

Cellular Microbiology Emerging

P. Cossart, P. Boquet, S. Normark, R. Rappuoli

Nel 1996 emerge una nuova disciplina tra la biologia cellulare e la microbiologia: è la **MICROBIOLOGIA CELLULARE**



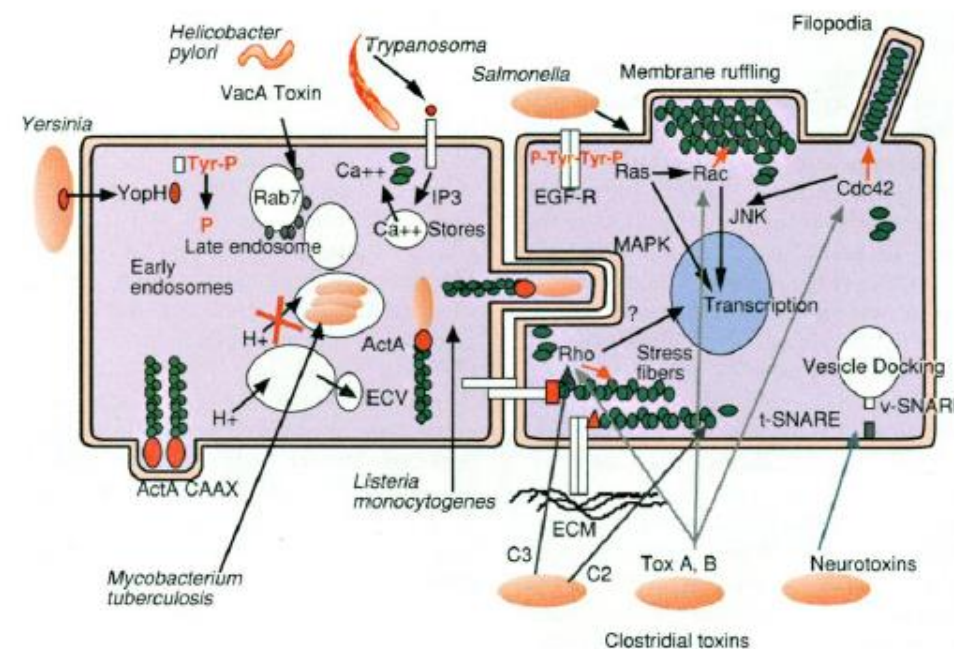
È una disciplina che studia i meccanismi di infezione utilizzati da batteri patogeni per rispondere ad importanti domande di microbiologia e biologia cellulare

A new discipline, cellular microbiology, is emerging at the interface between cell biology and microbiology. Traditional cell biological approaches are already widely used to unravel the tactics microbes utilize to infect their hosts, but the use of pathogens to tackle questions in cell biology is just now yielding promising approaches and elegant results. Two meetings, in 1989 and 1991 (1), laid the groundwork for the field, and a third meeting in 1995 highlighted recent progress (2).

A major focus of this new field is the actin network, which together with intermediate filaments and microtubules constitute the cytoskeleton. The rapid assembly and disassembly of actin microfilaments is essential for phagocytosis, motility, cell division, and adhesion to a substratum or to another cell. Yet, the signaling pathways that control actin dynamics are poorly understood. Bacteria that can be genetically manipulated and parasites can provide tools to dissect these control pathways. When cer-

tain bacteria, such as *Salmonella* and *Shigella*, infect cells, they mimic the action of epidermal growth factor (EGF), inducing membrane ruffling and active actin polymerization (3–5) (see figure). The ruffling leads to internalization of the bacteria.

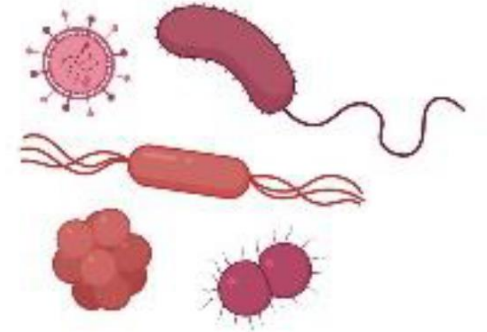
The internalization of other pathogens occurs without membrane ruffling or even actin polymerization. The parasite *Trypanosoma cruzi* enters cells by triggering a combination of events—a transient increase in cytosolic free calcium, rapid rearrangement of the cortical actin cytoskeleton, and lysosome recruitment and clustering at the invasion site (6, 7). Lysosomes contribute membrane for the formation of the parasitophorous vacuole. Disruption of cortical actin by the increase in local calcium allows lysosomes to migrate and fuse, a phenomenon also regulated by calcium. Phospholipase C



P. Cossart is with the Unité des Interactions Bactéries-Cellules, Institut Pasteur, Paris, France. E-mail: pcossart@pasteur.fr. P. Boquet is with INSERM, U452, Faculté de Médecine, 06107 Nice, France. S. Normark is with Karolinska Institute, Microbiology and Tumor Biology Center, S-14181, Stockholm, Sweden. R.



Interazione **OSPITE - MICRORGANISMO**



benefica

dannosa

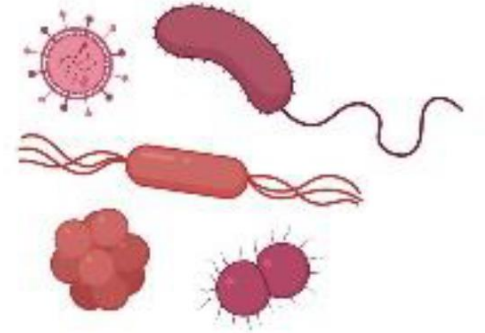
L'esito dipende da:

- **Patogenicità del microrganismo:**
capacità di un microrganismo di infliggere un danno all'ospite e dare malattia
- **Resistenza o suscettibilità dell'ospite al**
patogeno stesso.

Virulenza è una misura
quantitativa della
patogenicità



Interazione **OSPITE - MICRORGANISMO**



benefica

INFEZIONE
ovvero quando un
microrganismo si
stabilisce e cresce in
un ospite

dannosa

Colonizzazione da parte di
microrganismi non patogeni o
commensali (**MICROBIOTA**) di
nicchie ecologiche all'interno
dell'ospite in condizioni normali

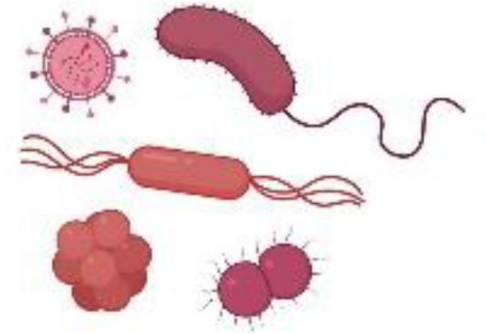
Interazione con
microrganismi
invasori può
danneggiare l'ospite

Interazione che **non** causa **MALATTIA**

Interazione che determina
l'insorgenza della **MALATTIA**



Interazione **OSPITE - MICRORGANISMO**



benefica



Colonizzazione da parte di microrganismi non patogeni o commensali (**MICROBIOTA**) di nicchie ecologiche all'interno dell'ospite in condizioni normali



Interazione che **non** causa **MALATTIA**

FLORA BATTERICA ENDOGENA o MICROFLORA

Insieme di popolazioni microbiche che stabiliscono una relazione simbiotica con i tessuti dell'organismo umano senza arrecare danni.

