

17. Fisiopatologia delle infezioni

II edizione

In collaborazione con Giovanna Testa



(vedi singoli sottocapitoli)

17. Fisiopatologia delle infezioni.....	533	17.4.3. Meccanismi di difesa innati.....	544
17.1. CONSIDERAZIONI GENERALI	535	17.5. OCCHIO	545
17.2. RISPOSTE GENERALI VERSO MICRORGANISMI VIVENTI	536	17.5.1. Liquido lacrimale.....	545
17.3. FASI TEMPORALI DELLA RISPOSTA ALLE INFEZIONI.....	537	17.6. TRATTO RESPIRATORIO	546
17.3.1. Immunità innata (0-4 ore).....	538	17.6.1. Eliminazione nasale.....	547
17.3.2. Risposta indotta precoce - immunità non adattativa (4-96 ore).....	539	17.6.2. Eliminazione tracheo-bronchiale.....	548
17.3.3. Risposta adattativa tardiva - immunità indotta adattativa (>96 ore).....	540	17.6.3. Eliminazione alveolare.....	549
17.3.4. Immunità protettiva.....	541	17.7. TRATTO GASTROENTERICO	550
17.3.5. Memoria immunologica.....	541	17.8. CUTE	552
17.4. BARRIERE INNATE	542	17.9. L'UOMO COME COMUNITÀ ECOLOGICA	553
17.4.1. Meccanismi di virulenza.....	542	17.9.1. Infezioni opportunistiche.....	553
17.4.2. Vie di infezione.....	543	17.10. FATTORI CHE INFLUENZANO LA QUALITÀ DEI MECCANISMI DI DIFESA	

.....	556	17.18. BATTERI EXTRA-CELLULARI	585
17.11. RISPOSTA NON-ADATTATIVA DELL'OSPITE ALL'INFEZIONE	557	17.19. IMMUNITÀ NATURALE VERSO I BATTERI EXTRA-CELLULARI	586
17.11.1. Lipopolisaccaride e produzione di monochine.....	558	17.19.1. Le citochine nella difesa contro i batteri extra-cellulari.....	589
17.11.2. La risposta di fase acuta indotta dalla interleuchina IL-6.....	559	17.20. RISPOSTE ADATTATIVE CONTRO I BATTERI EXTRA-CELLULARI	590
17.11.3. Interferoni ed infezioni virali.....	561	17.20.1. Risposta anticorpale.....	590
17.12. MECCANISMI DELL'INTERAZIONE OSPITE-VIRUS.....	562	17.20.2. Risposta cellulo-mediata.....	591
17.12.1. Tropismo dei virus.....	562	17.20.3. Conseguenze della difesa contro i batteri extra-cellulari.....	592
17.12.2. Esempi di recettori utilizzati dai virus.....	563	17.20.4. Superantigeni.....	593
17.12.3. Meccanismi di uccisione cellulare da parte dei virus.....	564	17.20.5. Evasione della risposta immune.....	593
17.13. IMMUNITÀ INNATA CONTRO I VIRUS	566	17.20.6. Patogenesi dell'infezione gonococcica.....	594
17.13.1. Effetti intra-cellulari degli interferoni nelle infezioni virali	567	17.21. TOSSINE BATTERICHE	598
17.14. RISPOSTE IMMUNI SPECIFICHE AI VIRUS (IMMUNITÀ ADATTATIVA) ..	568	17.21.1. Differenze tra endotossine ed esotossine batteriche.....	598
17.14.1. Anticorpi.....	568	17.21.2. Le esotossine batteriche.....	599
17.14.2. Linfociti T citotossici (cytotoxic T lymphocytes, CTL).....	569	17.21.3. Struttura generale	601
17.14.3. Evasione della risposta immune da parte dei virus.....	570	17.21.4. Meccanismo d'azione della tossina difterica.....	602
17.14.4. Evasione della risposta immune da parte del virus dell'influenza.....	571	17.21.5. Il meccanismo d'azione della tossina tetanica.....	603
17.14.5. Persistenza e riattivazione dell'infezione con virus herpes simplex.....	574	17.21.6. Il meccanismo d'azione della tossina botulinica.....	604
17.14.6. Immunità protettiva nei confronti di virus.....	575	17.21.7. Tossine che hanno attività enzimatica di ADP-ribosilazione.....	605
17.15. MICRORGANISMI INTRA-CELLULARI	576	17.21.8. Esempi di quadri clinico-patologici delle tossine di importanza in patologia umana.....	606
17.16. RISPOSTE NON ADATTATIVE AI BATTERI INTRA-CELLULARI	577	17.22. ENDOTOSSINE	608
17.16.1. Fagocitosi.....	577	17.22.1. Il ruolo del lipopolisaccaride (LPS) nello shock endotossico (shock settico)	609
17.16.2. Equilibrio ospite-patogeno.....	577	17.23. MICOSI	610
17.17. RISPOSTE ADATTATIVE AI BATTERI INTRA-CELLULARI	578	17.23.1. Micosi ed immuno-competenza.....	610
17.17.1. Immunità cellulo-mediata.....	578	17.23.2. Eziologia delle micosi.....	610
17.17.2. Adjuvanti.....	578	17.23.3. Classificazione delle micosi.....	611
17.17.3. Cellule CD4+ e cellule CD8+.....	579	17.23.4. Micosi superficiali.....	611
17.17.4. Interferone- γ (IFN- γ).....	579	17.23.5. Micosi cutanee.....	612
17.17.5. Resistenza.....	580	17.23.6. Micosi sottocutanee.....	612
17.17.6. Flogosi croniche e granulomi.....	580	17.23.7. Micosi dovute a miceti intrinsecamente patogeni.....	612
17.17.7. Patogenesi del danno tissutale.....	581	17.23.8. Micosi sistemiche dovute a miceti opportunisti.....	613
17.17.8. Evasione della risposta immune da parte dei batteri intra-cellulari.....	582	17.24. PRINCIPALI FONTI UTILIZZATE.....	614
17.17.9. Tifo petecchiale.....	583		



17.1. Considerazioni generali

Definizione di infezione

Colonizzazione dell'organismo umano da parte di virus, batteri, miceti, protozoi non appartenenti alla flora saprofitica o da parte di normali saprofiti ma in posizioni e numero diverse da quelle di equilibrio

Tabella 17.23: Classificazione degli agenti eziologici di origine biologica capaci di colonizzazione

strutture sub-cellulari ad origine post-speciazione	prioni virus	incapaci di replicarsi, ma capaci di indurre la formazione di copie uguali a se stessi
batteri	batteri endo-cellulari batteri extra-cellulari endotossine esotossine	tossine botulinica, colerica, difterica, tetanica
vegetali	sostanze irritanti, veleni allergeni	
miceti	micosi profonde micosi superficiali	
protozoi	intra-cellulari extra-cellulari	
metazoi (colonizzazioni definite infestazioni)	endo-parassiti (nei lumi delle cavità o nei tessuti) ecto-parassiti (sulla superficie esterna) veleni animali	nematodi, cestodi, trematodi acari, pidocchi, zecche enzimi digestivi, neurotossine, sostanze algogene

17.2. Risposte generali verso microrganismi viventi



I rapporti dell'organismo umano con gli altri esseri viventi possono essere:

- **assenti**: i micro-ambienti sono reciprocamente incompatibili (es.: uomo e *Sulfolobus solfataricus* che cresce nelle solfatare in presenza di zolfo a 70°C)
- **formazione di una comunità**: condivisione di micro-ambiente e necessità l'uno dell'altro per la sopravvivenza (es.: flora batterica intestinale che compie una serie di processi biochimici necessari alla vita dell'uomo non codificati dal DNA dell'uomo stesso)
- **colonizzazione accidentale**: condivisione dell'ambiente umano con potenziale danno (infezioni ed infestazioni)



Per regolare tutti i casi di condivisione di micro-ambiente abbiamo 3 ordini di risposte che si attivano in successione ogniqualvolta la precedente non sia risolutiva:

- *immunità innata*
- *immunità indotta non adattativa*
- *immunità indotta adattativa*



- I meccanismi effettori che rimuovono l'agente infettivo sono simili o identici in ciascuna fase, mentre differiscono i meccanismi di riconoscimento e di attivazione
- L'immunità adattativa interviene tardivamente, perché le rare cellule antigene-specifiche devono essere attivate ed andare incontro ad espansione clonale prima di potersi differenziare in cellule effettrici
- La risposta alla re-infezione è molto più rapida; anticorpi preformati e cellule effettrici già selezionate agiscono immediatamente sull'agente patogeno

