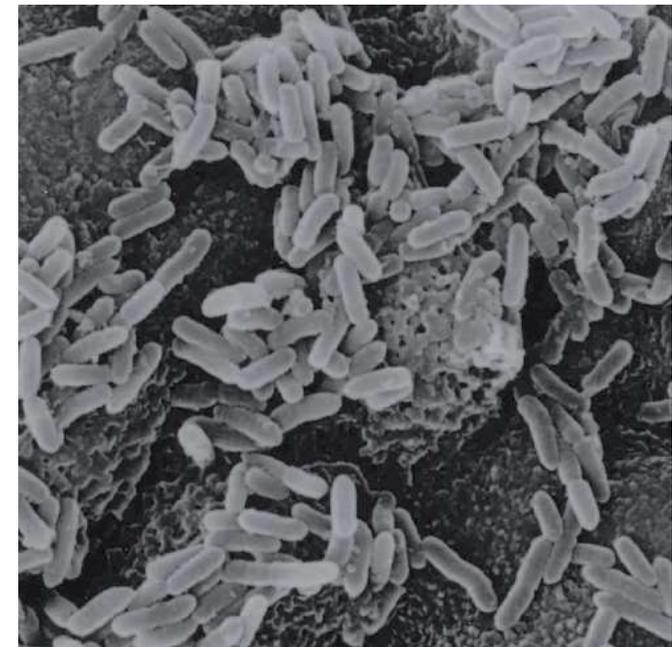
Abbondante adesione  
alla mucosa intestinale  
con formazione di biofilm

Produzione di  
enterotossine  
e citotossine

Induzione  
dell'infiammazione  
della mucosa



Il **caratteristico fenotipo AA** espresso quando l'EAEC è in contatto con le cellule epiteliali in coltura, è osservabile anche sulla mucosa intestinale infettata da EAEC, dove l'adesione è caratterizzata da un **biofilm composto da aggregati di batteri** in associazione con uno **spesso strato di muco** → il biofilm favorisce l'elusione del sistema immunitario locale.



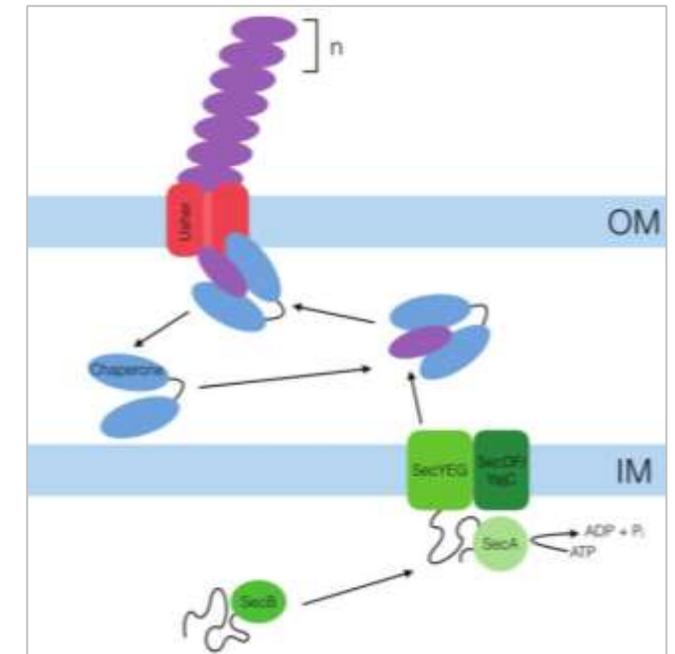
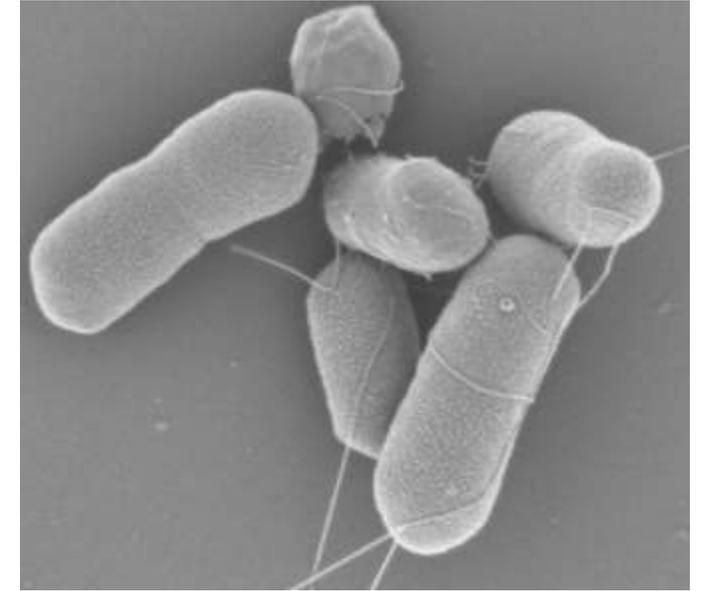
SEM of colonic specimens incubated with EAEC 042

Il fenotipo di AA è associato alla presenza di:

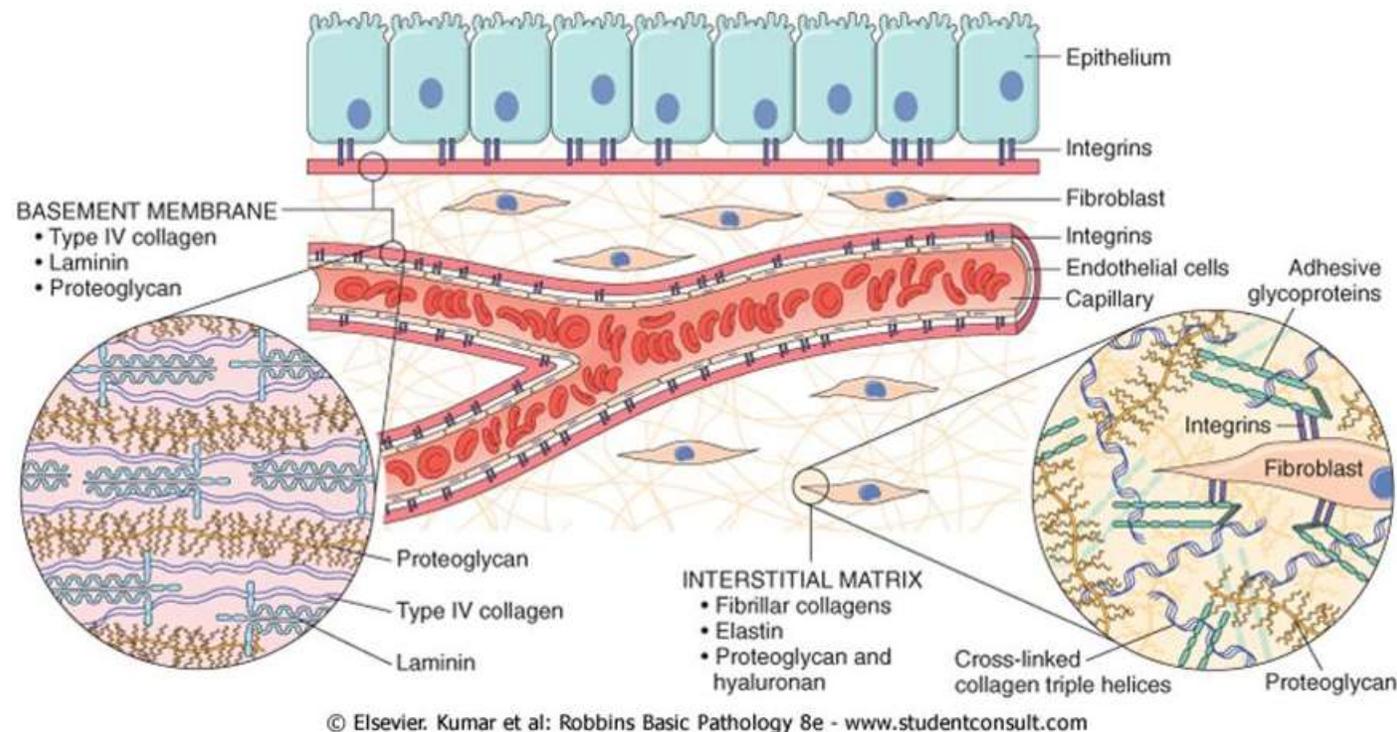
- **Adesine Hra1 e Hra2** (OMP): agglutinine resistenti al calore coinvolte nell'autoaggregazione, nella formazione di biofilm e nell'adesione aggregativa.
- **Fimbrie di aderenza aggregativa** (AAF/I-AAF/IV)
- **Dispersina**: proteina anti-aggregazione.

# Fimbrie di aderenza aggregativa (AAF/I-AAF/IV)

- Le AAF sono specifici fattori di adesione responsabili del riconoscimento dei recettori sulle cellule ospiti. Sono note **quattro varianti**: **AAF/I** (codificata dai geni *agg*), **AAF/II** (codificata dai geni *aaf*), **AAF/III** (*agg3*) e **AAF/IV** (codificata dai geni *agg4*).
- Le AAF espresse da *E. coli* si presentano come **fibre sottili o raggruppate** che possono estendersi fino a diversi micron dalla superficie batterica. Le stime per il **diametro** delle singole fimbrie sono:
  - nell'intervallo 2-3 nm per AAF/I,
  - fino a 5 nm di larghezza per AAF/II
  - diametro di 3-5 nm per gli AAF/III. Sono fimbrie lunghe e flessibili, ma di solito sono osservati come filamenti individuali e occasionalmente in fasci.
- La **biogenesi** delle AAF utilizza la **via chaperone-usher** e sono costituite da due subunità proteiche secrete, una subunità maggiore e una presunta subunità minore. Mentre le subunità minori sono relativamente conservate all'interno della sottofamiglia, le subunità maggiori di AAF mostrano solo una somiglianza di sequenza marginale tra loro.