Interazione OSPITE – MICRORGANISMO BENEFICA

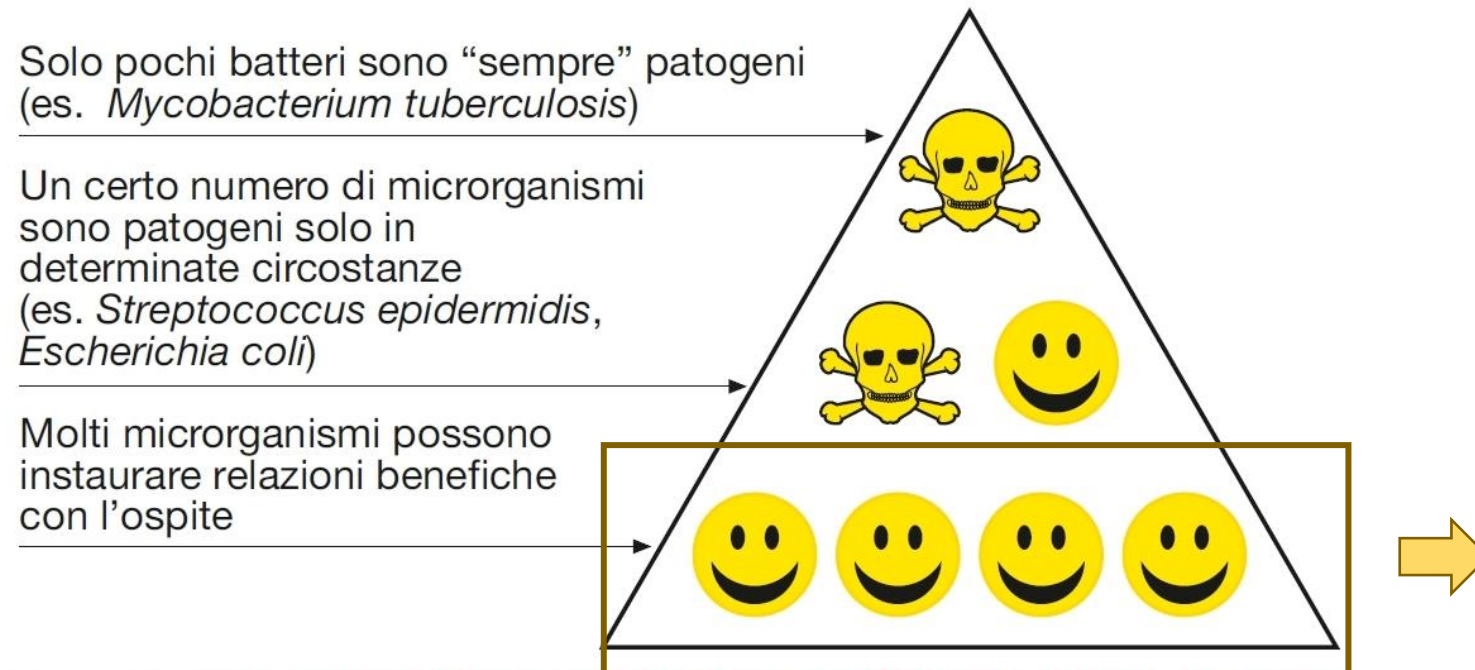
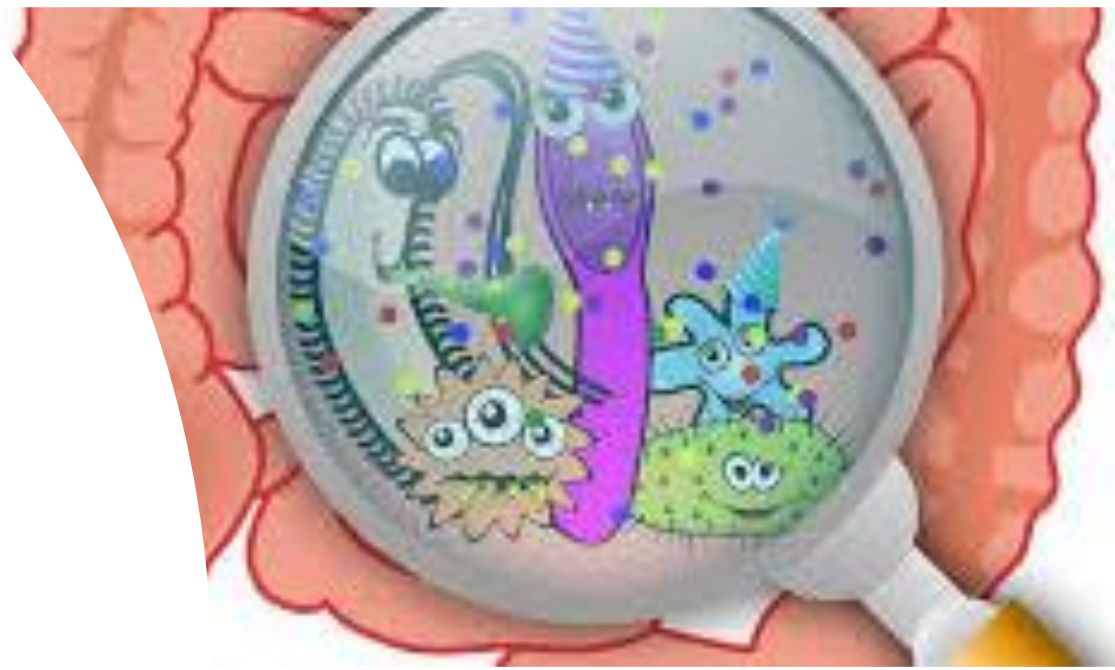


Figura 18.1 **PIRAMIDE DELLE INTERAZIONI MICRORGANISMO-OSPITE.**

Per **mutualismo** si intende
una convivenza pacifica tra
organismi eucarioti e
procarioti con reciproco
vantaggio.

Il microbiota umano



INTESTINO CRASSO UMANO

Bacteroidetes

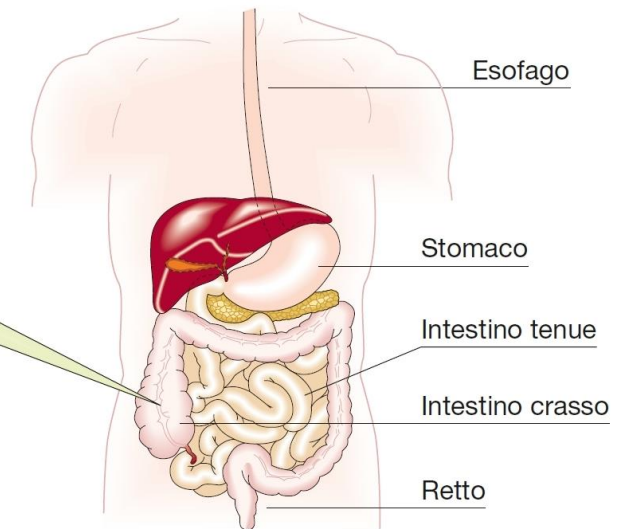
- *Bacteroides thetaiotaomicron*
- *Bacteroides ovatus*
- *Bacteroides cellulosoliticus*
- *Bacteroides* sp. nov.

Firmicutes

- *Roseburia intestinalis*
- *Roseburia inulinivorans*
- *Ruminococcus bromii*
- *Ruminococcus* sp. nov.
- *Eubacterium rectale*

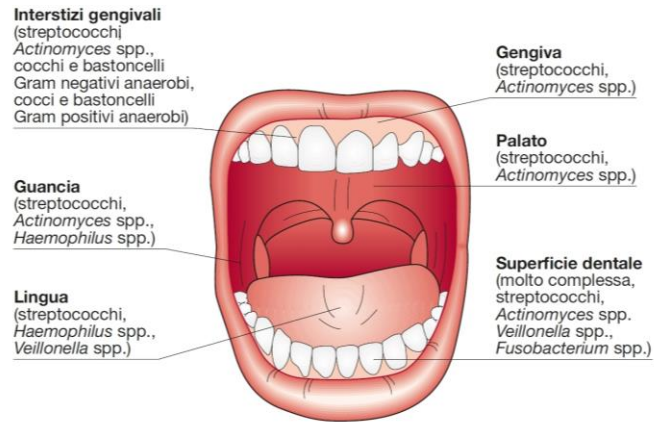
Actinobacteria

- *Bifidobacterium adolescentis*



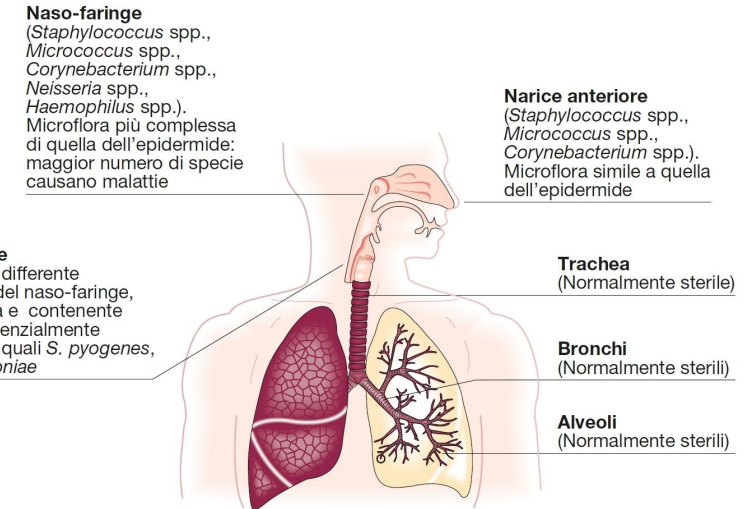
Cosa si intende per microbiota umano

Microbiota del cavo orale



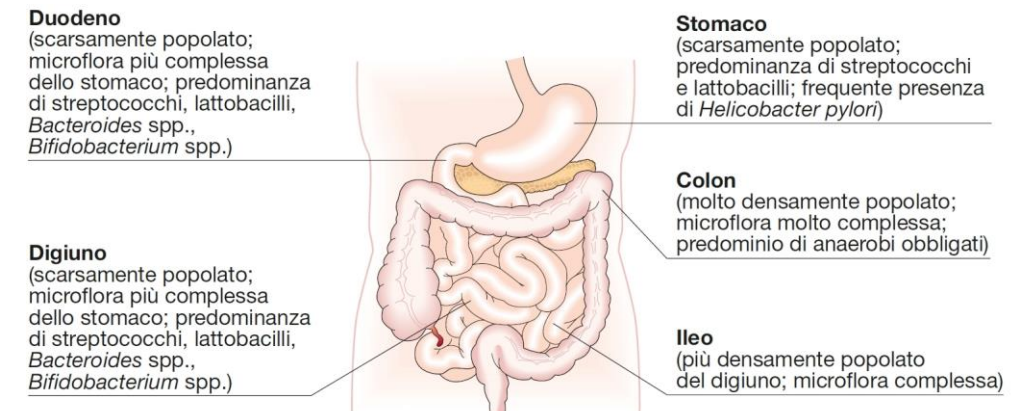
Microbiota della pelle

Microbiota del tratto respiratorio



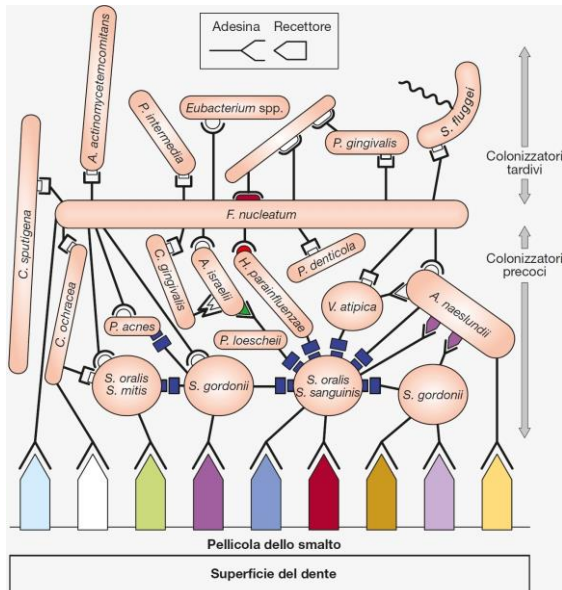
Insieme delle popolazioni
microbiche che stabiliscono
una relazione simbiotica
con l'organismo umano