17.3. Fasi temporali della risposta alle infezioni..

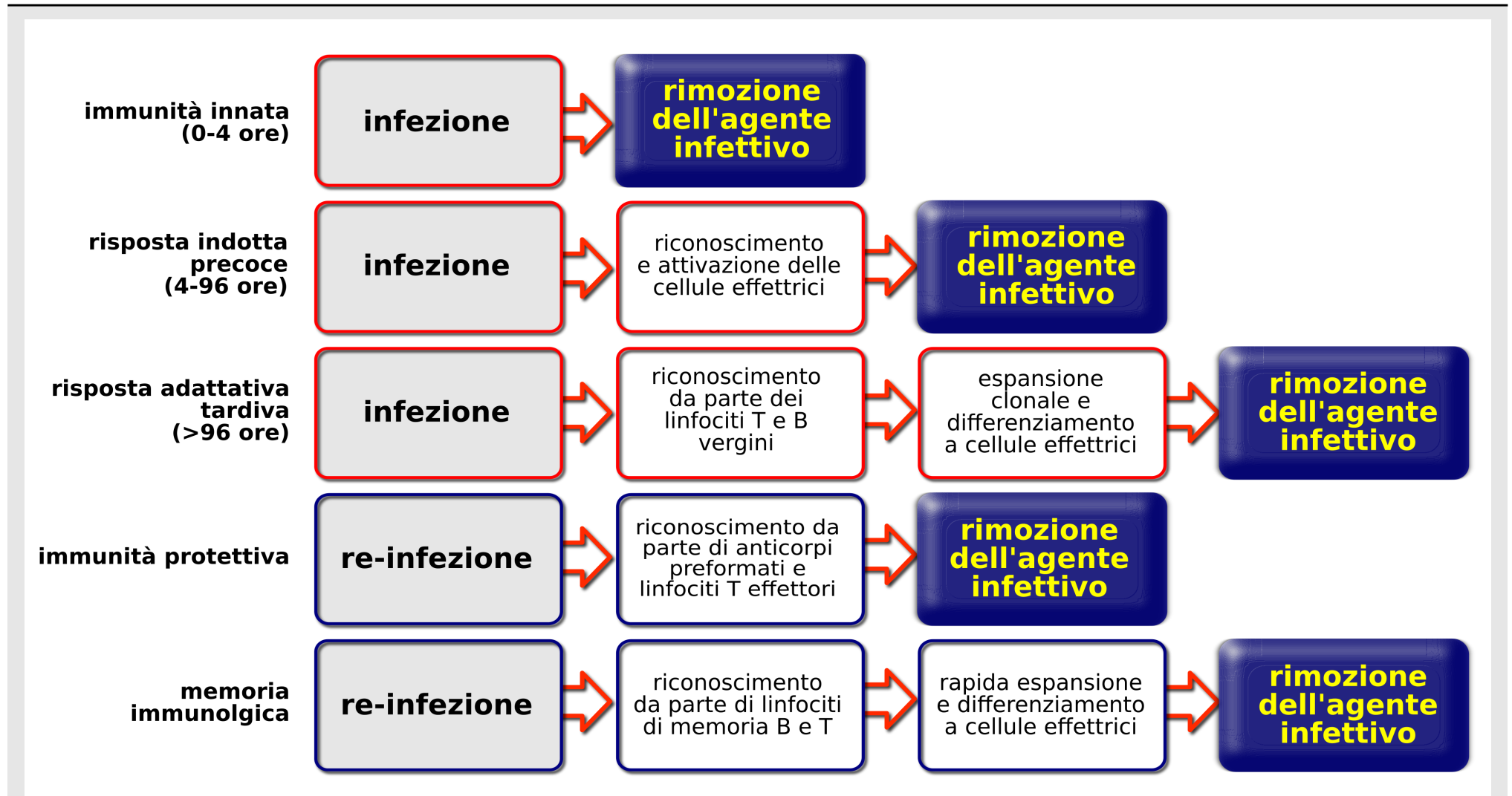








Figura 17.1. Tempistica della risposta alle infezioni

17.3.1. IMMUNITÀ INNATA (0-4 ORE)

-  Gli agenti patogeni per provocare una malattia devono anzitutto entrare in contatto con l'ospite e quindi stabilire un **focus di infezione**
 -  L'immunità innata è costituita da meccanismi presenti e pronti ad attaccare un invasore in ogni momento: tende ad impedire l'instaurarsi di un *focus* di infezione
 -  Le superfici epiteliali del corpo impediscono un contatto efficace con all'esterno gli agenti patogeni, e costituiscono la prima linea di difesa, in quanto molti patogeni possono iniziare una colonizzazione solo attraverso interazioni dirette con la superficie del corpo
 -  I batteri che superano questa barriera si trovano ad affrontare due linee di difesa immediata
 - attacco umorale attraverso l'attivazione della via alternativa del complemento, che è spontaneamente attivo nel plasma e può opsonizzare o distruggere i batteri risparmiando le cellule dell'ospite, che sono protette dalle proteine regolatrici del complemento
 - fagocitosi da parte dei macrofagi con legame a recettori per componenti batterici comuni
 -  L'immunità innata implica
 - il diretto coinvolgimento da parte dell'agente patogeno di un meccanismo effettore
 - agisce immediatamente al contatto con esso
 - risponde in modo costante a una stimolazione susseguente
-

17.3.2. RISPOSTA INDOTTA PRECOCE - IMMUNITÀ NON ADATTATIVA (4-96 ORE)

 La risposta precoce, indotta ma non-adattativa, coinvolge una varietà di meccanismi effettori diretti verso una classe distinta di patogeni

È innescata da recettori non-clonali o di diversità molto limitata (*pattern recognition receptors*)

 La risposta indotta precoce si distingue dall'immunità adattativa per la sua

- incapacità di produrre immunità di lunga durata ed una memoria immunitaria

La risposta indotta precoce gioca due ruoli importanti nel percorso dell'immunità adattativa:


- di per sé nel tenere sotto controllo l'infezione nelle fasi precoci dando tempo alla risposta immunitaria adattativa di svilupparsi (5-7 d)
- innescando ed orientando la risposta immunitaria adattativa stessa: risposta cellulare versus umorale

Macrofagi e risposte indotte





 I macrofagi sono responsabili di alcune risposte indotte:

- inducono la produzione di proteine di fase acuta da parte del fegato, si legano a molecole sulla superficie dei batteri ed attivano il complemento
- producono interleuchine IL-1 e IL-6 che inducono la febbre (deleteria per i microrganismi, mentre dall'altra parte accresce la velocità della risposta immunitaria) ed altre citochine pro-infiammatorie

Linfociti e risposte indotte


 ● Le cellule *natural killer*, i linfociti B 1, ed i linfociti T $\gamma:\delta$ hanno recettori di diversità limitata, che procurano una protezione precoce nei confronti di un ristretto numero di agenti patogeni, senza generare un'immunità di lunga durata

17.3.3. RISPOSTA ADATTATIVA TARDIVA - IMMUNITÀ INDOTTA ADATTATIVA (>96 ORE)

-  La risposta immunitaria adattativa è necessaria per l'efficiente difesa dell'ospite da quei patogeni che sono sfuggiti all'immunità innata ed all'immunità indotta non adattativa
-  Questa risposta generalmente elimina l'agente infettivo e fornisce all'ospite uno stato di immunità protettiva contro la re-infezione con lo stesso agente patogeno
-  L'immunità adattativa si ha quando gli agenti patogeni hanno superato o evaso i meccanismi di difesa non adattativi dell'ospite ed hanno stabilito un *focus* di infezione: è un evento relativamente molto raro
-  Gli antigeni dell'agente patogeno sono trasportati agli organi linfatici periferici da APC (*antigen presenting cells*, cellule presentanti l'antigene, della famiglia dei monociti-macrofagi) migranti o sono ivi intrappolati da cellule APC residenti. L'antigene viene processato e presentato a cellule T antigene-specifiche vergini che ricircolano continuamente

La sensibilizzazione primaria ed il differenziamento dei linfociti T effettori armati avviene qui


Questi linfociti T o lasciano gli organi linfoidi per andare a far parte della risposta cellulo-mediata nei siti di infezione nei tessuti, o rimangono nei tessuti linfatici per attivare le cellule B che legano l'antigene