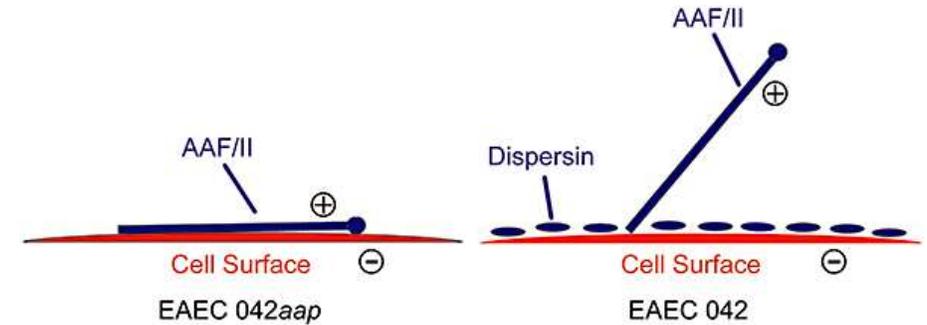
- Mentre la maggior parte delle subunità principali delle fimbrie assemblate con CU sono caricate negativamente a pH fisiologico, le subunità principali di **AAF** sono **caricate positivamente** fino a pH 9,2–9,5; si ritiene che questa caratteristica abbia un **ruolo nell'adesione alla EAEC**.
- È stato recentemente dimostrato che la subunità principale di **AAF/II media l'attaccamento** del ceppo EAEC 042 ai **componenti della matrice extracellulare** (fibronectina, laminina e collagene di tipo IV) → questo dimostra il ruolo delle fimbrie di EAEC nell'adesione alla mucosa intestinale, ma il meccanismo di riconoscimento resta ancora sconosciuto.



! Le proteine della matrice extracellulare sono generalmente localizzate sulla membrana basale epiteliale, dove non sono disponibili per l'interazione con i batteri luminali → il processo infiammatorio può innescare cascate di trasduzione del segnale che inducono la secrezione apicale o la ricollocazione della fibronectina.

# Dispersina

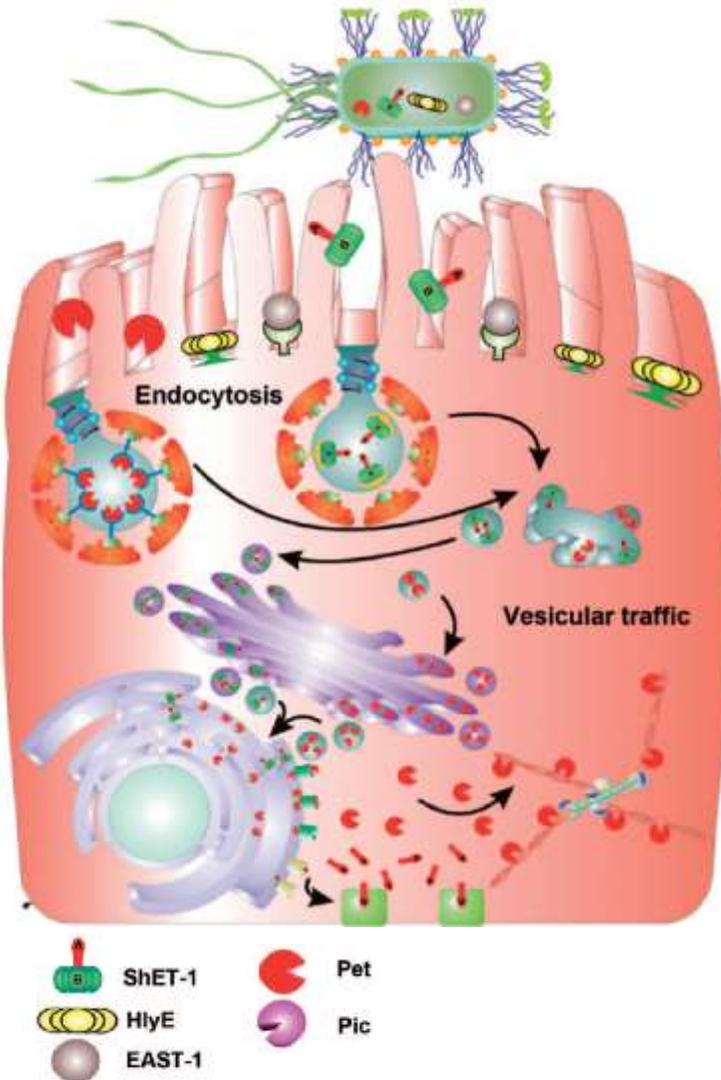
- Richiede un **sistema di trasporto di tipo ABC**, codificato dall'operone *aatPABCD*, presente nel plasmide *pAA*.
- La **dispersina** sembra agire **neutralizzando l'LPS con carica negativa** della superficie batterica, permettendo così alle fimbrie AAF, cariche positivamente, di distendersi dal batterio e mediare interazioni a distanza. Diminuisce quindi l'autoaggregazione e consente la dispersione dei batteri lungo la mucosa intestinale.
- La dispersina è espressa *in vivo* ed è altamente immunogena, il che la rende un **potenziale candidato al vaccino**.



Sono plausibili diversi ruoli della dispersione nell'adesione e nella colonizzazione

Tutti i patogeni enterici devono aderire alla superficie epiteliale. Allo stesso tempo, potrebbe essere utile modulare negativamente l'aderenza per consentire la **dispersione della progenie individuale** attraverso la superficie epiteliale, che è libera di **stabilire nuovi focolai di infezione**.

Possibile **ruolo nella penetrazione della mucosa intestinale** (1mm), ipotizzando che i grandi aggregati siano ritardati nella traslocazione attraverso un gel viscoso rispetto ai singoli batteri, che possono essere più abili a nuotare attraverso questo strato.



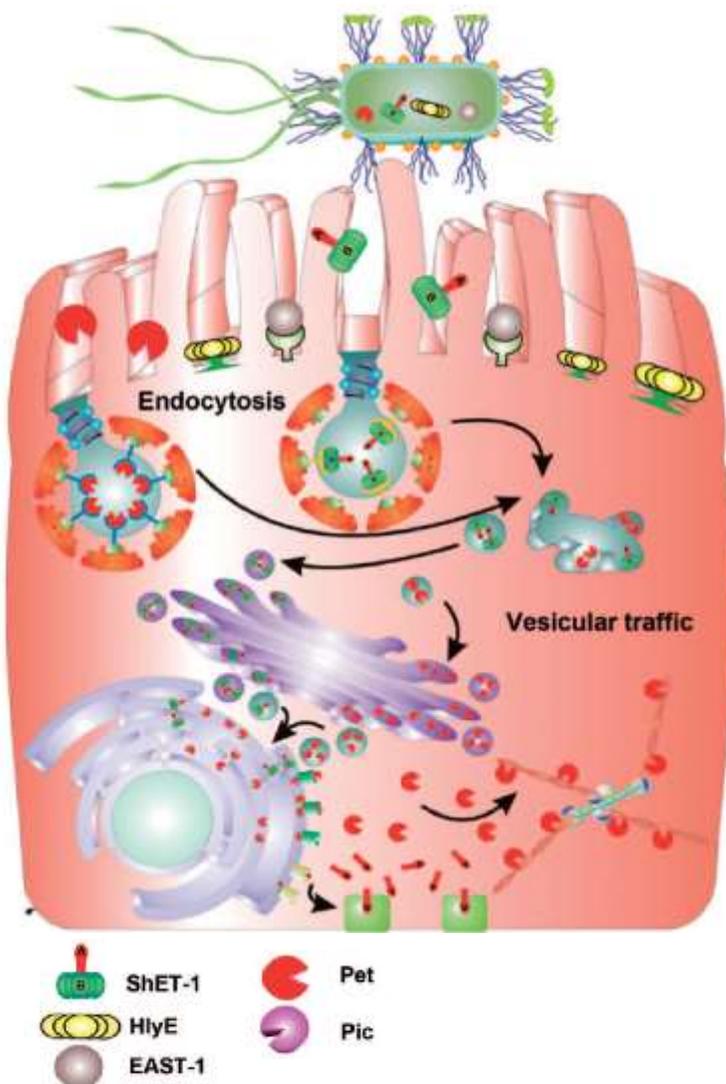
Una volta instaurato il biofilm, **EAEC produce effetti citotossici** quali vescicolazione dei microvilli, l'allargamento delle aperture delle cripte e l'aumento dell'estrusione delle cellule epiteliali. Si ritiene che la **secrezione di tossine** giochi un ruolo importante nella diarrea secretoria, che è una manifestazione clinica tipica dell'infezione da EAEC.

#### IL PLASMIDE pAA OSPITA I GENI CODIFICANTI:

- **EAST-1**, un'enterotossina termostabile nota per **causare diarrea secretiva**. L'interazione della tossina con il suo **recettore enterico**, induce un aumento della concentrazione di cGMP intracellulare nelle cellule intestinali, portando alla secrezione di anioni e alla diarrea.
- **Pet**, una tossina che **altera il citoscheletro**, poiché induce la contrazione del citoscheletro, la perdita di fibre di stress di actina e il rilascio di contatti focali, seguiti da un arrotondamento e completo distacco delle cellule.