Microbiota del tratto gastrointestinale



Microbiota delle vie urogenitali

Placca dentale



Microbiota della pelle

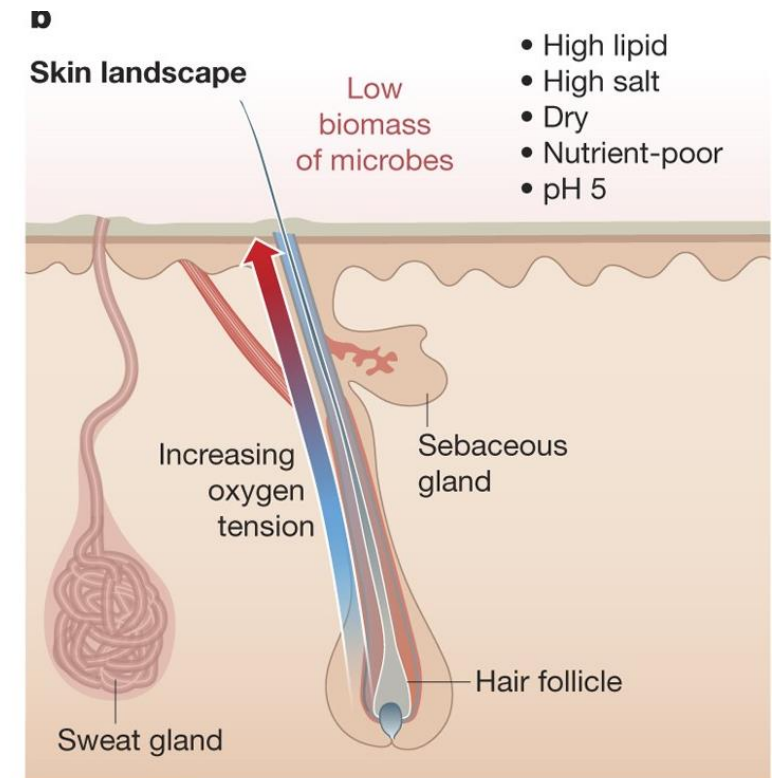
La pelle è un ambiente contraddistinto da:

- pH acido
- Temperatura intorno ai 35°C
- Grande disponibilità di ossigeno
- Scarsità di acqua

Non rappresenta un ambiente favorevole per la colonizzazione da parte di microrganismi esogeni

Consiste di popolazioni di microrganismi transienti, incapaci di moltiplicarsi, o residenti, in grado di sopravvivere e moltiplicarsi:

- Microrganismi aerobi colonizzano gli strati cutanei esterni es. *Staphylococcus epidermidis*
- Microrganismi anaerobi risiedono in strati cutanei più profondi, nei follicoli piliferi e nelle ghiandole sebacee e sudoripare es. *Propionibacterium acnes*



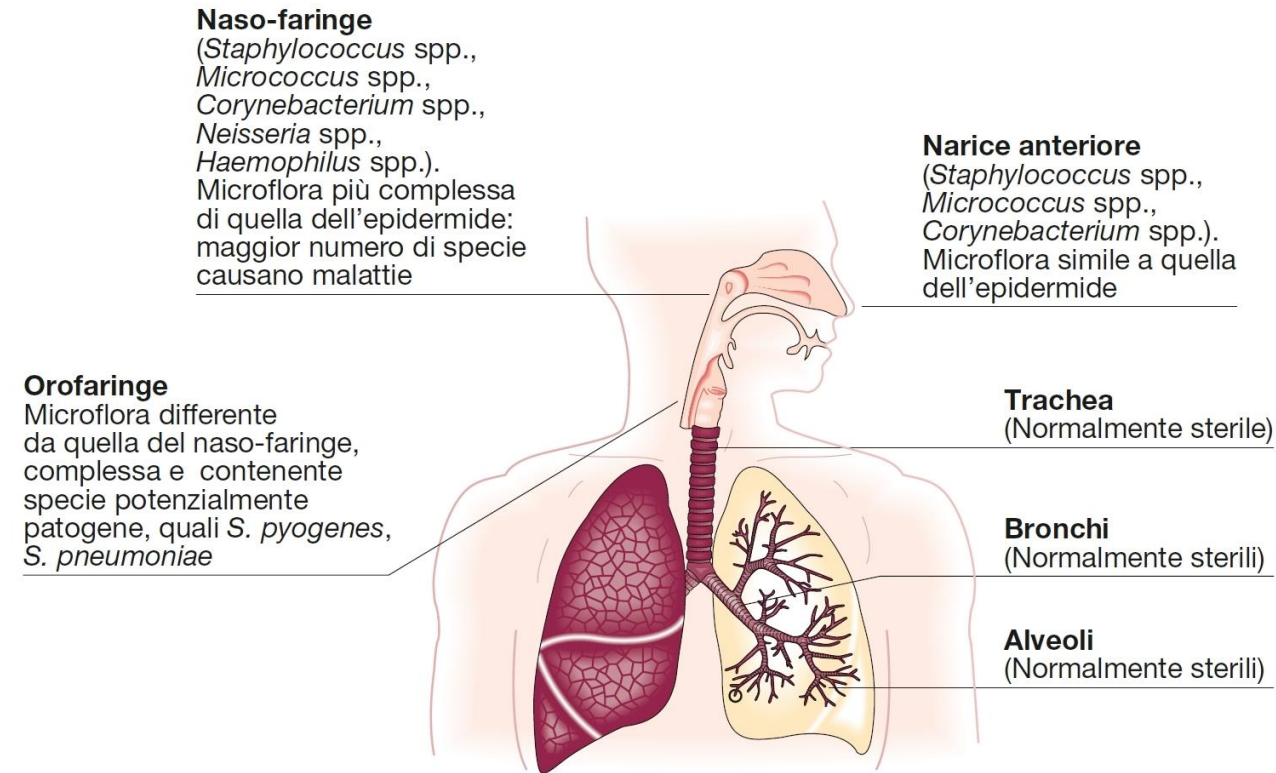
Microbiota del tratto respiratorio

Vie respiratorie superiori (nasofaringe, cavità orale e gola):

I microrganismi vivono principalmente nelle zone inumidite dalle secrezioni delle mucose. Sono stafilococchi, streptococchi, cocchi Gram-negativi. Alcuni microrganismi, come *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae* sono potenzialmente dannosi e gli individui sono portatori sani di patogeni.

Vie respiratorie inferiori (trachea, bronchi e polmoni):

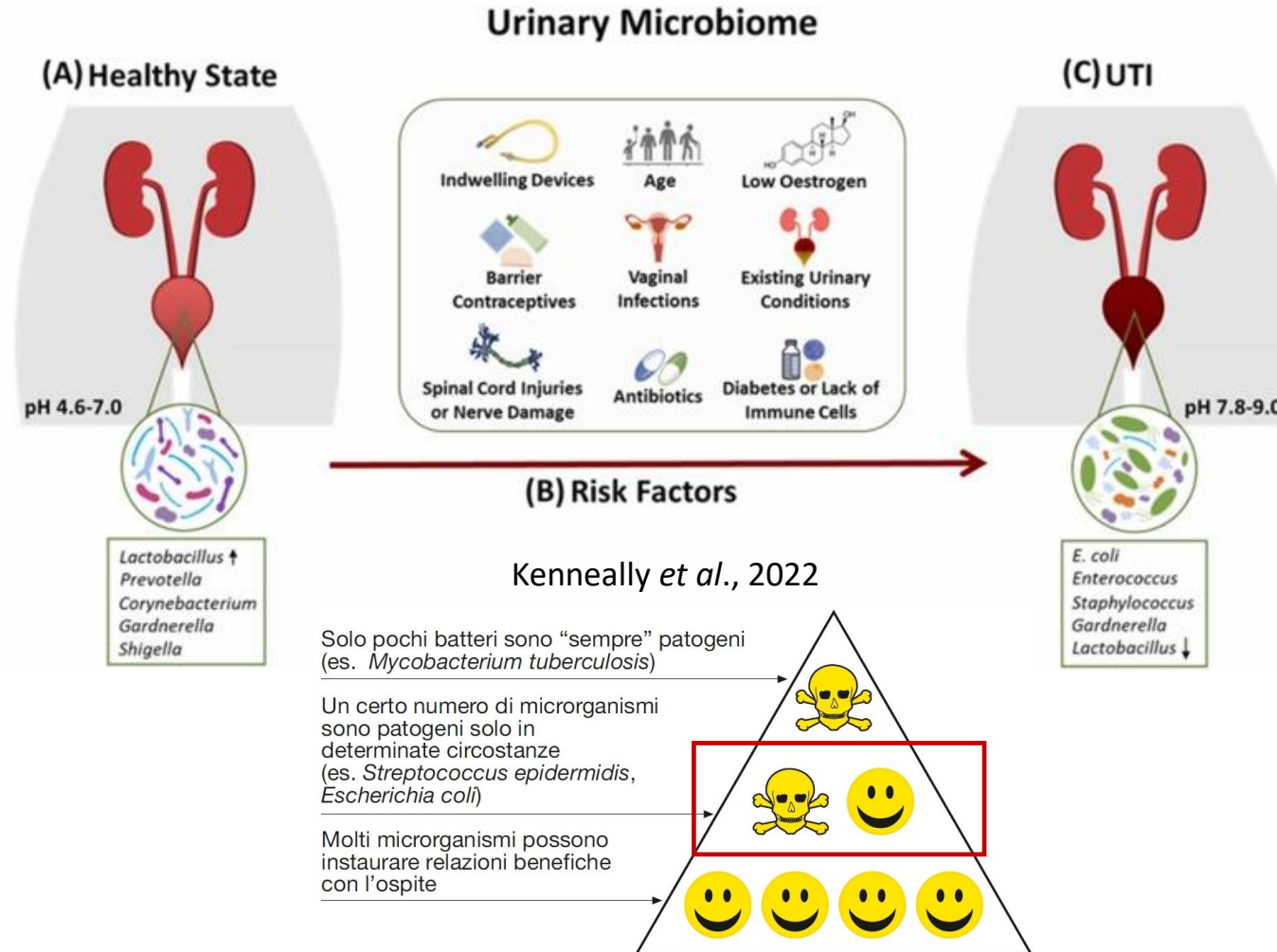
Sono essenzialmente sterili. I microrganismi vengono trattenuti sulle pareti dei condotti e poi spinti verso le vie superiori dall'azione delle ciglia che rivestono l'epitelio.