-
-  Quale risposta prevalga è fortemente influenzato da:
 - produzione di citochine che avviene nella fase non adattativa
 - modalità di presentazione dell'antigene (MHC di classe I o II)

La produzione non-adattativa di citochine e la dose di antigene influenzano il differenziamento in:

- cellule T CD4+ *helper*
 - cellule T CD4+ infiammatorie
-


17.3.4. IMMUNITÀ PROTETTIVA

 Una volta che la risposta immunitaria adattativa si sia sviluppata, l'infezione può essere messa sotto controllo o eliminata, e si instaura uno stato di immunità protettiva

Questa condizione consiste in:

- molecole e cellule effettrici prodotte nella risposta iniziale
- uno stato di memoria immunologica

17.3.5. MEMORIA IMMUNOLOGICA


 La memoria immunologica (proprietà dei linfociti di memoria T e B) si manifesta sotto forma di una aumentata capacità di:

- rispondere agli agenti patogeni incontrati in precedenza
- eliminarli con successo dall'ospite




questa è la risposta immunitaria secondaria

 L'induzione artificiale di immunità protettiva, inclusa la memoria immunologica, rappresenta il più notevole risultato dell'immunologia nel campo della medicina (sieroterapia e vaccini)

17.4. Barriere innate

-  ● Le barriere innate hanno la funzione di impedire l'insorgere di foci infettivi, e quindi di prevenire le infezioni
Sono il meccanismo quantitativamente più importante per mantenere l'omeostasi "ecologica"
- Sono diverse a seconda della potenziale via di infezione
- I microrganismi patogeni hanno sviluppato fattori di virulenza che consentono loro di superare le barriere innate, ciascuno attraverso una particolare via di infezione
- Quando le barriere sono insufficienti si ha colonizzazione ectopica patologica anche da parte di saprofiti

17.4.1. MECCANISMI DI VIRULENZA

-  **Adesione** Interazione specifica tra il batterio e recettori dell'ospite
-  **Colonizzazione** Dopo l'adesione i batteri sopravvivono, e si moltiplicano
-  **Penetrazione** Le cellule batteriche penetrano nel tessuto di rivestimento e o lo colonizzano o lo attraversano per dare infezioni profonde

17.4.2. VIE DI INFEZIONE

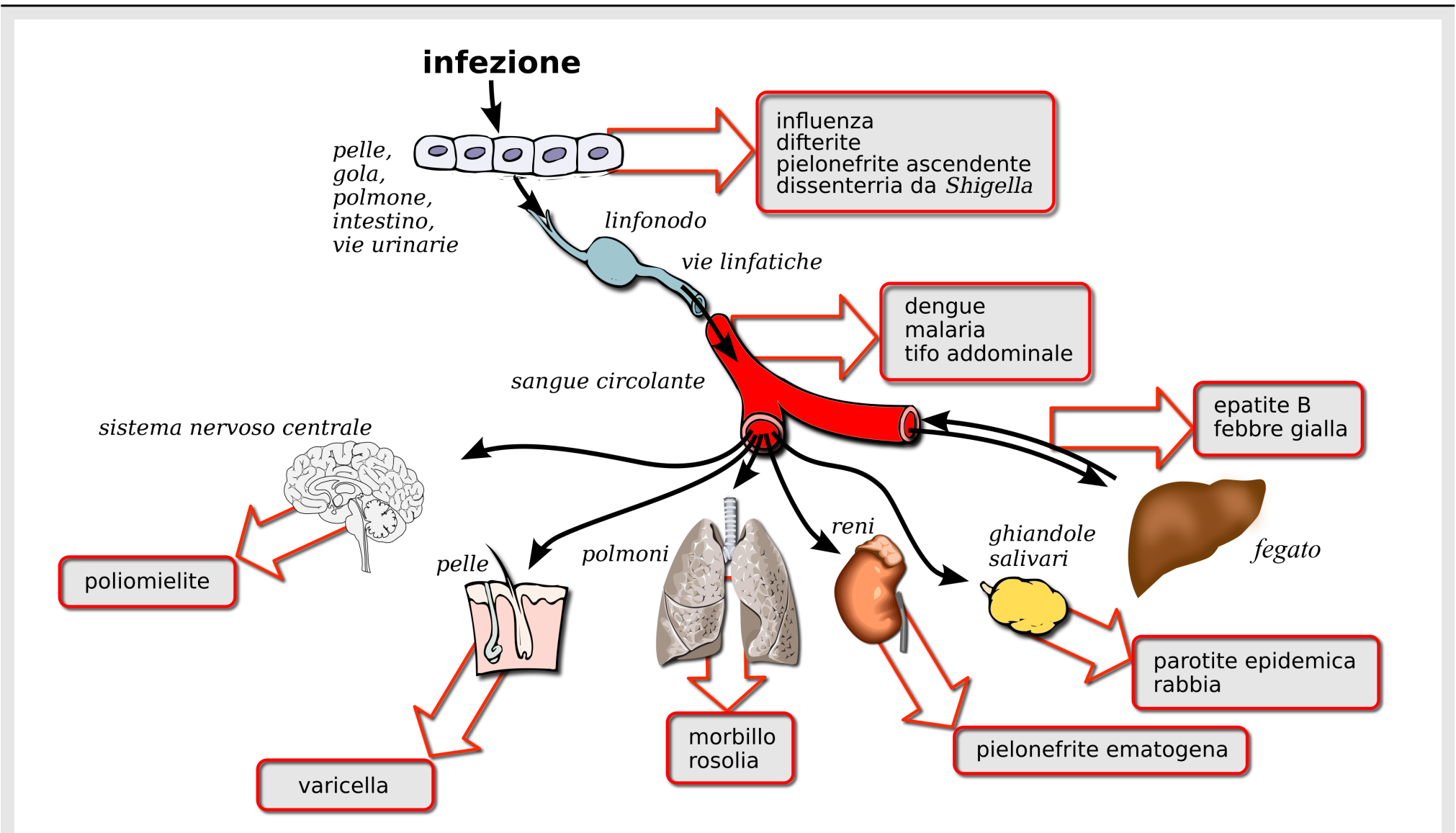



Figura 17.2. Vie d'infezione. Liberamente tratto da Mims (1988)

17.4.3. MECCANISMI DI DIFESA INNATI*Tabella 17.24: Meccanismi di difesa innati*

Occhio	movimento palpebrale liquido lacrimale: lisozima	tiene pulita la congiuntiva distrugge la parete batterica
Tratto respiratorio	strato muco-ciliare macrofagi alveolari anticorpi IgA secreti	
Tratto gastroenterico	succo gastrico acido strato viscoso mucoso detergenti biliari enzimi litici pancreatici peristalsi intestinale anticorpi IgA secreti batteri commensali	contiene anche enzimi tende ad allontanare la massa batterica
Tratto urogenitale	liquido prostatico flusso urinario giunzione vescico-ureterale pH vaginale	batteriostatico deterge fondamentale per mantenere la sterilità basso
Pelle	flora cutanea normale rinnovo costante dello strato cheratinico sebo	batteriostatico
Orecchio esterno	cerume	batteriostatico

17.5. Occhio

17.5.1. LIQUIDO LACRIMALE

 Il liquido lacrimale viene secreto dalle ghiandole lacrimali e, dopo essere transitato sulla superficie dell'occhio, viene drenato nel canale lacrimo-nasale


Il liquido lacrimale ha il compito di

- umidificare la superficie del sacco congiuntivale
- asportare dalla congiuntiva, assieme al movimento delle palpebre, corpi estranei (polvere, germi)

Il liquido lacrimale contiene

- cloruro e bicarbonato di sodio
- albumina
- mucina
- lisozima
- immunoglobuline A (IgA)

Il film lacrimale è la principale difesa dalle infezioni batteriche corneali e congiuntivali, assieme al movimento palpebrale

 Il lisozima è un enzima basico dotato di attività battericida. Lisi la parete batterica di alcuni batteri (Gram+) catalizzando l'idrolisi del peptidoglicano

Il lisozima funziona anche come opsonina, legandosi alla superficie batterica, ne riduce la carica elettrica negativa superficiale, prima che intervengano le opsonine del sistema immunitario