Pet viene internalizzato da vescicole rivestite di clatrina: segue il trasporto verso l'ER, che contiene proteine traslocatrici che ne facilitano l'entrata nel citosol.

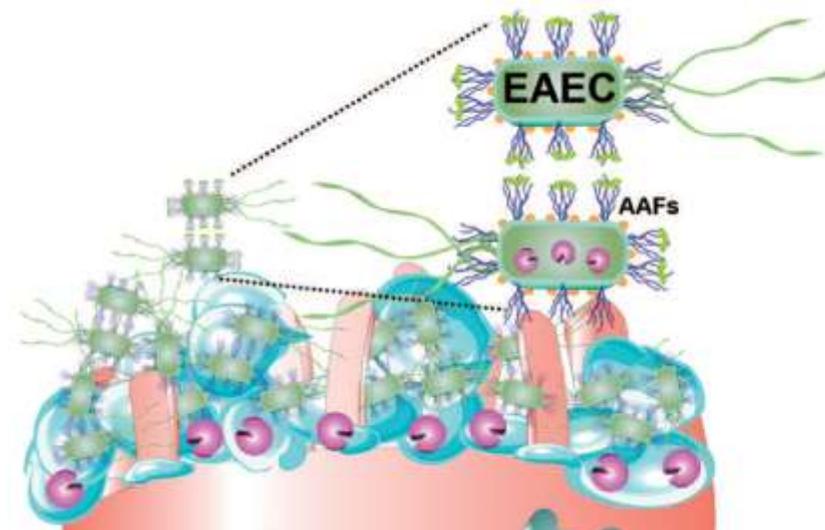
Il bersaglio intracellulare della tossina Pet è l' **$\alpha$ -fodrina**: la sua degradazione porta all'interruzione del citoscheletro, poiché la fodrina mantiene la connessione tra la membrana plasmatica e il citoscheletro.

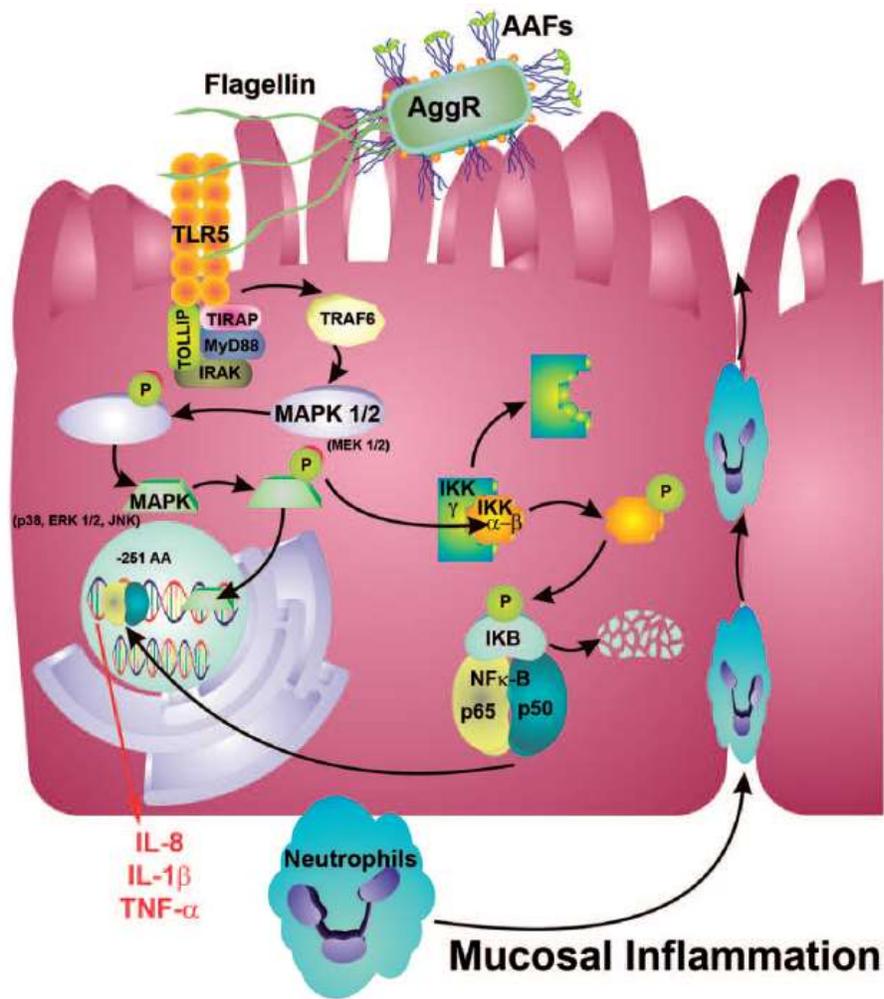


Una volta instaurato il biofilm, **EAEC produce effetti citotossici** quali vescicolazione dei microvilli, l'allargamento delle aperture delle cripte e l'aumento dell'estrusione delle cellule epiteliali. Si ritiene che la **secrezione di tossine** giochi un ruolo importante nella diarrea secretoria, che è una manifestazione clinica tipica dell'infezione da EAEC.

### IL CROMOSOMA CODIFICA PER:

- **ShET1**, una tossina che sembra **indurre la secrezione intestinale** attraverso l'adenosina monofosfato ciclico (cAMP) e il guanosina monofosfato ciclico (cGMP), ma il preciso meccanismo d'azione e la biochimica dettagliata rimangono elusi.
- **Pic**, una **mucinasasi** condivisa tra molti diversi ceppi patogeni di *E. coli* e *Shigella* spp. Consente la degradazione delle mucine per facilitare il passaggio di EAEC attraverso lo strato protettivo di muco.





EAEC è un patogeno infiammatorio, come dimostrato sia in studi clinici, che in studi di laboratorio.

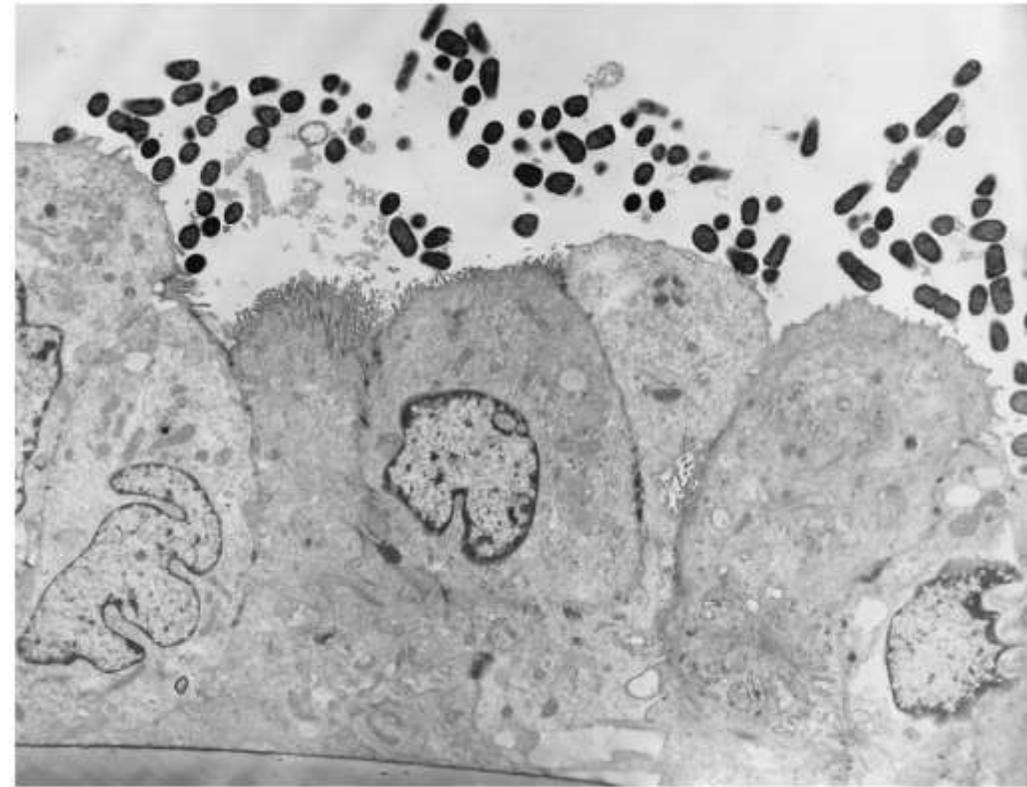
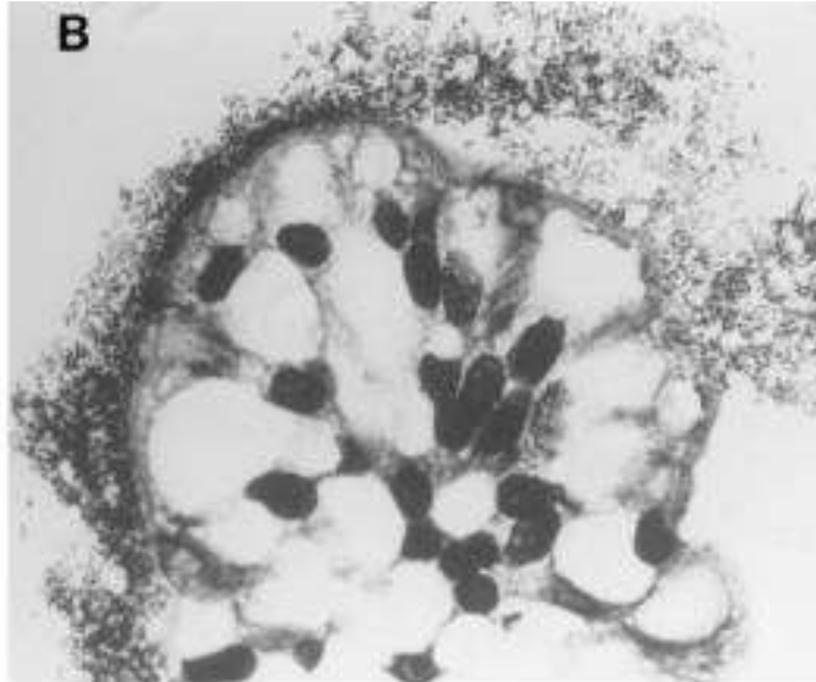
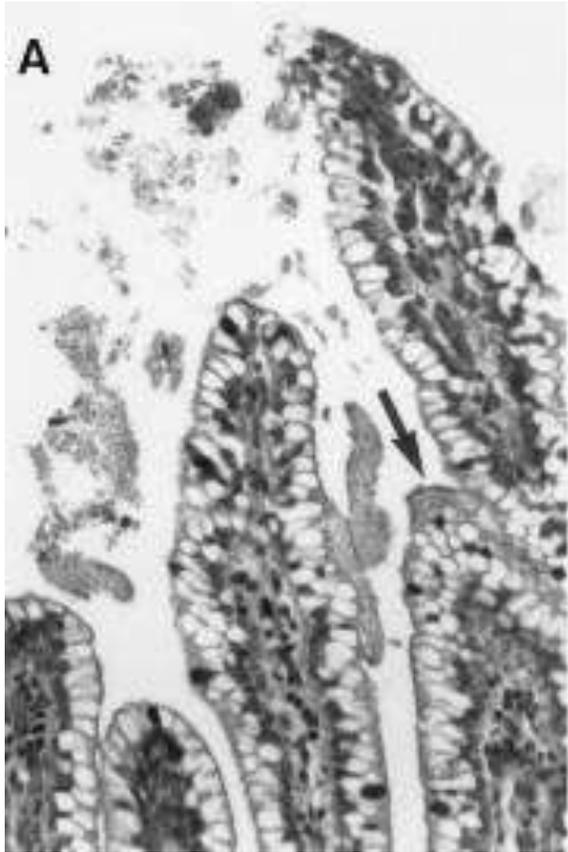
La **risposta infiammatoria** dell'ospite all'infezione da EAEC dipende dal sistema immunitario innato dell'ospite e dal ceppo di EAEC.