Microbiota delle vie urogenitali

Condizione di salute

Le vie distali del tratto urogenitale rappresentano un ambiente difficile da colonizzare in quanto costantemente sottoposto al flusso di urina. Sono presenti soprattutto streptococchi, stafilococchi, lattobacilli, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis*.



Infezione del tratto urinario (UTI)

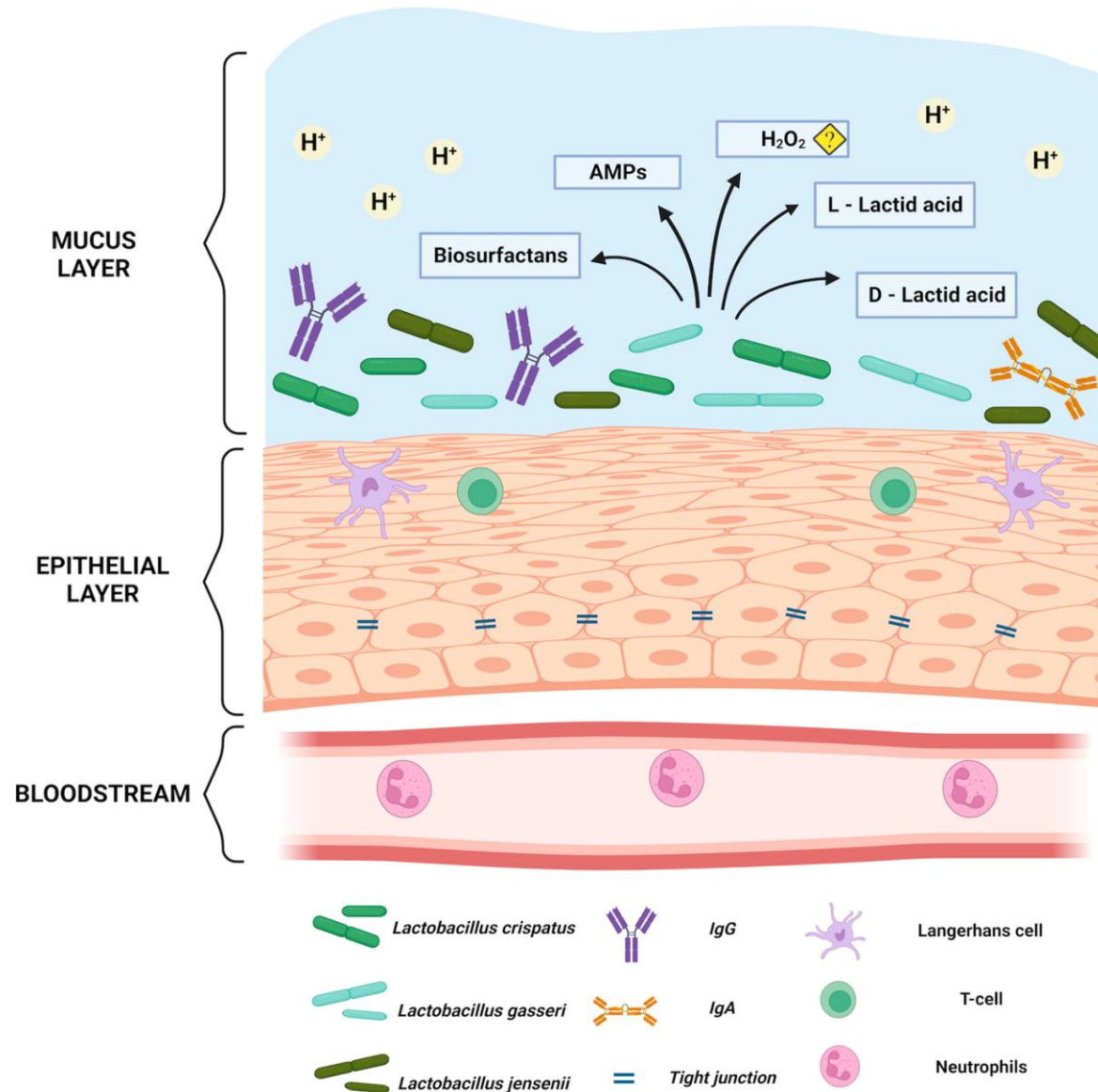
Questi microrganismi possono occasionalmente diventare patogeni se si verificano modificazioni all'interno dell'organismo ospite, es. variazioni di pH, che permettono a questi microrganismi di proliferare attivamente e diventare patogeni.

Figura 18.1 PIRAMIDE DELLE INTERAZIONI MICRORGANISMO-OSPITE.

Microbiota della mucosa vaginale

Lactobacilli spp. rappresentano il 90% dei microrganismi presenti in questo ambiente.

- Producono H_2O_2
- Fermentano il glicogeno producendo acido lattico (pH acido)
- Producono batteriocine



Riduzione o totale assenza di *Lactobacilli* è associata a un rischio maggiore di diverse infezioni urogenitali, tra cui vaginosi batterica, infezione da HIV, infezione da *Neisseria gonorrhoeae* e colonizzazione vaginale da *Escherichia coli*, il principale agente delle infezioni urinarie nelle donne.