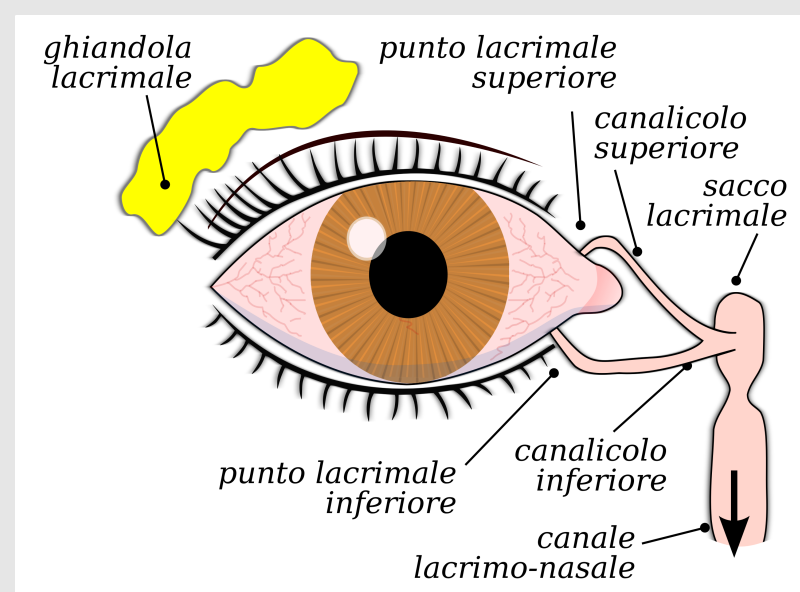


Figura 17.3. Apparato lacrimale

17.6. Tratto respiratorio

Polveri inalate

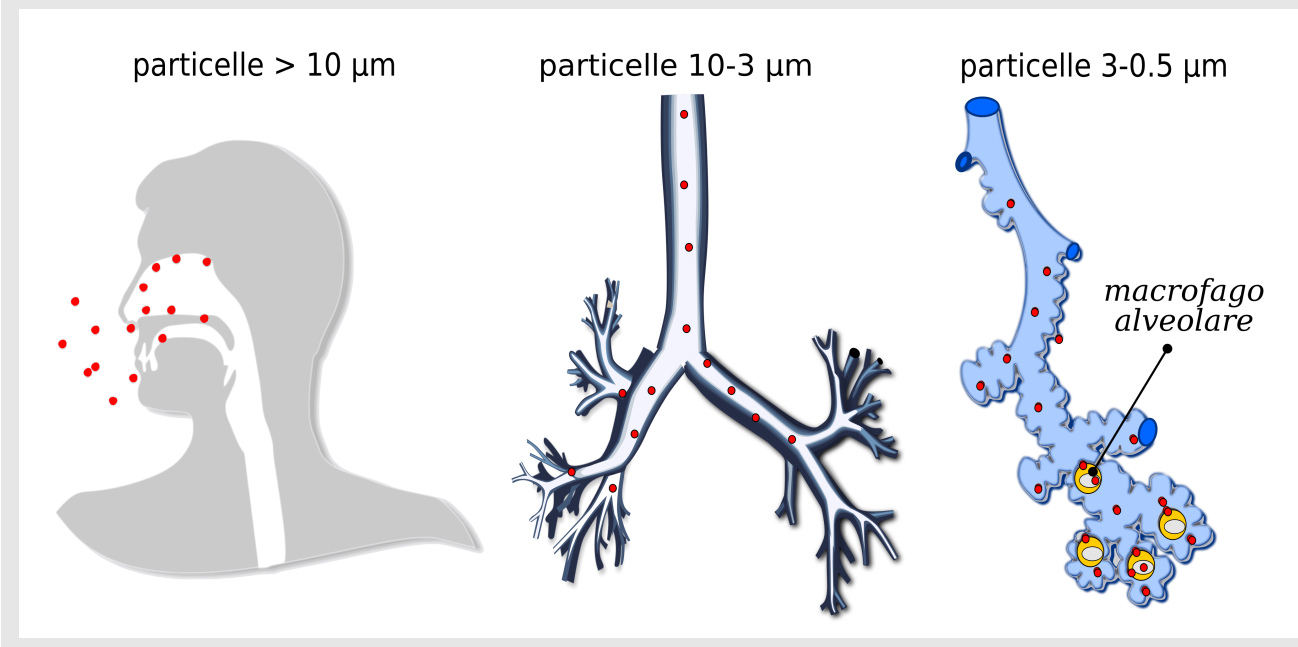


Figura 17.4. Polveri inalate.

Liberamente tratto da Rubin (1988)

Ogni giorno, le vie aeree e gli alveoli sono esposti a più di 10,000 L di aria contenente polveri, sostanze chimiche e microrganismi potenzialmente pericolosi



Il destino delle particelle inalate dipende dalle loro dimensioni e dalla loro forma

- > 10 µm rimangono per lo più nel flusso turbolento del naso e delle vie aeree superiori
- 10-3 µm si fermano nella trachea e nei bronchi
- 3-0.5 µm (la dimensione dei batteri) si depositano nelle vie aeree inferiori e negli alveoli
- < 0.5-1 µm rimangono sospese nell'aria e vengono eliminate con l'espiazione

Nonostante ciò, il polmone normale non contiene flora microbica: alcuni potenti meccanismi di difesa eliminano o distruggono tutti i batteri inalati con l'aria o depositati fortuitamente nei passaggi aerei

17.6.1. ELIMINAZIONE NASALE

L'eliminazione nasale agisce con varie modalità:

- le particelle contenenti microrganismi che si depositano vicino all'ingresso delle vie aeree sull'epitelio non ciliato, sono eliminate con gli starnuti ed il flusso di aria
- lo starnuto è innescato dalle vibrisse nasali
- il naso possiede una abbondante vascolarizzazione molto superficiale che consente di riscaldare l'aria in ingresso (da qui la facilità di emorragie nasali, epistassi)
- il riscaldamento dell'aria è importante per il corretto funzionamento dei movimenti ciliari delle mucose dei tratti tracheo-bronchiali, movimento rallentato dall'aria fredda
- le particelle depositate posteriormente rimangono intrappolate nel muco che ricopre l'epitelio ciliato e con il muco sono trasportate fino al rinofaringe e poi inghiottite