La **flagellina (FliC)**, una delle principali proteine di superficie batteriche di EAEC, risulta essere il principale stimolo pro-infiammatorio in grado di legarsi al recettore Toll-like5 (**TLR5**). Il TLR5, attraverso la p38 mitogeno-attivante chinasi (**MAPK**) e il fattore nucleare **NFκB**, dà il segnale per indurre la trascrizione di citochine pro-infiammatorie da parte di cellule epiteliali e monocitiche.

Citochine fecali e di marcatori infiammatori, quali interleuchina **IL-1**, **IL-1β**, **IL-8**, **interferone (INF)γ**, lattoferrina, leucociti fecali e sangue occulto.

L'**IL-8** è la più importante chemochina pro-infiammatoria coinvolta nella patogenesi dell'EAEC: è responsabile del **reclutamento di neutrofili** alla mucosa epiteliale e facilita la secrezione di fluidi intestinali.

# EAEC: Istopatologia



## **Interazione di EAEC con l'epitelio intestinale.**

Ileo di un suino alimentato con il ceppo 042 di EAEC (A)  
e EAEC ceppo 17-2 (B).

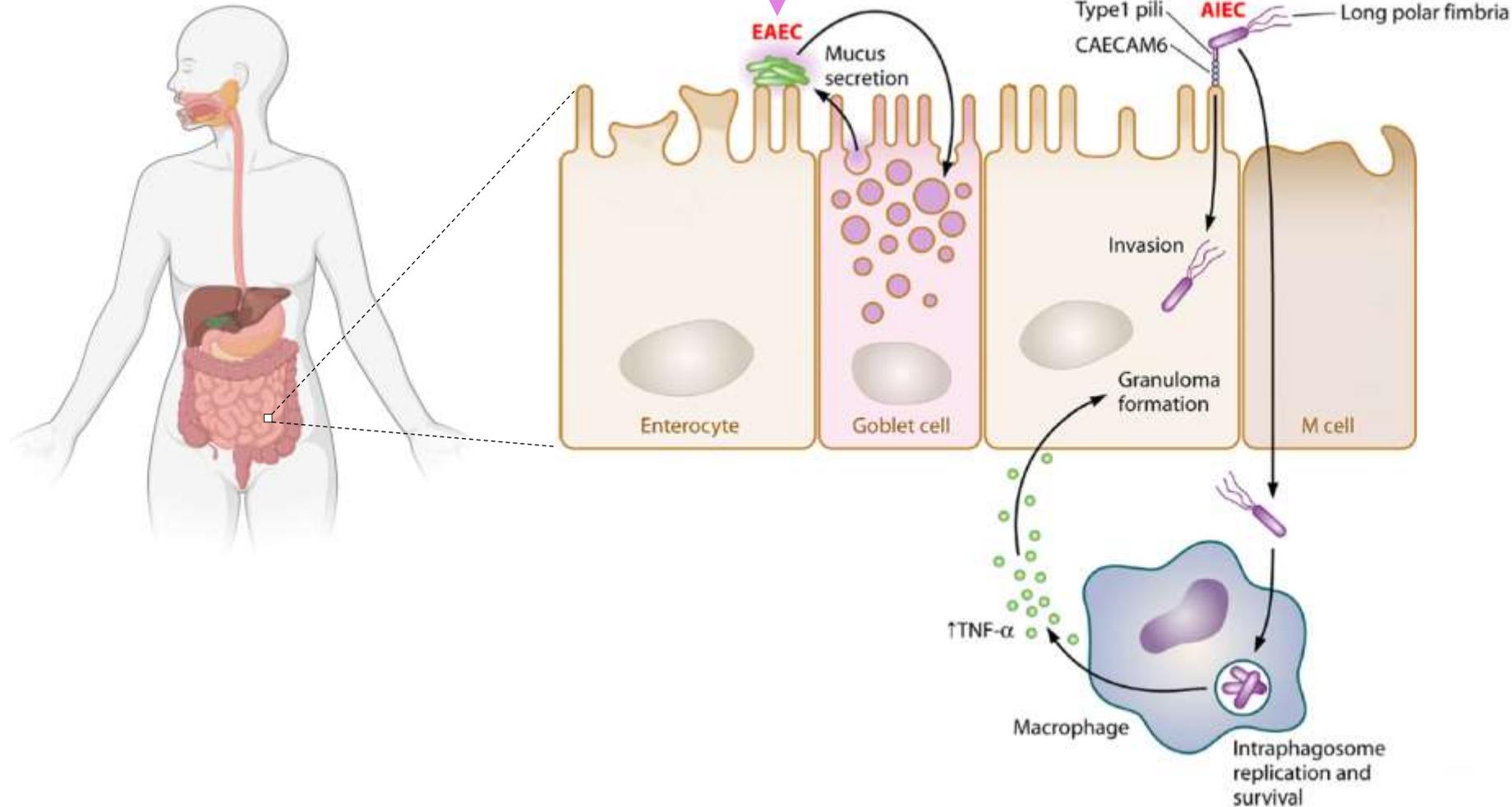
## **Citotossicità di EAEC su cellule T84** infettate con il ceppo EAEC 042.

Evidente l'adesione aggregativa dei batteri alla  
membrana apicale, associata alla perdita dei  
microvilli e all'arrotondamento della membrana  
apicale.

# EAEC e AIEC

EnteroAggregative  
E. coli (EAEC)