Microbiota del tratto gastrointestinale

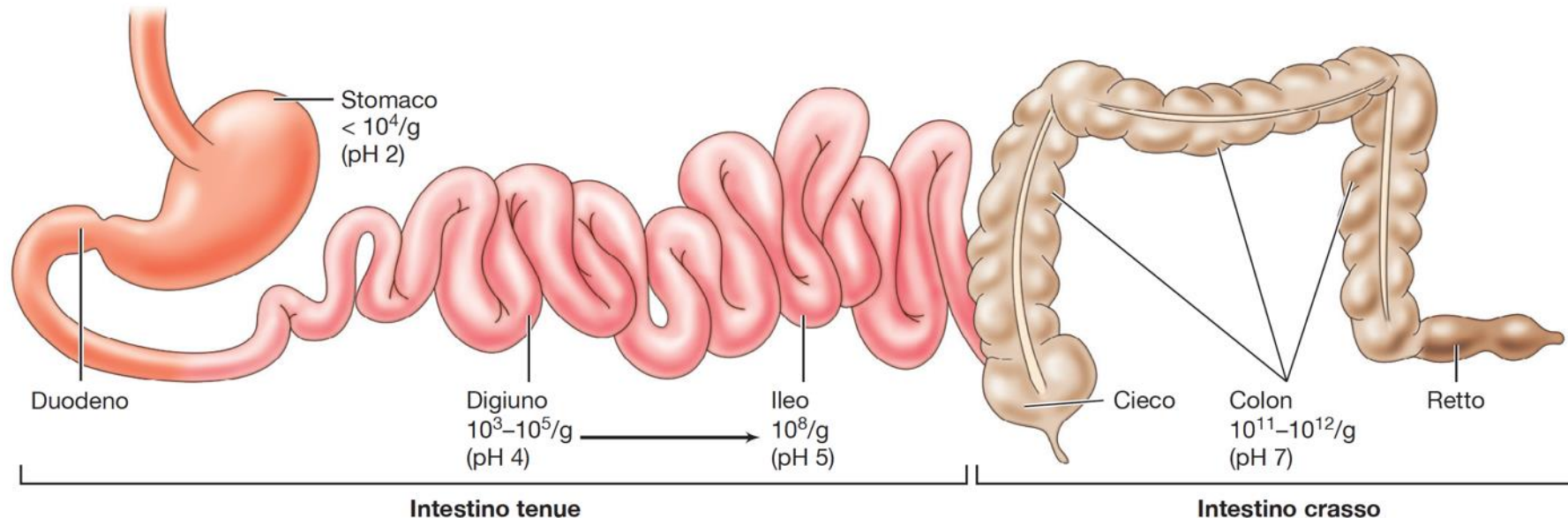
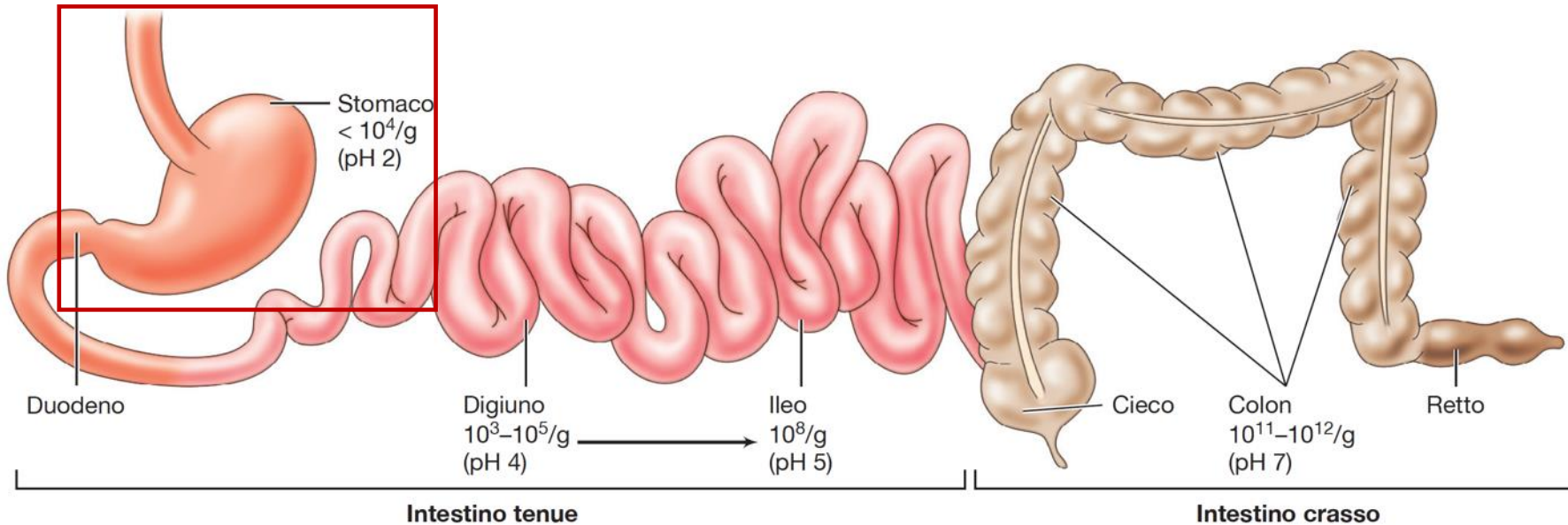


Figura 22.32 Numero di batteri presenti nel tratto gastrointestinale dell'uomo (animale monogastrico). L'intestino tenue è composto da duodeno, digiuno e ileo. Per ogni sezione è riportata una stima del numero di batteri per grammo di contenuto intestinale in esseri umani sani.

È la sede principale della simbiosi che l'organismo umano stabilisce con diverse specie di microrganismi

- È il sistema anatomico con la superficie più estesa (200 m²)
- Numero di microrganismi presenti è $\approx 10^{14}$ ufc
- Condizioni ambientali anaerobiche
- Ambiente ricco in nutrienti
- Presenta ambienti con valori estremi di pH
- Produce molte molecole antibatteriche, es. sali biliari

Stomaco

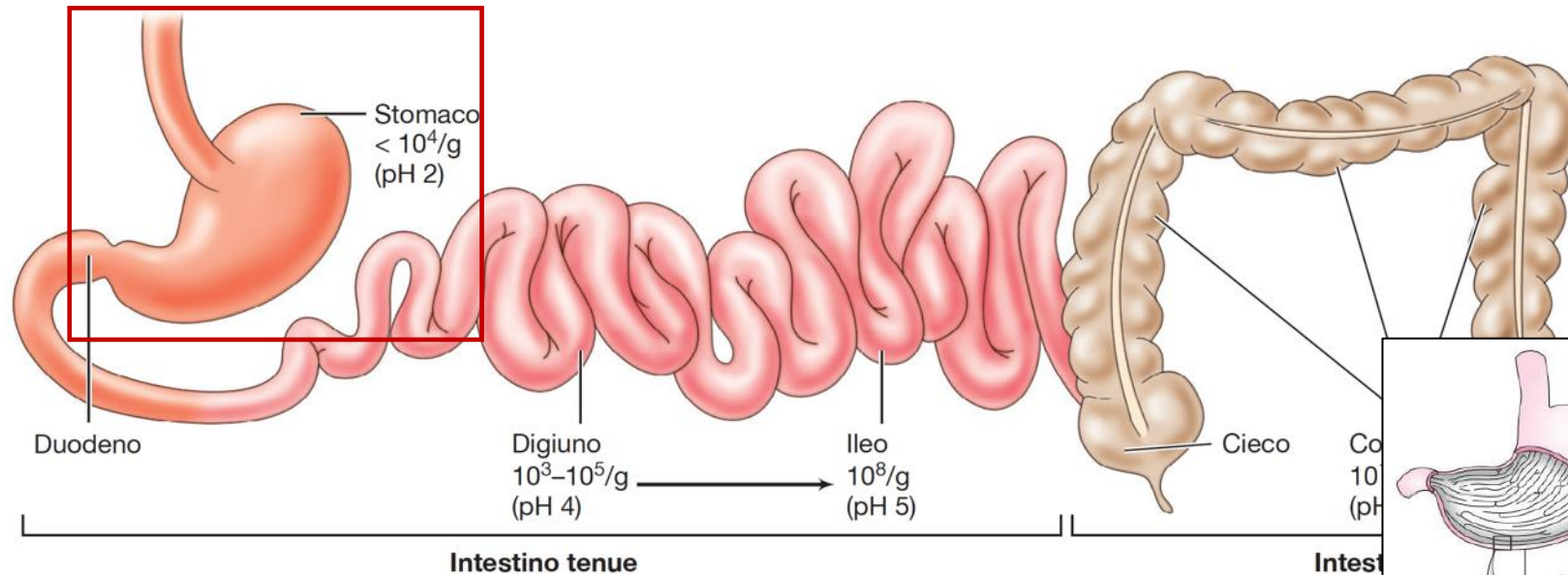


Numero di batteri presenti nello stomaco è $\approx 10^3/ml$ e tra questi troviamo:

- Streptococcus
- Lactobacillus
- *Helicobacter pylori* (presente nell'80% della popolazione)

- ❖ Ambiente acido ($pH \approx 2$)
- ❖ Ambiente protetto da enzimi proteolitici che funzionano da barriera contro l'insediamento di popolazioni microbiche

Stomaco

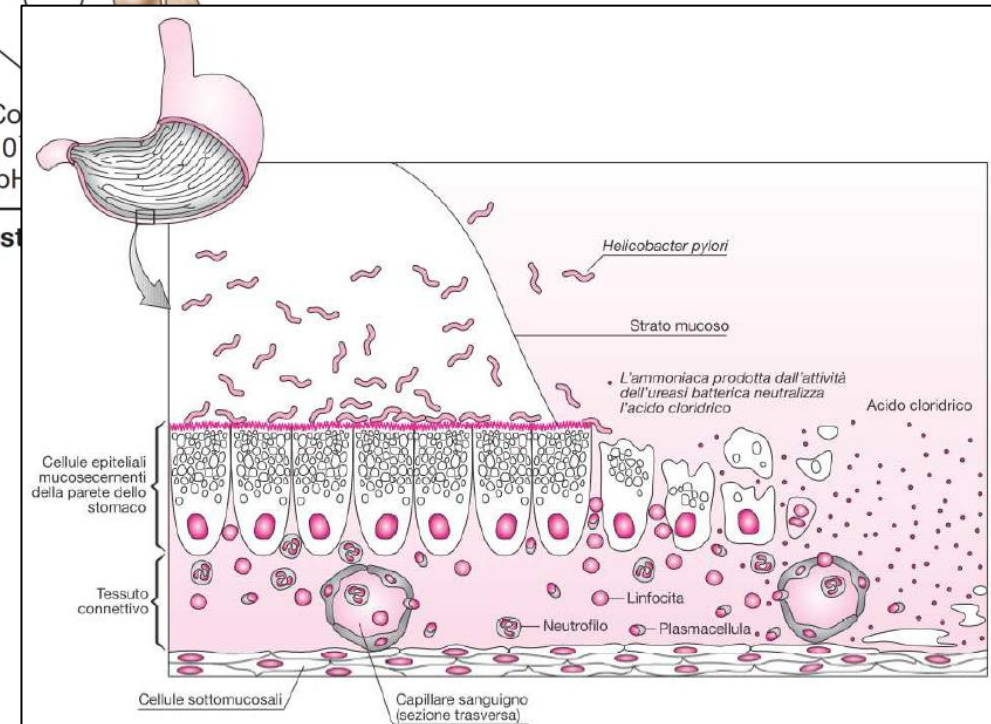


Numero di batteri presenti nello stomaco è $\approx 10^3/\text{ml}$ e tra questi troviamo:

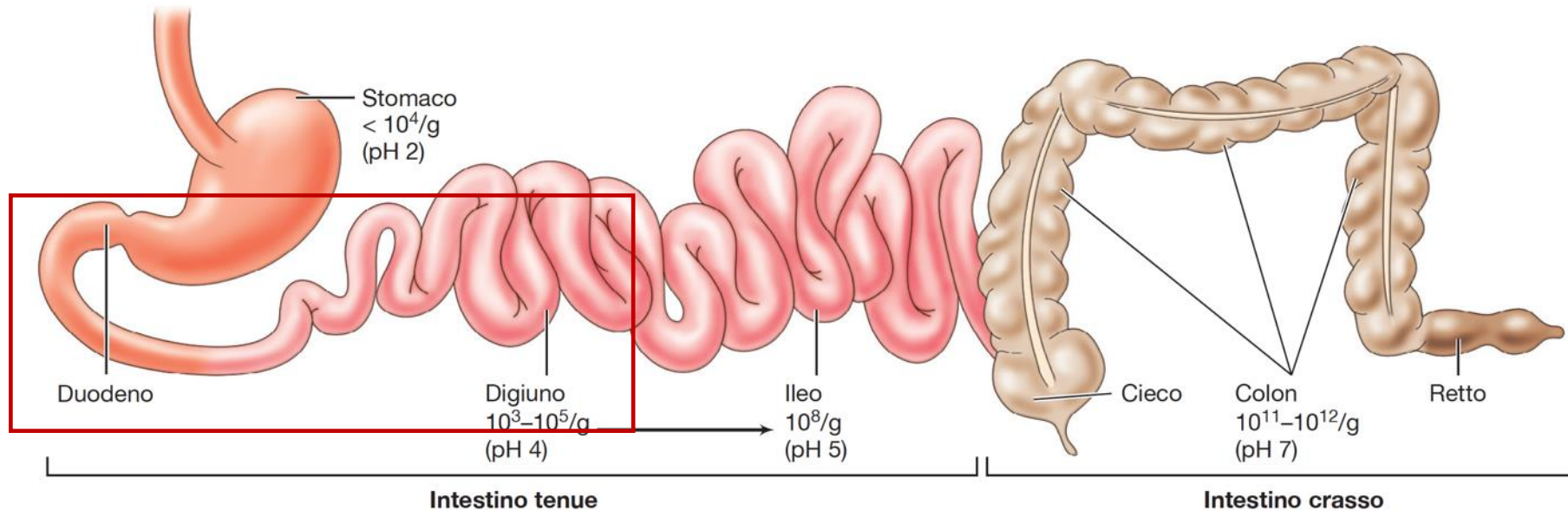
- Streptococcus
- Lactobacillus
- ***Helicobacter pylori*** (presente nell'80% della popolazione)

Come fa *H. pylori* a sopravvivere nello stomaco (pH 2)?

- Producendo l'enzima ureasi che converte l'urea in ammoniaca che neutralizza l'acido nelle immediate vicinanze;
- Utilizzando il flagello per motilità chemiotattica che gli permette di trovare un pH più neutro vicino alle cellule epiteliali dello stomaco.



Duodeno e digiuno

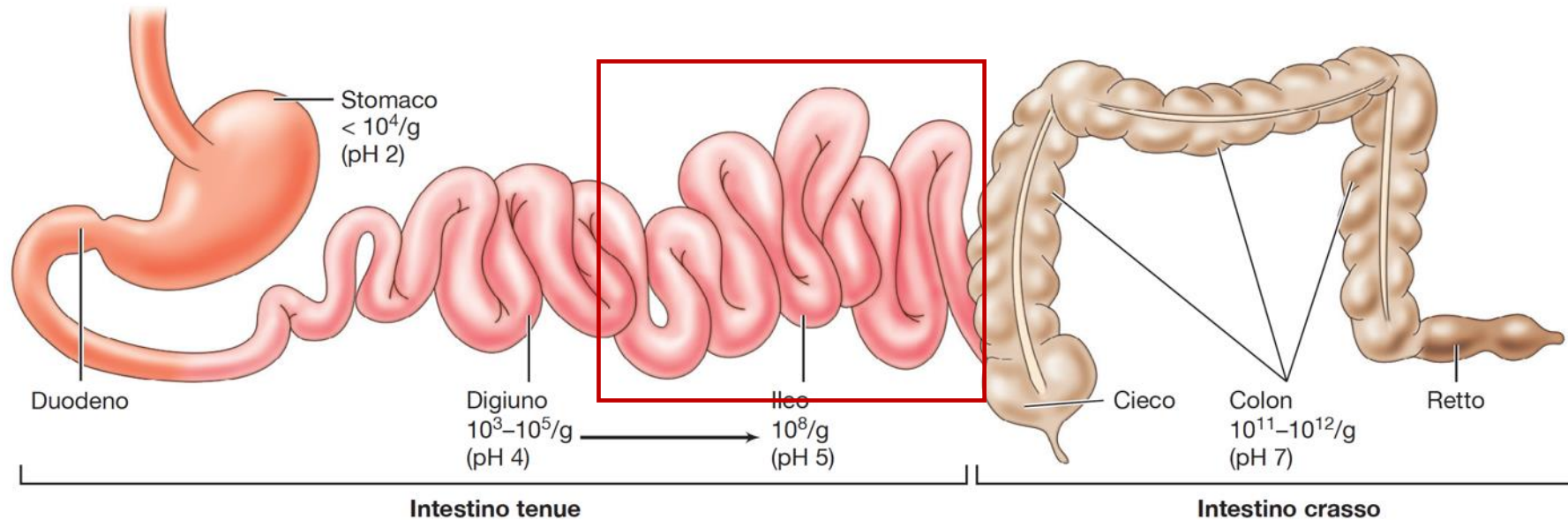


Numero di batteri presenti nel duodeno e digiuno è $\approx 10^5$ ufc/ml e tra questi troviamo:

- Streptococcus
- Lactobacillus
- Bacteroides
- Bifidobacterium

❖ Ambiente che risente dell'acidità dello stomaco (pH $\approx$ 4-5)

Ileo

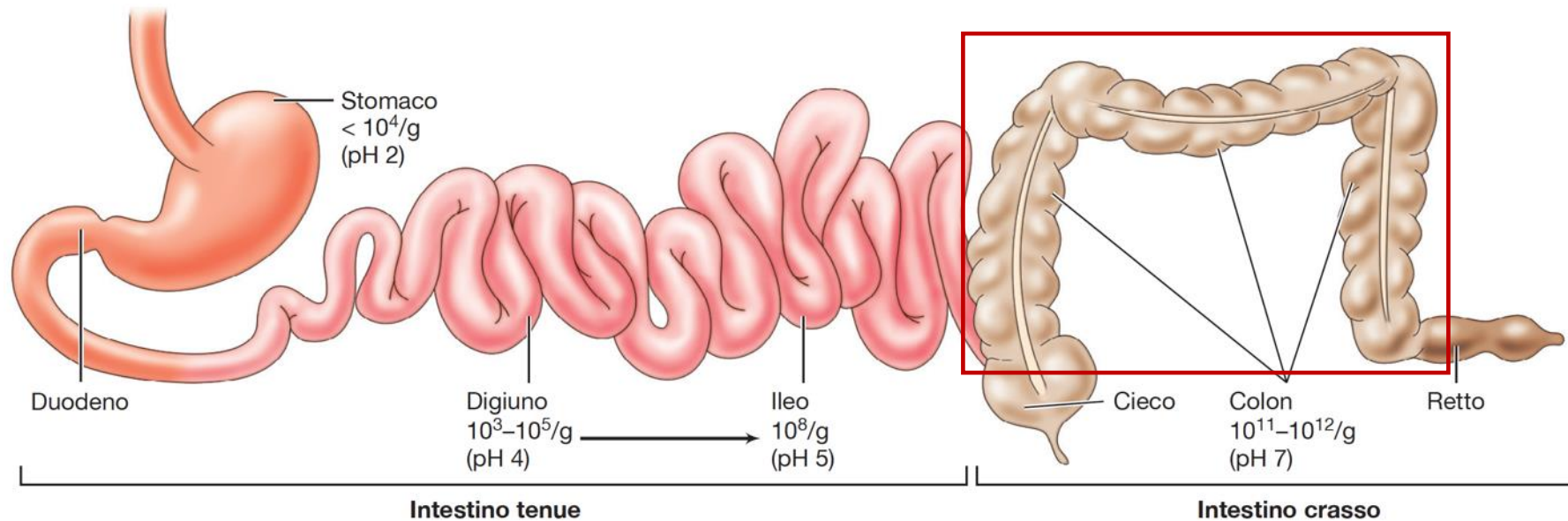


Numero di batteri presenti nell'ileo $\approx 10^9$ ufc/ml e tra questi troviamo:

- Streptococcus
- Lactobacillus
- Bacteroides
- Bifidobacterium
- Enterococcus faecalis
- Veillonella Spp.
- Clostridium Spp.
- Escherichia coli (rari)

❖ Ambiente in cui la concentrazione batterica aumenta e la popolazione si diversifica

Colon



❖ Ospita la cosiddetta flora batterica

Numero di batteri presenti nel colon $\approx 10^{14}$ ufc/ml.