La respirazione nasale perciò è molto più protettiva della respirazione orale

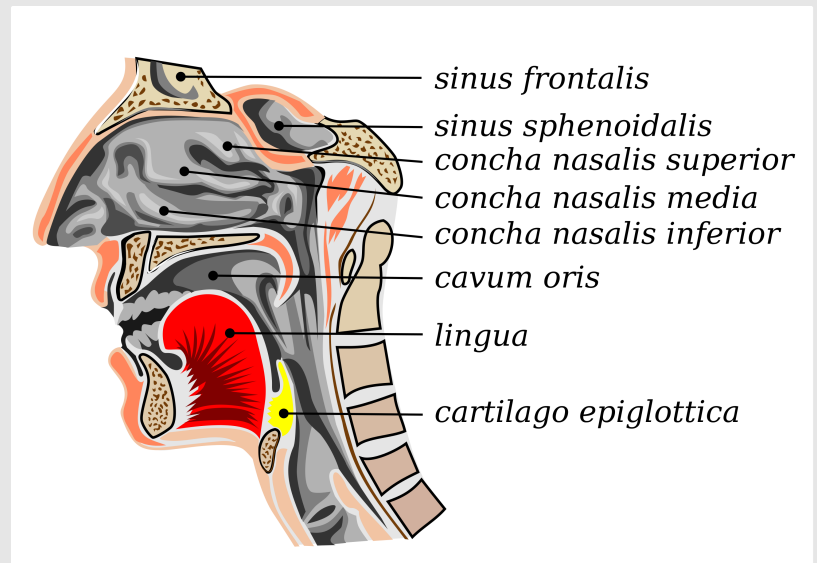


Figura 17.5. Anatomia delle prime vie aeree

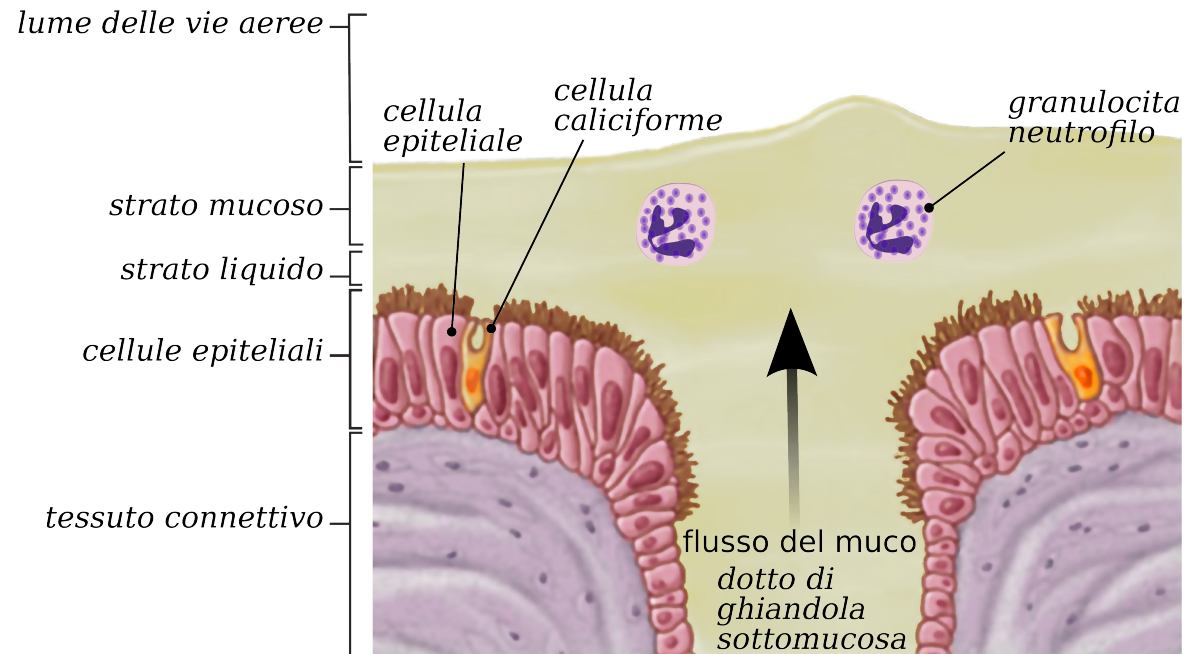
17.6.2. ELIMINAZIONE TRACHEO-BRONCHIALE

Figura 17.6. Strato mucoso. Liberamente tratto da Rowe (2005)

L'eliminazione tracheo-bronchiale si basa sull'azione muco-ciliare:

- l'azione delle ciglia muove continuamente un sottile film di muco dal polmone verso l'orofaringe
- le particelle depositate su questo film vengono da ultimo o inghiottite o espettorate

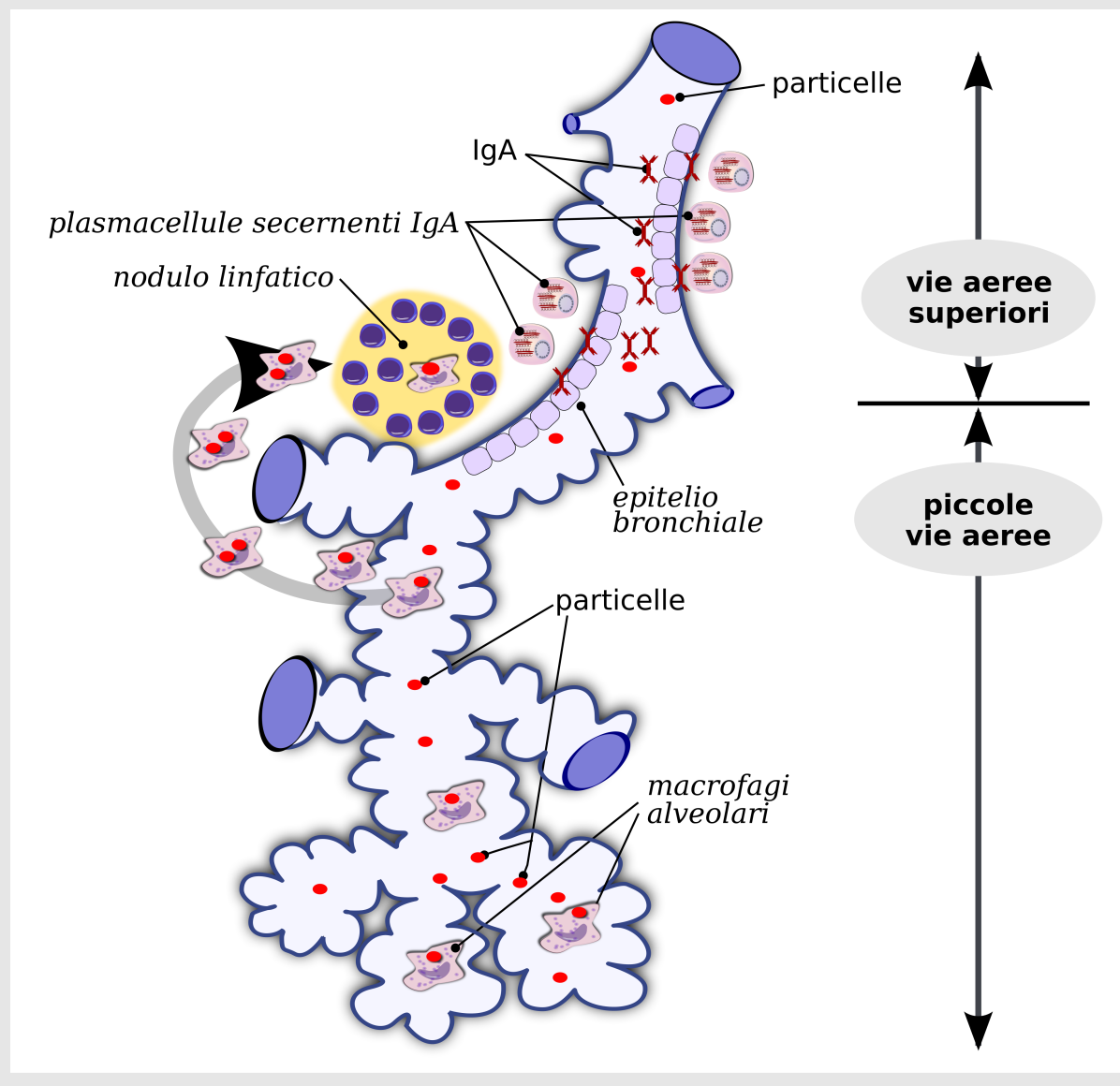
17.6.3. ELIMINAZIONE ALVEOLARE

Figura 17.7. Eliminazione alveolare


Batteri e particelle solide depositate negli alveoli vengono fagocitate dai macrofagi alveolari

Una particella in questo modo può essere:

- digerita
- trasportata ai bronchioli ciliati (da qui il macrofago viene spinto verso l'orofaringe per essere inghiottito)
- trasportata dal macrofago nel tessuto interstiziale seguendo il flusso rapido del liquido alveolare verso l'interstizio, drenata dai linfatici arrivando, anche trasportata dal macrofago, ai noduli linfatici/linfonodi loco-regionali
- nei noduli linfatici sottomucosi e nei linfonodi loco-regionali gli antigeni legati alla particella vengono processati e presentati al sistema immunitario per una eventuale risposta adattativa specifica



17.7. Tratto gastroenterico

 La maggior parte dei patogeni gastroenterici sono trasmessi attraverso cibi o bevande contaminati con materiale fecale (**circuito oro-fecale**)

L'esposizione può perciò essere ridotta con una appropriata eliminazione dei rifiuti organici, con l'assunzione di acqua pulita, il lavaggio delle mani, e la cottura degli alimenti. Dove l'igiene è carente le malattie gastroenteriche divengono incontrollabili

 Le normali difese contro i patogeni ingeriti includono


- il succo gastrico acido
- lo strato di muco viscoso che ricopre l'intestino
- gli enzimi litici pancreatici
- gli anticorpi IgA secreti
- la competizione per i nutrienti da parte dell'abbondante flora commensale residente nell'intestino inferiore
- peristalsi ed espulsione ad intermittenza con le feci


Indebolimento delle difese gastroenteriche


 Le difese dell'ospite sono indebolite da:


- una scarsa acidità gastrica
- terapie antibiotiche che sbilancino la normale flora intestinale
- la presenza di una peristalsi intestinale insufficiente o di diverticoli (senza peristalsi)
- una ostruzione meccanica

Meccanismi costitutivi di difesa del tratto gastroenterico






-  La maggior parte dei virus capsulati vengono degradati dai succhi digestivi
Quelli non capsulati possono essere molto più resistenti (es.: il virus dell'epatite A, i rotavirus, i reovirus):
 - i rotavirus danneggiano direttamente le cellule della mucosa intestinale che infettano
 - i reovirus passano attraverso le cellule della mucosa raggiungendo il circolo ematico senza nessun segno di lesione apparente alla mucosa