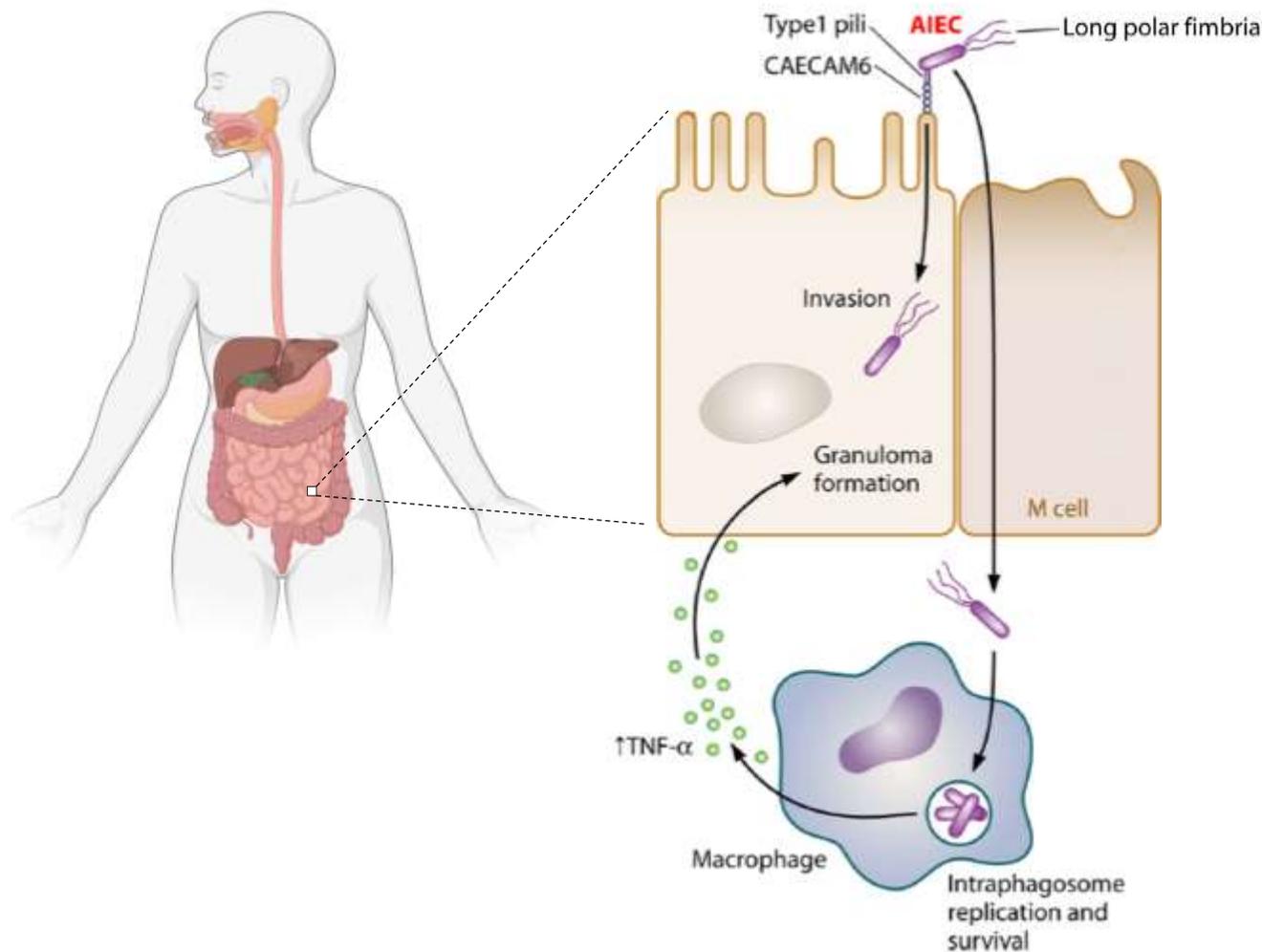
Adherent-Invasive  
E. coli (AIEC)



Discuteremo di **EAEC** e **AIEC** nel contesto:

- dell'identificazione
- dell'epidemiologia
- della patogenesi e dei fattori di virulenza

# *Escherichia coli* aderente invasivo (AIEC)

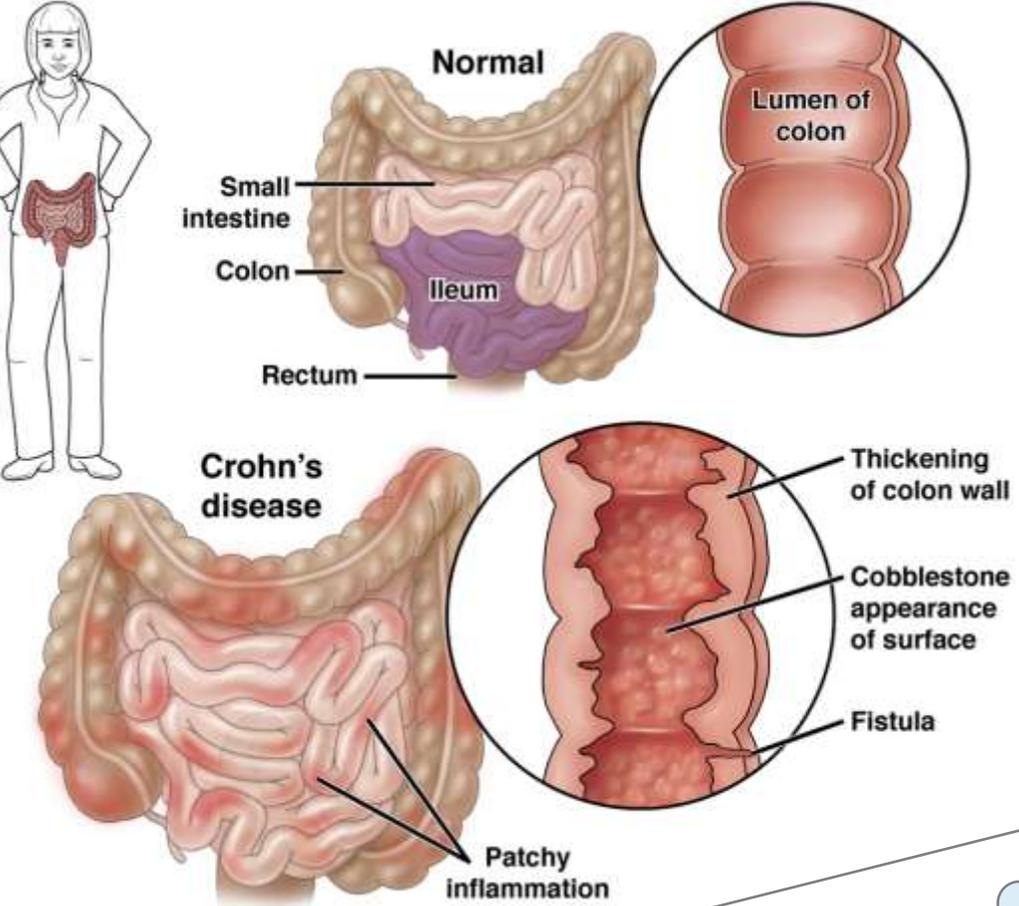


L'*E. coli* invasivo aderente (AIEC) è stato implicato come uno degli agenti causali del morbo di Crohn (CD), una malattia infiammatoria intestinale (IBD) che colpisce principalmente l'intestino tenue.

I dati disponibili suggeriscono una correlazione tra l'insorgenza della CD e la presenza di AIEC, rendendo questo patotipo una minaccia sanitaria rilevante e un bersaglio terapeutico.

# Il morbo di Crohn (CD)

La malattia di Crohn (CD) è stata descritta per la prima volta nel 1932 dal medico Burrill B. Crohn ed è una **malattia infiammatoria della mucosa intestinale (IBD)** che si sviluppa preferenzialmente nel giovane adulto ed evolve in modo recidivante e remittente. Può interessare tutti i segmenti del tratto gastrointestinale con **localizzazione preferenziale nell'ileo terminale e nel colon**. Ad oggi **non esiste** alcun **trattamento curativo** per i pazienti con malattia di Crohn, vengono proposti solo trattamenti sintomatici.



L'eziologia della malattia di Crohn è multifattoriale

## Fattori ambientali

- **Fumo**
- Consumo di una **dieta** a basso contenuto di fibre arricchita di grassi e zuccheri totali

## Composizione anormale del microbiota intestinale

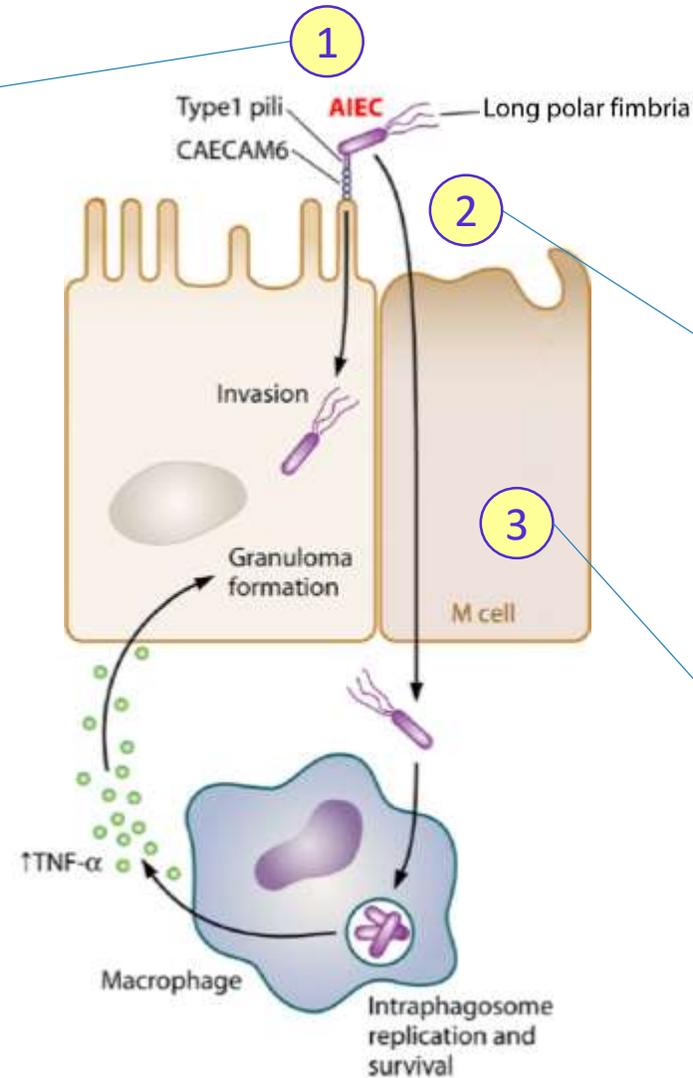
- **Disbiosi** con diminuzione di batteri benefici come quelli del phylum *Firmicutes* e da un aumento dei phyla *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*. Tra gli enterobatteri, membri del phylum dei *Proteobacteria*, particolari ceppi **AIEC** sono stati identificati nella mucosa ileale e del colon infiammato dei pazienti con malattia di Crohn.