I phyla presenti sono:

- Bacteroidetes
- Firmicutes
- γ -proteobacteria
- Actinobacteria
- Verrumicrobia
- Fusobacteria
- Cyanobacteria, Acidobacteria, Spirochaetes, Chlamydiae (quantità ridotte di microrganismi)

Colon

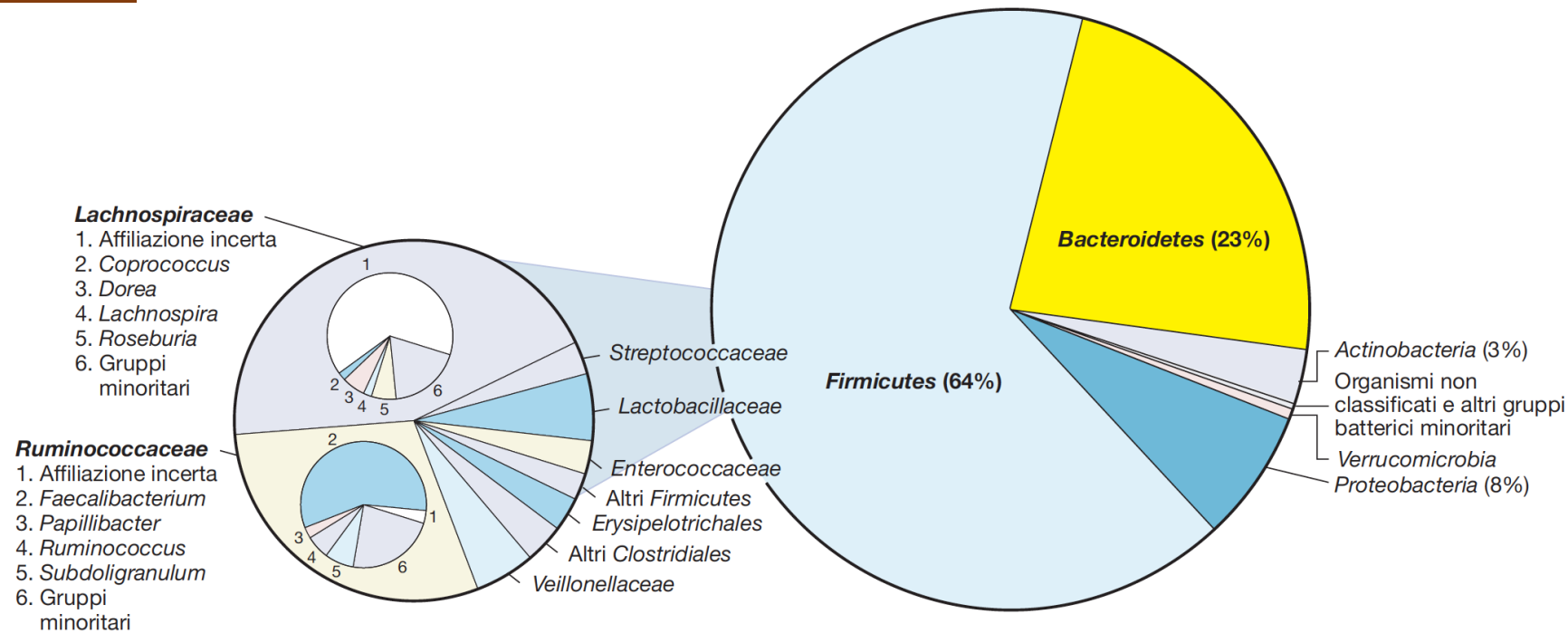


Figura 22.33 Composizione della comunità microbica del colon umano dedotta dalle sequenze dei geni codificanti per l'rRNA 16S. Lo schema raggruppa i risultati delle analisi di 17 242

sequenze ottenute soprattutto da materiale del colon distale (campioni fecali) di diversi individui. I dati forniscono principalmente informazioni sulla diversità, ma non sull'abbondanza relativa, dei diversi

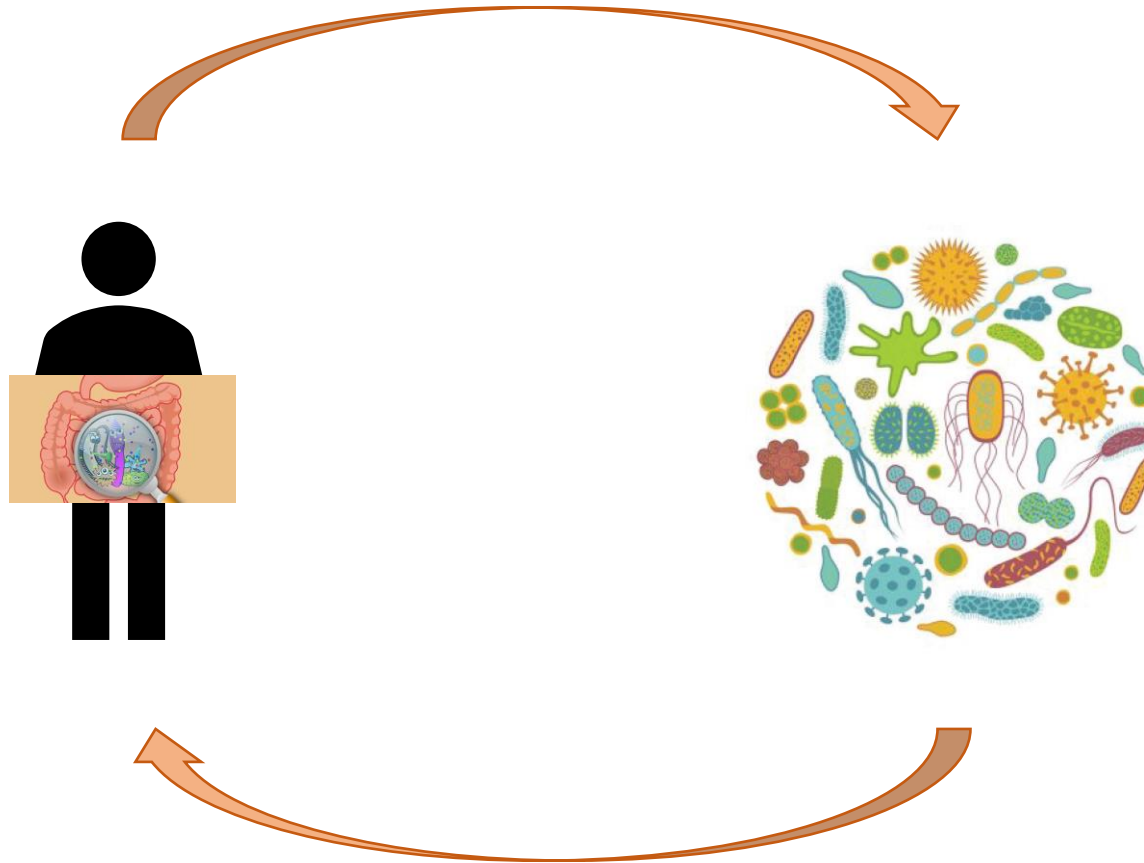
microrganismi. Studi dei modelli di abbondanza hanno mostrato che il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* è altamente variabile tra gli individui. Dati elaborati e analizzati da Nicolas Pinel.

Le comunità microbiche dell'intestino dei mammiferi sono costituite da pochi phyla ma da un'enorme diversità di specie.

Le specie che fanno parte del microbiota intestinale sono numerose e sono specifiche per ogni organismo e per ogni individuo.

Microbiota intestinale e ospite umano: una simbiosi mutualistica

L'uomo (ospite)
fornisce un
ambiente ricco in
nutrienti e a
temperatura
costante



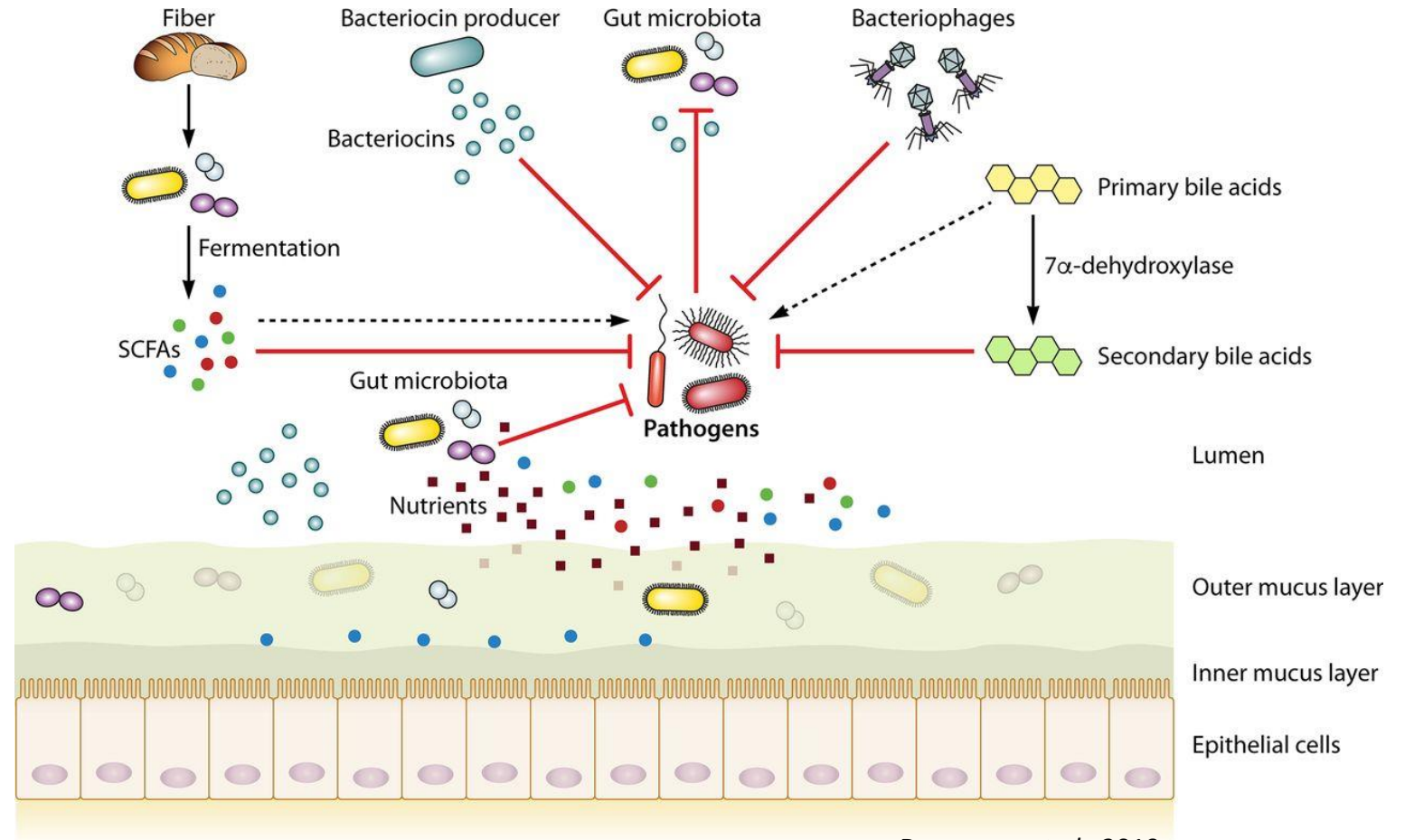
Il microbiota fornisce:

- Funzioni metaboliche non presenti nell'organismo umano (digestione di zuccheri complessi, sintesi di acidi grassi a catena corta, rimozione di sostanze tossiche, sintesi delle vitamine del gruppo B₁₂ e K, etc)
- Aiuto alla maturazione del sistema immunitario
- Protezione contro patogeni attraverso diversi meccanismi

Il microbiota e la protezione contro le infezioni

Il microbiota contribuisce con diversi meccanismi alla resistenza contro la colonizzazione da parte di microrganismi esogeni:

- Produzione di molecole ad attività antimicrobica;
- Competizione per i nutrienti;
- «Esclusione di superficie»;
- Supporto all'integrità della barriera epiteliale;
- Distribuzione di batteriofagi;
- Attivazione del sistema immunitario.



Microbiota intestinale: un equilibrio da salvaguardare

L'assetto microbico di ogni individuo può variare in alcune condizioni

Si accresce nel corso della crescita da neonato a individuo adulto in funzione di alcuni fattori ambientali (allattamento, tipo di parto, ecc.).

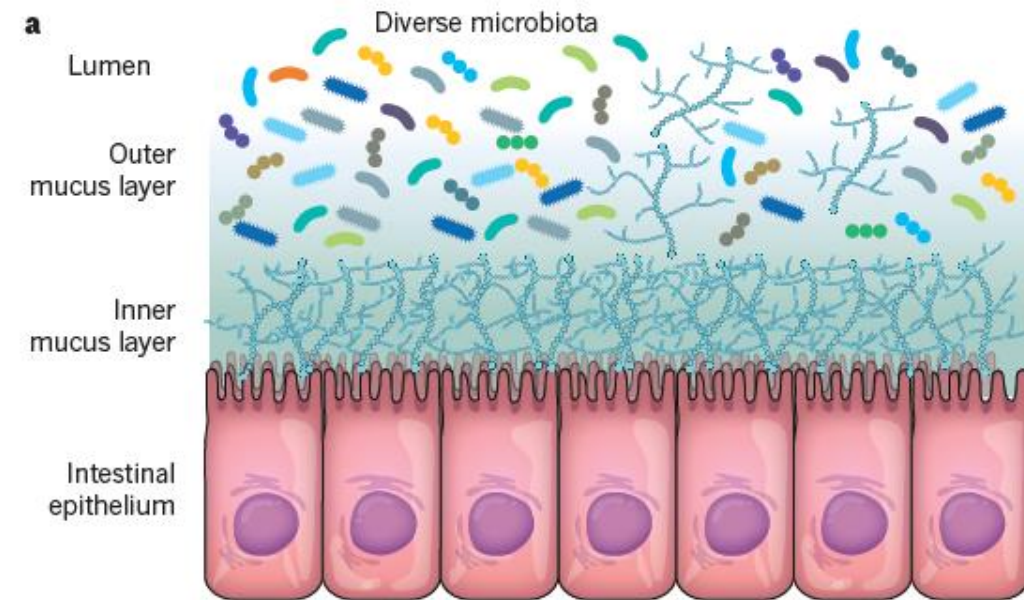


Variazioni significative del habitat umano provocano un cambiamento temporaneo del profilo delle specie.

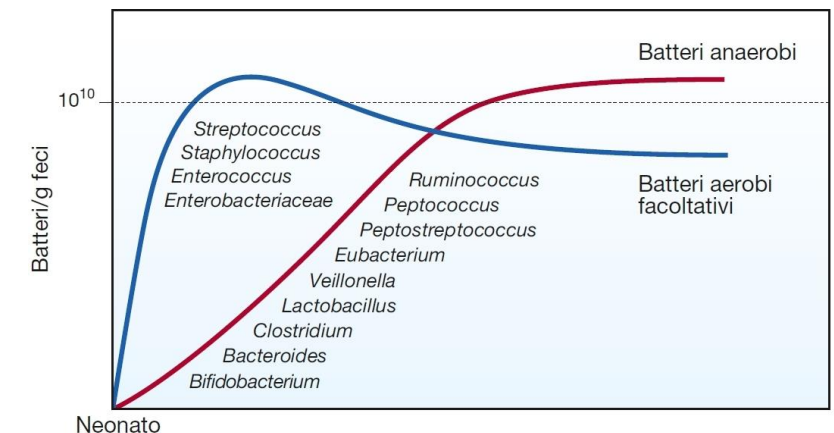
Trattamento antibiotico

Interventi dietetici

malattie



Bäumler and Sperandio, 2016



L'impatto degli antibiotici sul microbiota

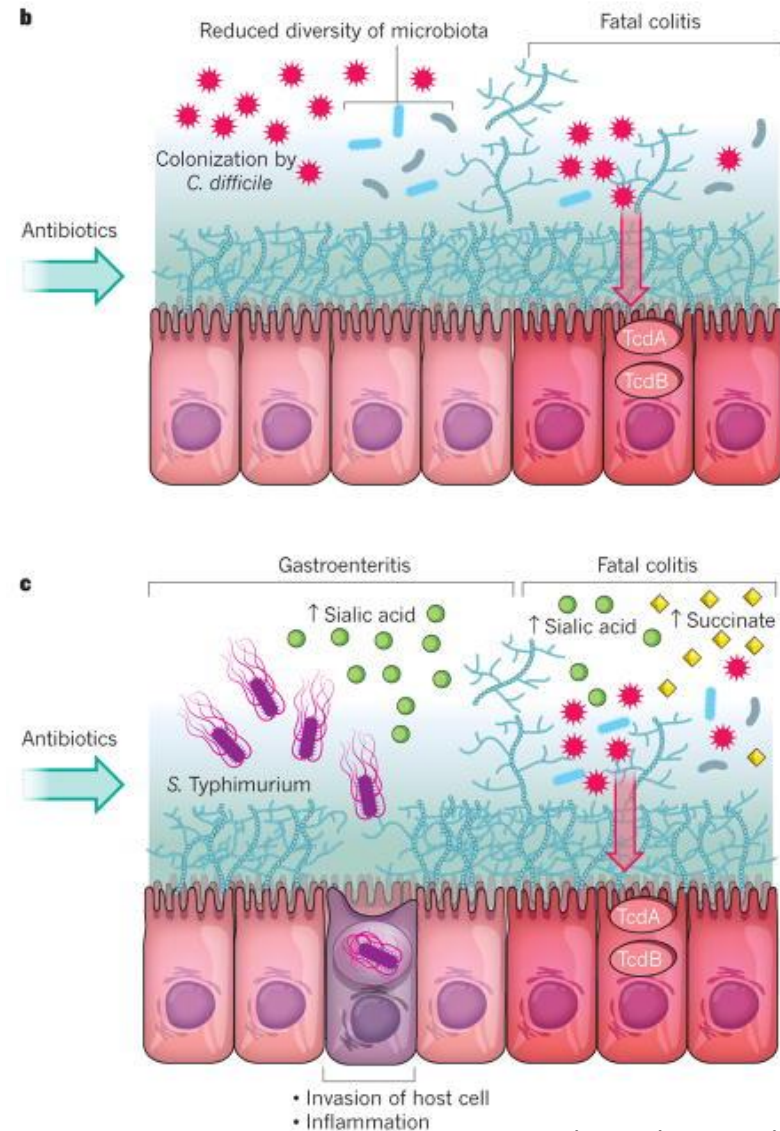
Gli antibiotici agiscono indistintamente su batteri patogeni e batteri benefici



Questo provoca una diminuzione della diversità del microbiota



Rischio di colonizzazione dell'intestino da parte di batteri patogeni



Bäumler and Sperandio, 2016

Clostridium difficile

può colonizzare l'intestino senza causare danni. L'uso degli antibiotici è un fattore di rischio per l'insorgenza delle coliti mediate da *C. difficile*

Salmonella enterica

serovar Typhimurium

catabolizza l'acido sialico per promuovere la sua crescita. L'uso degli antibiotici aumenta i livelli di acido sialico disponibile promuovendo la colonizzazione da parte di *S. Typhimurium*