-  Il succo acido gastrico è letale per alcuni batteri entero-patogeni:
 - volontari normali non contrassero infezione colerica quando la carica infettante era inferiore a 10^{11} vibroniAl contrario
 - microrganismi dei generi *Shigella* e *Giardia* sono relativamente resistenti all'acido, e meno di 100 organismi di ciascuna specie sono sufficienti a provocare infezione


-  Molti patogeni sono specie-specifici: sono cioè patogeni solo per una o poche specie, il pericolo maggiore dunque per l'uomo viene da contaminazioni organiche di origine umana, più che di altri animali


-  Liquidi freddi bloccano l'azione degli enzimi, diluiscono l'acido ed accelerano il transito gastrico


17.8. Cute

-  La pelle umana è normalmente abitata da una varietà di specie batteriche e fungine, incluse alcune potenzialmente opportunistiche come lo *Staphylococcus epidermidis* e la *Candida albicans*
Questa ricca flora cutanea si mantiene in equilibrio ecologico, impedendo la crescita di una singola specie residente a scapito delle altre o di una specie patogena virulenta di nuova introduzione
-  Lo strato esterno della cute denso e cheratinizzato ricoperto della flora commensale viene continuamente sfaldato e rinnovato
-  Il pH basso, il contenuto di zolfo cheratinico, la presenza di acidi grassi della cute normale favoriscono i batteri commensali, adattati a questa nicchia ecologica ostile meglio dei batteri patogeni
-  Il caldo e l'umidità possono diminuire la resistenza a funghi dermatofiti e opportunisti
Quando la cute è umida e viene scarificata o traumatizzata più facilmente, come avviene durante un rapporto sessuale, essa può essere attraversata da una varietà di patogeni, inclusi il *Treponema pallidum*, l'agente della sifilide, e cocchi Gram-positivi
-  Le larve di alcuni elminti patogeni (es.: certi schistosomi) hanno evoluto meccanismi che consentono loro di attraversare la cute integra attraverso la secrezione di proteasi litiche


17.9. L'uomo come comunità ecologica

-  Da un punto di vista ecologico si può affermare che
- l'uomo non è un organismo metabolicamente e biochimicamente autosufficiente (il DNA umano non codifica per tutto ciò che è necessario)
 - la vita umana è legata alla cooperazione di più specie (cioè alla dipendenza da altri DNA non umani, ed in particolare DNA batterici, che ci assicurano la produzione di alcuni metaboliti essenziali)
 - la difesa della nicchia ecologica è legata alla presenza indispensabile della flora commensale che impedisce la colonizzazione da parte di organismi incompatibili

-  ● *l'uomo vitale quindi è biologicamente una comunità e non un unico individuo caratterizzato da un unico DNA*

-  Tutto ciò ha un riflesso molto importante in medicina: dobbiamo assicurare la salute a tutta la comunità e non solo a quella parte della comunità stessa che discende dal DNA umano
- Senza la salute di tutta la comunità si perde anche la salute dell'uomo; es.: la distruzione della flora batterica intestinale in caso di uso di antibiotici a largo spettro

17.9.1. INFEZIONI OPPORTUNISTICHE

-  Vi sono microrganismi molto diffusi normalmente poco o nulla patogeni perché non sono in grado di provocare infezioni attive nei tessuti normali (scarsa virulenza)

Una breccia nei normali meccanismi di difesa, come un trauma, una ferita chirurgica, il punto di inserzione di un ago o di una cannula, l'impianto di un corpo estraneo come un'articolazione artificiale, possono facilitare infezioni causate da microrganismi altrimenti scarsamente virulenti (**infezioni opportunistiche**)

Altra causa predisponente è una **immunodeficienza** congenita od acquisita

Meccanismi protettivi prodotti dalla flora commensale

Tabella 17.25: Meccanismi attraverso i quali la flora commensale normale impedisce l'azione di batteri potenzialmente patogeni

Competizione per sostanze nutritive

Competizione per recettori cellulari di superficie

occupazione fisica dei siti necessari per l'ancoraggio dei batteri, evento necessario per l'induzione della moltiplicazione di molti patogeni

Produzione di batteriocine

batteriocine: sostanze che inibiscono la crescita di altri batteri

- es.: lo *Streptococcus mutans* presente nell'orofaringe, produce una batteriocina chiamata viridicina che agisce sugli streptococchi di gruppo A (batteri patogeni)

Stimolazione di anticorpi a reattività crociata (naturali)

antigeni molto diffusi (vedi risposte immunitarie non adattative)

Stimolazione di meccanismi di *clearance*

flora intestinale

Specie commensali prevalenti nell'uomo

Tabella 17.26: Microrganismi predominanti nei vari distretti di un soggetto sano

Cute, canale uditivo esterno	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Corynebacterium spp.</i> <i>Candida spp.</i>
Congiuntiva	Stafilococchi <i>Haemophilus spp.</i>	Difteroidi
Orofaringe	<i>Streptococcus viridans</i> <i>Neisseria spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Fusobacterium spp.</i> Cocchi anaerobi
Intestino crasso	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Clostridium spp.</i> <i>Fusobacterium spp.</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella spp.</i> Stafilococchi Lieviti
Nasofaringe	Stafilococchi Streptococchi (incluso <i>S. pneumoniae</i>)	<i>Haemophilus spp.</i> <i>Neisseria spp.</i>
Tratto uro-genitale inferiore	Stafilococchi Streptococchi Cocchi anaerobi	<i>Corynebacterium spp.</i> Lattobacilli (vagina)

17.10. Fattori che influenzano la qualità dei meccanismi di difesa



Tabella 17.27: Fattori che influenzano la qualità dei meccanismi di difesa

Età	estremi della vita	<p>neonati: ferita ombelicale, barriera emato-encefalica incompleta Incompleta maturazione di vari sistemi</p> <p>età senile: la cute è atrofica e poco elastica, facilmente soggetta ad infezioni. L'anziano può essere disidratato, malnutrito, maggiormente soggetto a malattie che alterano la capacità immunitaria, ed è spesso portatore di poli-patologie ed è poli-trattato</p>
Stato nutrizionale		malnutrizione proteica e calorica grave nei paesi in via di sviluppo, aggravata da scarsa igiene personale ed ambientale
Fattori genetici		il tipo di decorso clinico della lebbra (lepromatosa o tubercoloide) è associato all'HLA
Malattie che influenzano le difese naturali	diabete mellito	chetoacidosi interferisce con l'attività dei neutrofili lesioni cutanee frequenti, da terapia e da vasculopatia periferica associazione con infezioni rare (otite esterna da <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
	alcolismo	carenze vitaminiche multiple, malnutrizione. Aspirazione del contenuto gastrico nel polmone
	insufficienza renale cronica	emodialisi o dialisi peritoneale
	neoplasie maligne	cachessia, terapia anti-tumorale
	infezioni	infezioni da virus e parassiti: influenza, HIV morbillo
	farmaci	citostatici, antibiotici, anti-acidi

17.11. Risposta non-adattativa dell'ospite all'infezione



● Citochine

- le citochine rilasciate dai macrofagi agiscono sull'endotelio amplificando la risposta locale all'infezione (risposta infiammatoria)
- piccole proteine chiamate **chemochine** reclutano nuovi fagociti nei siti di infezione localizzata
- le citochine rilasciate dai macrofagi attivano anche la risposta di fase acuta migliorando la reattività dell'ospite

● Interferoni

- gli interferoni inibiscono la replicazione virale ed attivano risposte difensive sistemiche dell'ospite

● Risposte cellulari

- le cellule **natural killer** servono come una difesa precoce contro alcune infezioni intra-cellulari
- nella maggior parte degli epitelii si trovano cellule T che presentano i recettori **T $\gamma\delta$** che contribuiscono alla difesa dell'ospite alla superficie del corpo
- le **cellule B1** formano una popolazione separata di cellule B che producono anticorpi contro prodotti batterici comuni