## Suscettibilità genetica

- Polimorfismi nel **gene NOD2**, coinvolto nel **riconoscimento intracellulare del muramidipeptide (MDP) batterico**.
- Mutazioni nei **geni coinvolti nel percorso dell'autofagia**, importanti per l'eliminazione dei batteri intracellulari, come ATG16L1 e IRGM.

# Le principali caratteristiche della patogenesi dell'AIEC

Attraversamento del muco intestinale



Interazione con l'epitelio intestinale: adesione alle cellule epiteliali intestinali e invasione

Induzione dell'infiammazione della mucosa

1

## Attraversamento del muco intestinale

Uno **STRATO PROTETTIVO DI MUCO** ricopre la superficie dell'epitelio intestinale ed è composto da glicoproteine che formano gel chiamate **MUCINE**, secrete da cellule caliciformi specializzate → fondamentale nella protezione contro molti agenti patogeni intestinali.

Nei pazienti con **malattia di Crohn**, lo strato di muco è essenzialmente continuo e paragonabile alla mucosa sana, anche se sono state notate un'**espressione** e una **glicosilazione anomala delle mucine**, che rendono lo strato di muco più penetrabile da batteri commensali e patogeni. Le strutture dei carboidrati sulle mucine vengono prese di mira dai batteri patogeni per il loro attaccamento alla mucosa intestinale.

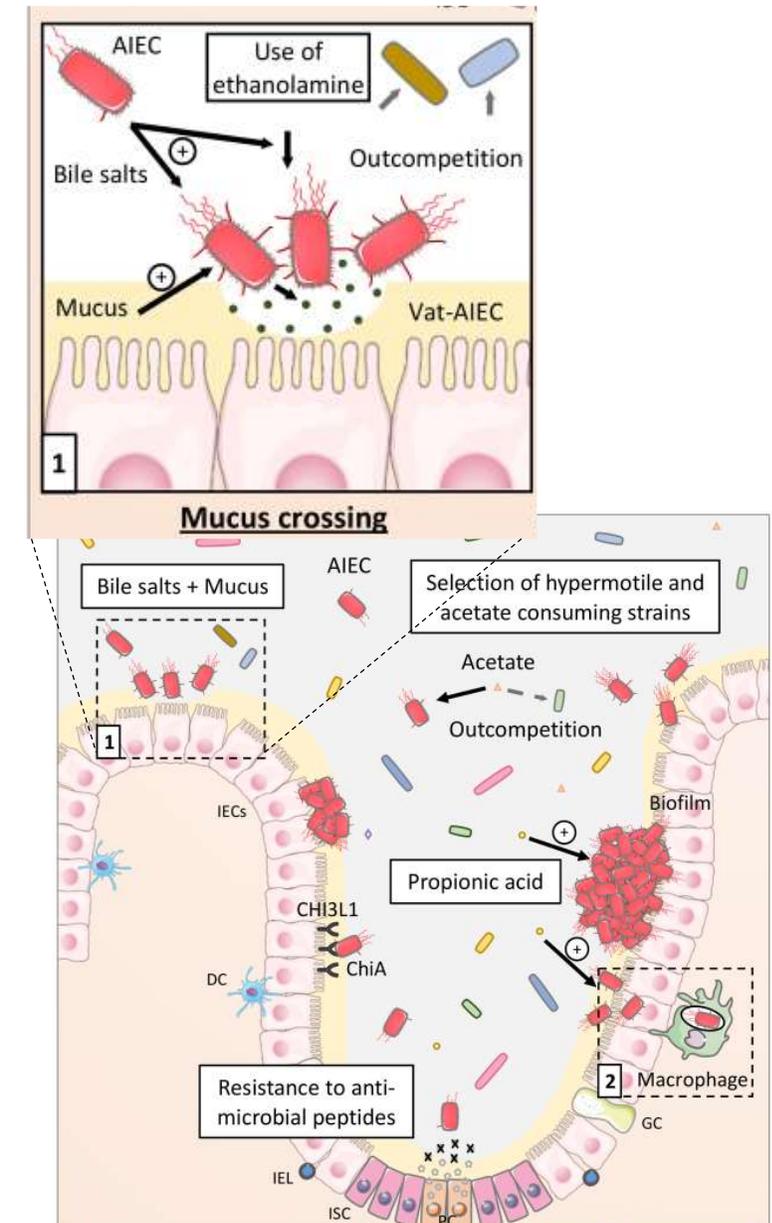
- La **mucinas Vat-AIEC** contribuisce alla virulenza degli AIEC nella prima fase dell'infezione poiché favorisce la penetrazione degli AIEC attraverso lo strato di muco, diminuendo la viscosità del muco, e la loro adesione agli IEC → l'**upregolazione** dell'espressione genica vat-AIEC è dovuta ai **sali biliari** e alla **mucina**.
- Le **cellule di Paneth**, presenti nella cripta dell'intestino tenue, **secernono peptidi antimicrobici** come  $\alpha$ - e  $\beta$ -defensine, catelicidine, e lisozima che diffondono, seguendo un gradiente di concentrazione, all'interno dello strato di muco. I batteri AIEC devono trarre vantaggio dalle carenze nella secrezione di defensine nei pazienti con malattia di Crohn o **sviluppare resistenza ai peptidi antimicrobici**.

2

## Adesione e invasione

3

## Induzione dell'infiammazione



1

## Attraversamento del muco intestinale

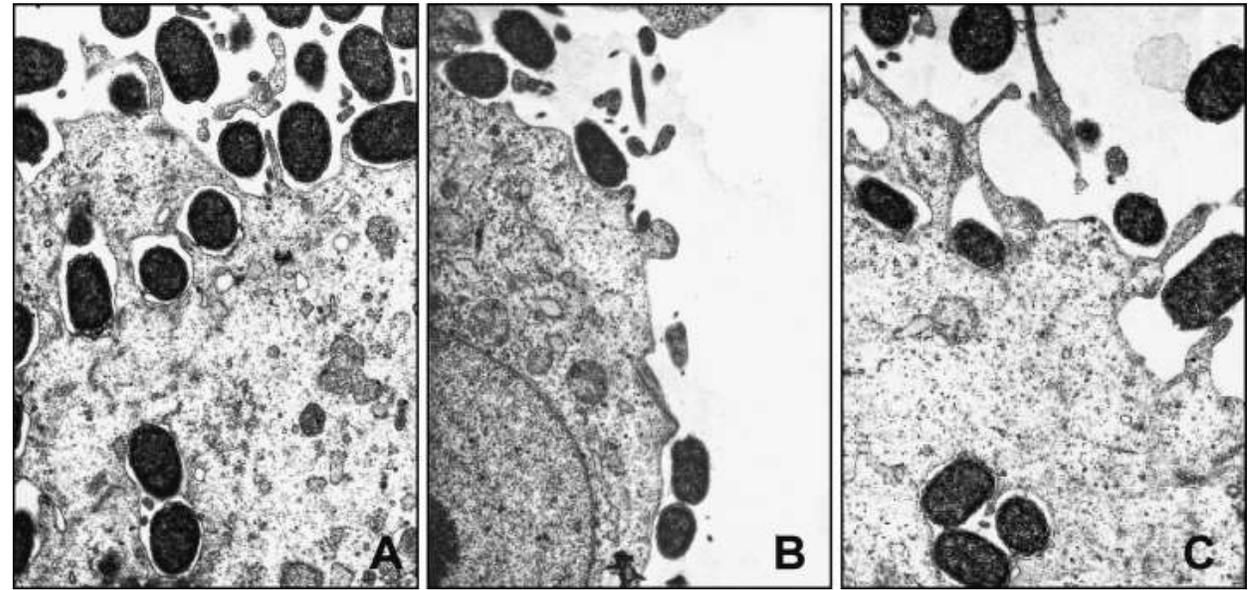
2

## Adesione e invasione

3

## Induzione dell'infiammazione

- I **flagelli** dei batteri AIEC, che sono organelli filamentosi che consentono la mobilità batterica, codificati dal gene *fliC*, svolgono un ruolo centrale nel processo di adesione dei batteri agli IEC direttamente *attraverso* la motilità, e indirettamente, mantenendo l'espressione del pilo di tipo 1.



AIEC LF82

LF82- $\Delta fliC$ LF82- $\Delta fliC/fliC^+$ 

- È stato identificato il **fenotipo ipermotile** selezionato durante l'evoluzione dell'AIEC in condizioni gastrointestinali. Il sequenziamento del genoma ha rivelato che l'ipermotilità dei ceppi selezionati era dovuta all'integrazione di una sequenza di inserzione mobile a monte del regolatore flagellare principale, *flhDC*, che ha potenziato l'invasione dell'AIEC e promosso la creazione di una nicchia mucosale.
- La **flagellina** viene espressa anche dai batteri commensali senza indurre un'infiammazione incontrollata, suggerendo una **regolazione specifica** dell'espressione della flagellina nei batteri AIEC durante il processo di colonizzazione → il gene *fliC* è sovraregolato nei batteri AIEC ma non nei ceppi commensali in risposta ai **sali biliari** e alla **mucina**.