17.11.1. LIPOPOLISACCARIDE E PRODUZIONE DI MONOCINE

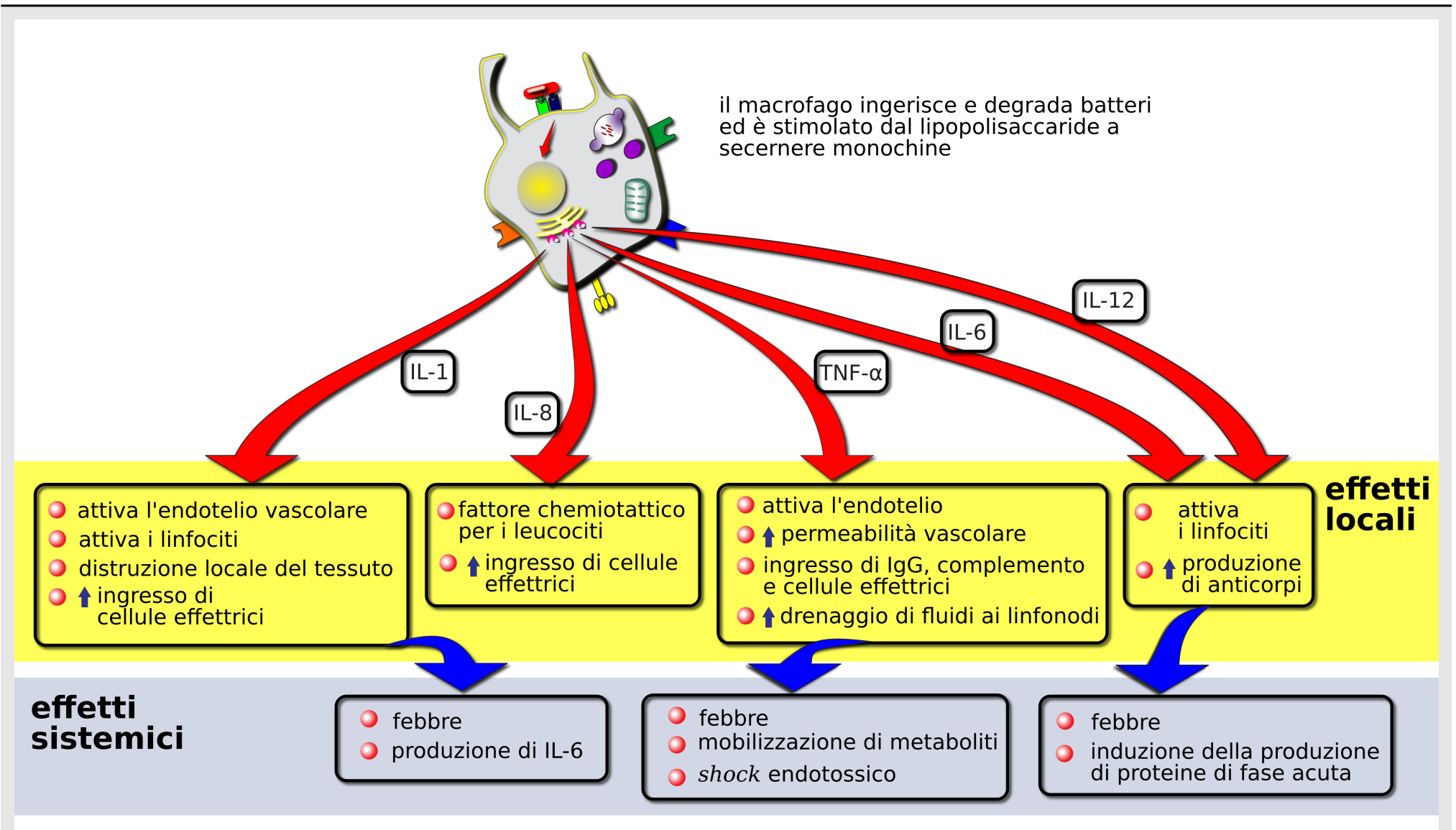


Figura 17.8. Produzione di monochine (i.e. citochine prodotte dai macrofagi). Sono indicate solo alcune citochine macrofagiche



Le monochine (citochine prodotte dai macrofagi) più importanti secrete in risposta a prodotti batterici includono:

IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 e TNF- α

- TNF- α è un induttore della risposta infiammatoria locale che aiuta a contenere le infezioni
- TNF- α ha inoltre effetti sistemici, molti dei quali sono dannosi
- IL-6, IL-12 e IL-1 giocano un ruolo critico nell'indurre la risposta di fase acuta nel fegato
- IL-1 e IL-6 inducono febbre
- IL-8 è particolarmente importante nel dirigere la migrazione dei neutrofili verso i siti di infezione.

La febbre



Un aumento di temperatura accelera tutte le reazioni metaboliche, inclusi i meccanismi di difesa

La temperatura è un fattore critico nella replicazione sia di batteri che di virus patogeni, la maggior parte dei quali si replica male a temperature differenti da 37°C

17.11.2. LA RISPOSTA DI FASE ACUTA INDOTTA DALLA INTERLEUCHINA IL-6



Le proteine di fase acuta prodotte dalle cellule epatiche in risposta al rilascio di IL-6 da parte dei macrofagi in presenza di batteri includono:

- la proteina amiloide sierica (*serum amyloid protein, SAP*)
- la proteina C-reattiva (*C-reactive protein, CRP*)
- la proteina legante il mannosio (*mannose-binding protein, MBP*)
- il fibrinogeno

La mannose binding protein e la proteina C reattiva

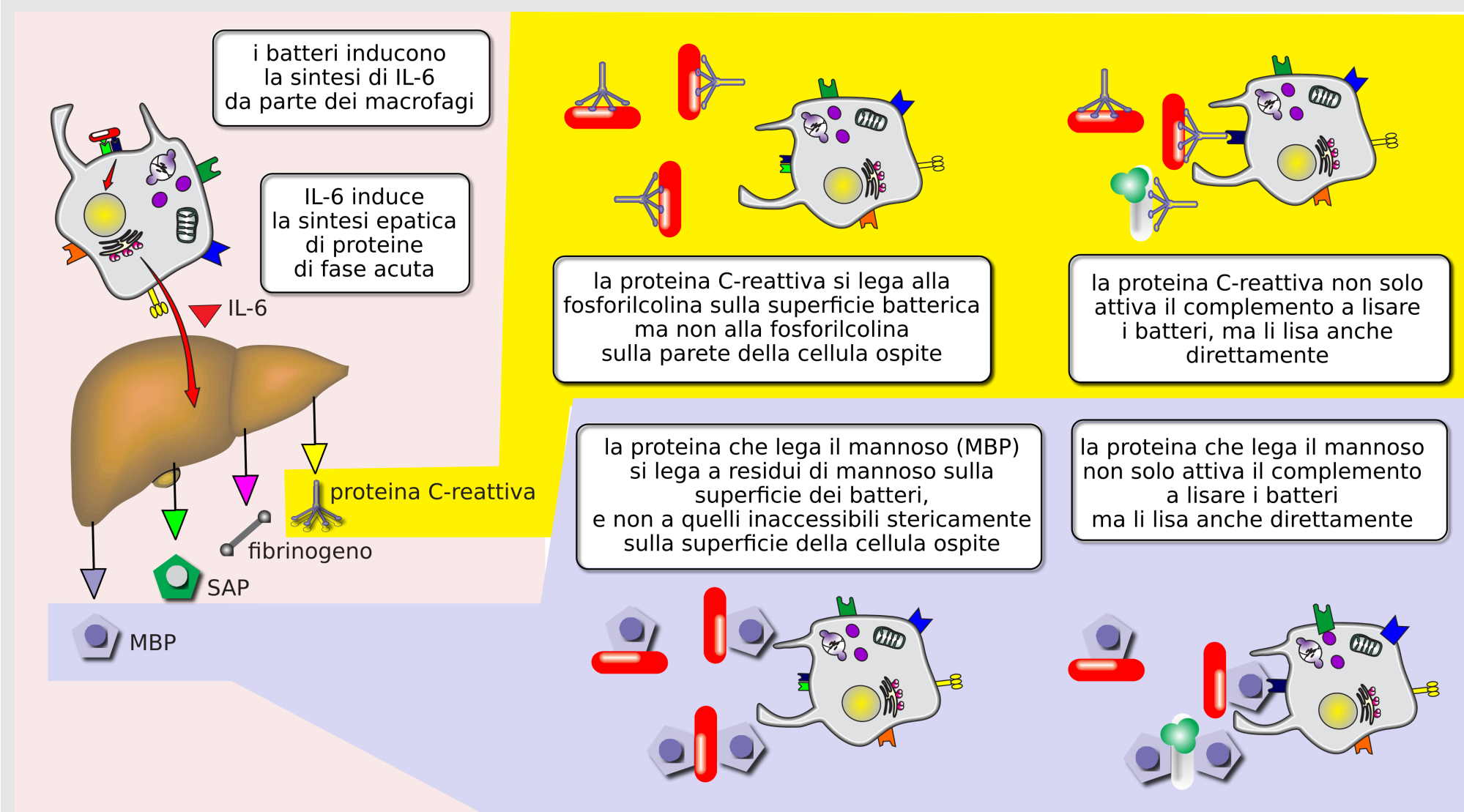


Figura.17.9. L'interleuchina IL-6 ed alcune proteine di fase acuta: qui sono illustrati i meccanismi d'azione di due proteine: la proteina C reattiva e la proteina legante il mannosio (mannose-binding protein, MBP); SAP: serum amyloid precursor