1

# Attraversamento del muco intestinale

2

# Adesione e invasione

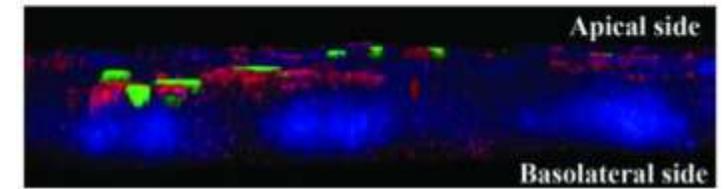
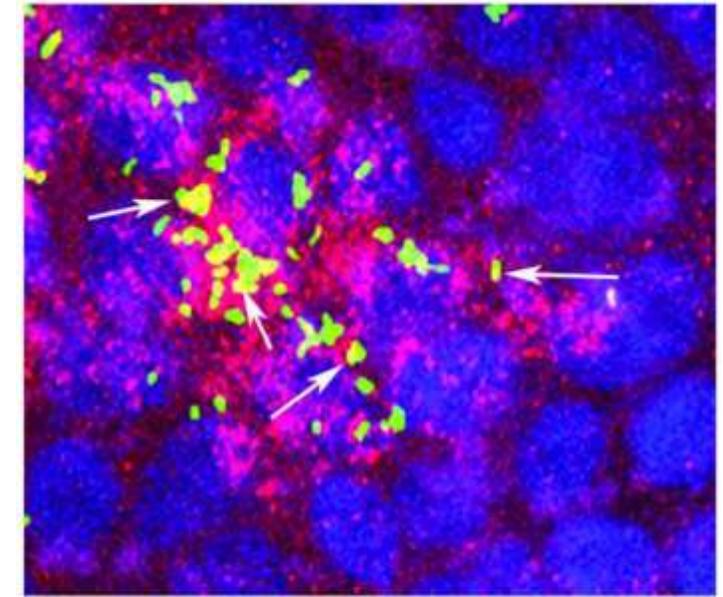
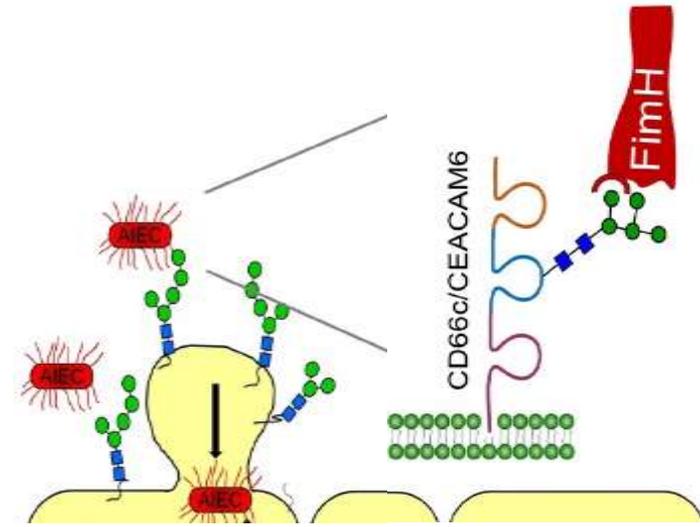
3

# Induzione dell'infiammazione

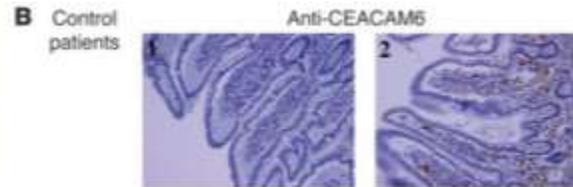
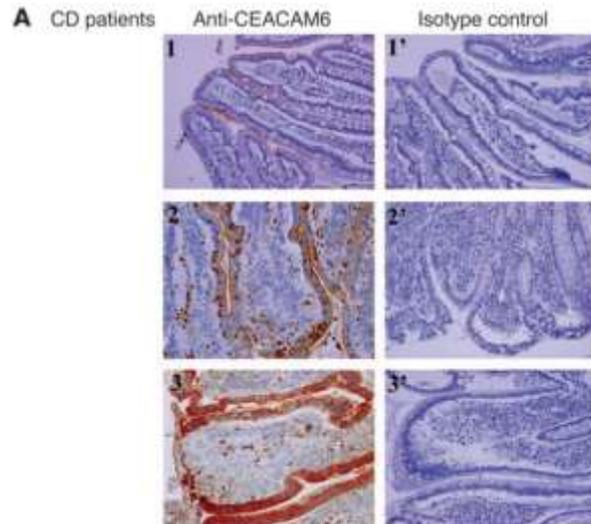
## Interazione CEACAM6-FimH

**FimH** è un'adesina situata sulla punta dei pili di tipo 1 altamente espressa dai batteri AIEC e coregolata con l'espressione dei flagelli.

**CEACAM6** (molecola di adesione cellulare correlata all'antigene carcinoembrionale 6) è una proteina complessa, altamente glicosilata, che appartiene alla grande superfamiglia delle immunoglobuline (Ig) e consiste di un dominio simile a IgV e due domini simili a IgC2.



Caco-2 cells infected with GFP-expressing LF82 bacteria



È interessante notare che, in **condizioni fisiologiche**, CEACAM6 **non è espressa** dalle cellule epiteliali ileali, ma è stata trovata **espressa a un livello importante** nella mucosa ileale dei pazienti con **malattia di Crohn**.

1

Attraversamento  
del muco intestinale

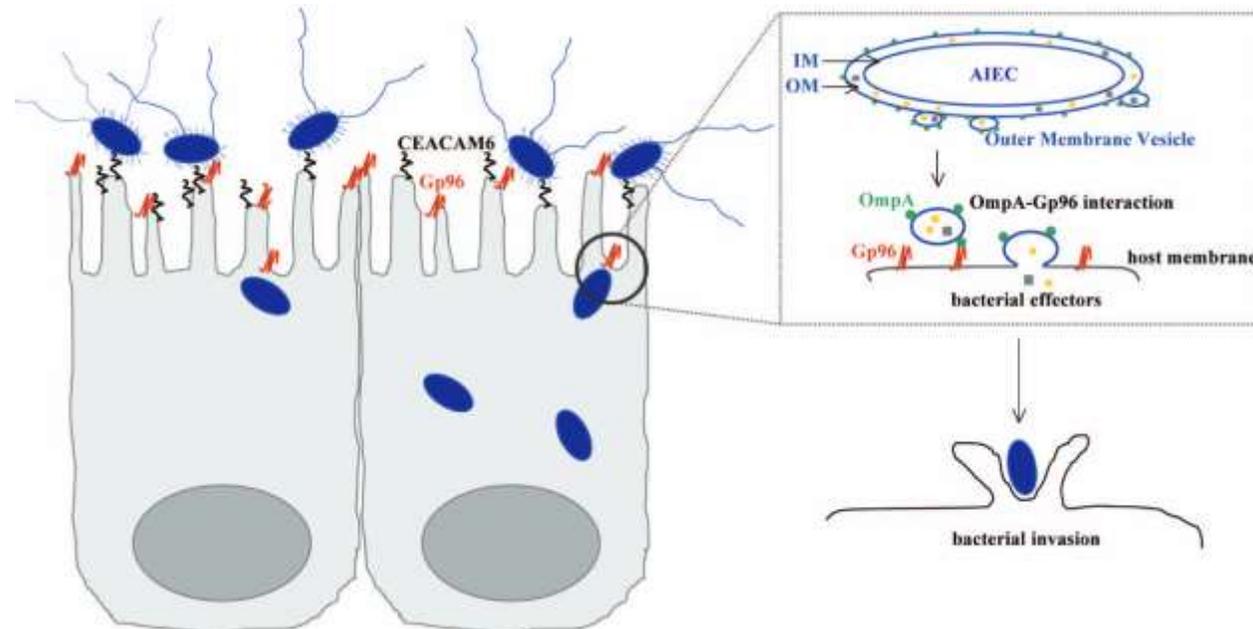
2

Adesione e invasione

3

Induzione  
dell'infiammazione

Fattori di virulenza che  
mediano l'invasione



- **Interazione OmpA-Gp96** → Le **vescicole della membrana esterna (OMV)**, ricche di proteina **OmpA** sulla superficie, vengono rilasciate dagli AIEC e mediano la capacità dei batteri di invadere le IEC attraverso l'interazione con le **Gp96**, anormalmente espresse nei pazienti con CD. Le OMV sono in grado di fondersi con la membrana cellulare dell'ospite, promuovendo l'invasione batterica attraverso il rilascio all'interno delle cellule dell'ospite di **effettori batterici**, ancora non identificati.

- **Invasina IbeA** → un'**invasina** della membrana esterna che **interagisce con** i recettori dell'ospite come la **vimentina**. Si è scoperto che IbeA è fondamentale per la capacità dell'AIEC di invadere le cellule ospiti e colonizzare l'intestino murino. È interessante notare che questi risultati sono stati confermati da una recente analisi del trascrittoma *in vivo* di AIEC, che ha rivelato che *ibeA* è sovraregolato durante la fase iniziale dell'infezione dell'ospite.

1

## Attraversamento del muco intestinale

2

## Adesione e invasione

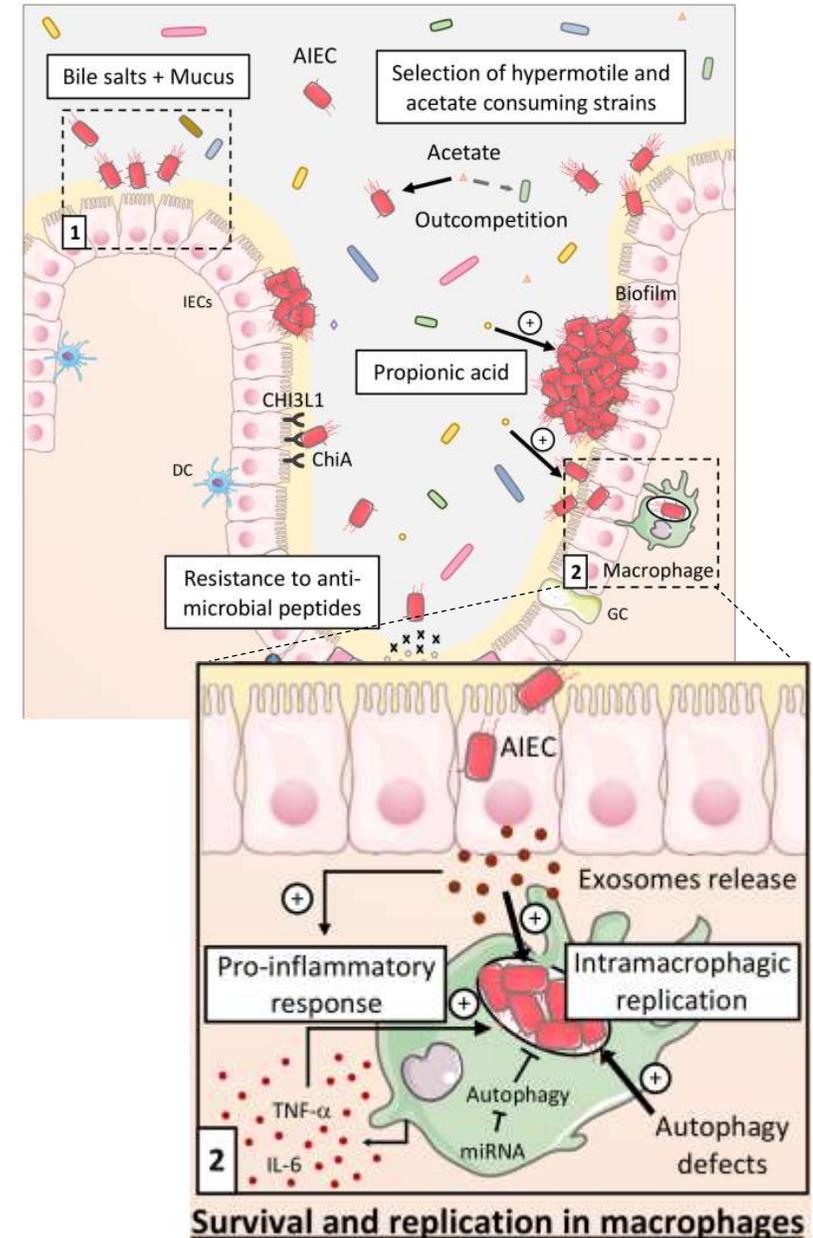
3

## Induzione dell'infiammazione

Oltre all'invasione delle cellule epiteliali intestinali, l'AIEC è anche in grado di **traslocare attraverso l'epitelio** per accedere al tessuto linfoide sottostante, la lamina propria. L'AIEC esprime **lunghe fimbrie polari** che interagiscono con le **cellule M**, un monostrato di cellule epiteliali specializzate sulla superficie delle placche di Peyer, consentendo all'AIEC di accedere alla **LAMINA PROPRIA**.

Ottenuto l'accesso alla lamina propria, avviene l'incontro con i **MACROFAGI** che sono cellule chiave del sistema immunitario innato:

- Possono riconoscere MAMP (LPS, flagelli e peptidoglicano) attraverso recettori di riconoscimento di pattern (PRR) come i TLR. L'interazione tra TLR e MAMP attiva le vie NF- $\kappa$ B, MAPK e IRF che portano all'espressione di geni che codificano per **citochine pro-infiammatorie** come **TNF- $\alpha$**  o **IL-6**.
- Limitano anche la diffusione batterica attraverso la **fagocitosi** e la presentazione di antigeni per attivare le cellule immunitarie adattative  $\rightarrow$  I batteri **AIEC** sono in grado di **sopravvivere e replicarsi** all'interno dei macrofagi, **nei fagolisosomi**, senza indurne la morte cellulare. La replicazione continua dell'AIEC nei macrofagi infetti determina la secrezione di **alti livelli di TNF- $\alpha$** , causando infiammazione intestinale e formazione di granulomi nei pazienti con malattia di Crohn.



1

Attraversamento  
del muco intestinale

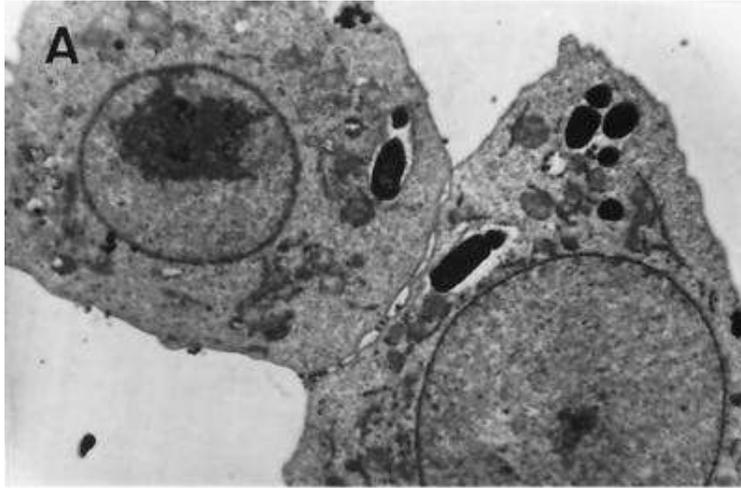
2

Adesione e invasione

3

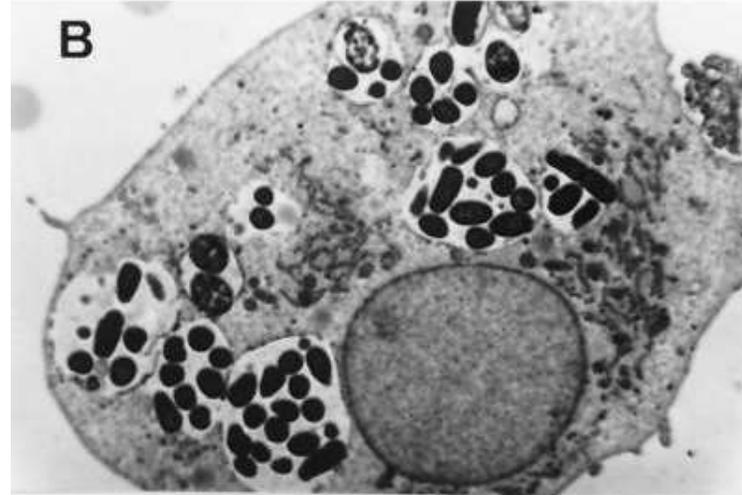
Induzione  
dell'infiammazione

TEM di macrofagi J774-A1 infettati con un MOI di 10 batteri AIEC LF82 per cellula



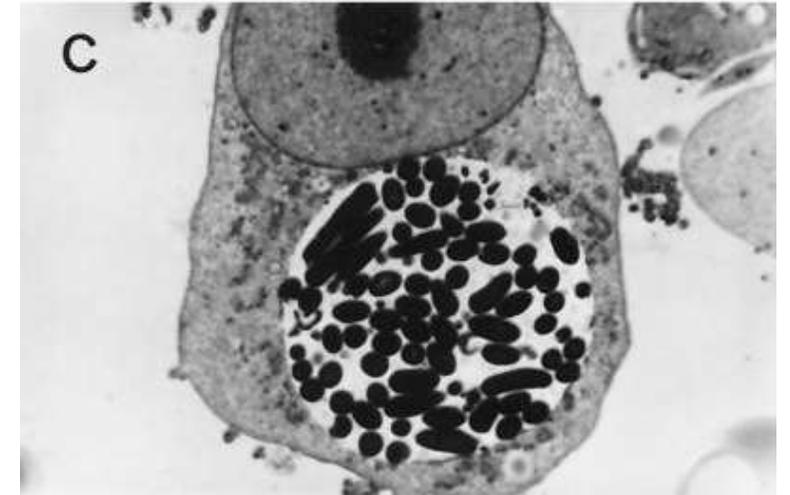
**1 ora dall'infezione**

I batteri AIEC LF82  
si osservano in  
piccoli vacuoli



**8 ore dall'infezione**

La dimensione dei  
vacuoli aumenta



**24 ore dall'infezione**

Fusione dei fagosomi  
che porta alla  
**formazione di un  
grande vacuolo**



La **formazione di fagosomi spaziosi** può promuovere la sopravvivenza di LF82 mediante **diluizione di composti lisosomiali tossici** o **attenuazione di fattori antimicrobici**, inclusa la **diminuzione dell'acidificazione** dei fagosomi.

# Strategie terapeutiche per AIEC

La CD mediata dall'AIEC potrebbe essere trattata utilizzando strategie coinvolte nella prevenzione della replicazione, dell'adesione e dell'invasione dell'AIEC.

- Lavaggi intestinali o farmaci antibatterici, come gli **antibiotici** (effetti drastici sulla composizione microbica e sullo stato immunitario dell'intestino).
- Blocco dell'interazione tra pili di tipo 1 e CAECAM6 → **antagonisti del mannosio** naturali o artificiali
- Inibizione della funzione dei pili di tipo 1 → prevenendo l'assemblaggio del pilo utilizzando i **pilicidi** attualmente disponibili (Meprin).
- **Inibizione competitiva** → somministrazione di **probiotici** a base di lievito, poiché esprimono pareti cellulari ricche di residui di mannosio liberi, che fungerebbero da ligandi esca per i pili di tipo 1.
- **Strategie terapeutiche** mirate a **Gp96** o alle **OmpA**, al fine di bloccare l'invasione dell'AIEC delle cellule epiteliali intestinali.