17.11.3. INTERFERONI ED INFEZIONI VIRALI


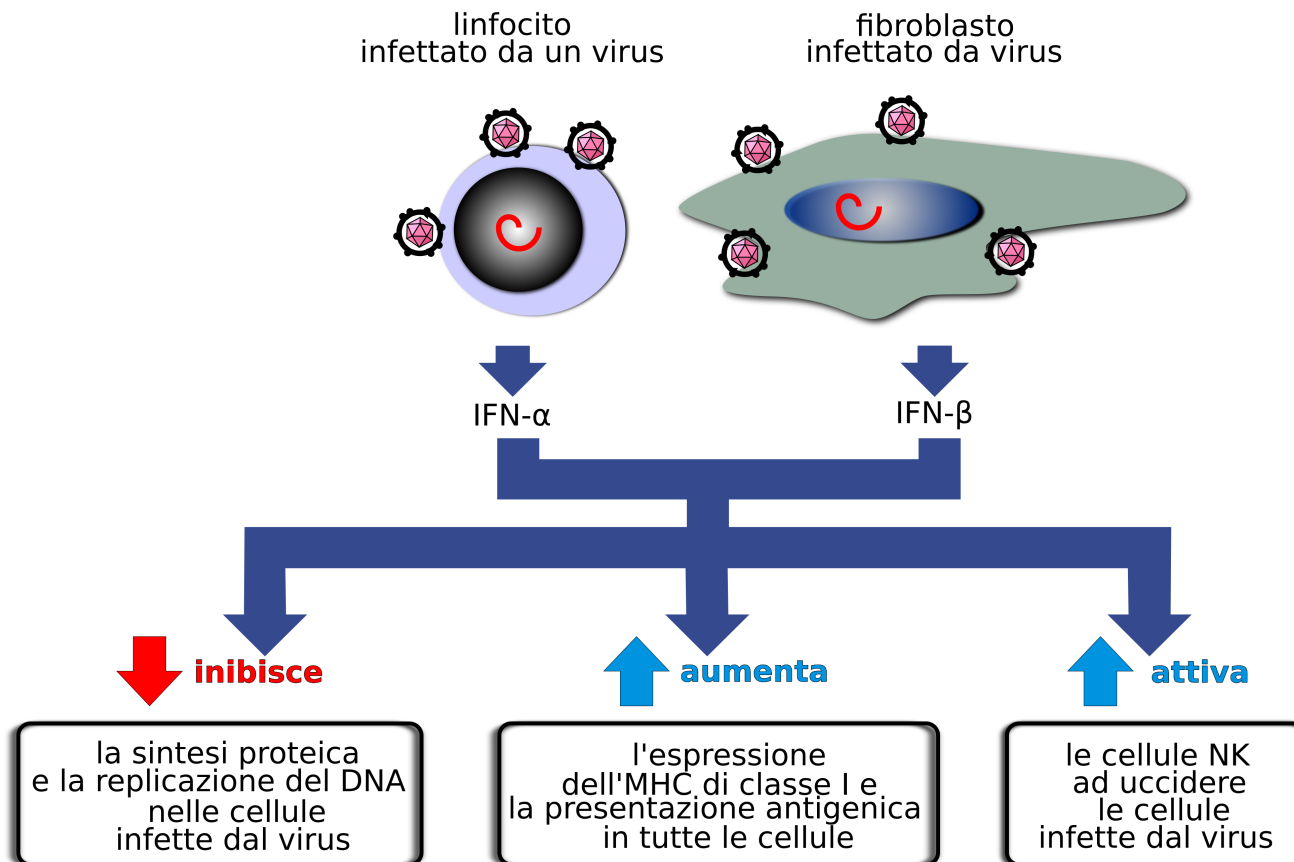




 Gli interferoni sono stati inizialmente individuati come proteine antivirali prodotte dai leucociti e dai fibroblasti in risposta ad una infezione virale

Figura 17.10. Interferoni





- Gli interferoni α e β compaiono per primi seguiti da una ondata di cellule *natural killer* (NK), e insieme controllano la replicazione virale, senza però eliminare il virus
- L'eliminazione del virus si realizza quando si producono le cellule T CD8⁺ specifiche. Senza cellule NK, i livelli di certi virus sono molto più alti nei primi giorni dell'infezione

17.12. Meccanismi dell'interazione ospite-virus

-  I virus da un punto di vista evolutivo discendono dal DNA dell'ospite, da qui la loro ampia specie-specificità
Possono essere considerati una degenerazione dei normali meccanismi di mobilità del DNA (es.: trasposoni)
-  I virus sono dei microrganismi intra-cellulari obbligati, che si replicano all'interno della cellula, usando l'apparato di sintesi di acidi nucleici e proteine dell'ospite
-  I virus passando di cellula in cellula trasportano materiale genetico provocando variazioni nel genoma della cellula ospite
-  I virus omospecifici possono essere:
 - sempre patogeni (anche se a patogenicità variabile, spesso legata a fattori genetici)
 - mai patogeni
 - patogeni solo in individui immuno-depressi

17.12.1. TROPISMO DEI VIRUS

-  Recettori molti virus entrano nelle cellule legandosi a normali molecole di superficie, che variano da specie a specie e da cellula a cellula
-  Capacità di replicarsi solo in dati tipi cellulari es.: il papova virus JC, che causa leuco-encefalopatia, è ristretto alla oligodendroglioma nel sistema nervoso centrale, perché le sequenze *promoter* ed *enhancer* del DNA virale sono attive nelle cellule gliali e non nei neuroni o nelle cellule endoteliali

17.12.2. ESEMPI DI RECETTORI UTILIZZATI DAI VIRUS


 I virus entrano nelle cellule sfruttando recettori cellulari con funzioni biologiche diverse
Alcuni virus sono in grado di passare da cellula a cellula attraverso la fusione delle membrane cellulari, creando dei sincizi

Tabella 17.28: Esempi di recettori per virus umani

Virus	recettore cellulare
HIV-1 (<i>human immunodeficiency virus type 1</i>)	antigene CD4 presente sui linfociti T
EBV (Epstein Barr virus)	recettore per il complemento di tipo 2 (CR2) presente sui linfociti B umani
Rinovirus	molecola di adesione inter-cellulare ICAM-1 (<i>inter cellular adhesion molecule</i>) espressa su cellule epiteliali, compreso l'epitelio delle vie aeree
Virus della rabbia	recettore per l'acetilcolina sui neuroni, presente in varie specie: ed infatti questo virus ha ospiti di specie diverse

17.12.3. MECCANISMI DI UCCISIONE CELLULARE DA PARTE DEI VIRUS



I virus possono uccidere la cellula che infettano:

- danneggiandola direttamente
- provocando danni che inducono l'apoptosi della cellula stessa
- inducendo risposte citotociche da parte dei sistemi di difesa dell'ospite

Tabella 17.29: Meccanismi citopatologici virus-diretti

Inibizione delle sintesi macromolecolari

Inibizione selettiva delle sintesi macromolecolari della cellula ospite

- es.: il poliovirus inattiva la proteina che si lega al *cap*, la quale è essenziale per la sintesi proteica diretta dagli mRNA *capped* (con una estremità ripiegata su sé stessa a formare un piccolo tratto a doppia elica) della cellula ospite, permettendo però la sintesi proteica diretta dagli mRNA del poliovirus che sono *non-capped*

Inserzione di proteine virali nella membrana plasmatica

proteine virali inserite nella membrana plasmatica della cellula ospite possono danneggiare direttamente la membrana stessa e/o promuovere la fusione delle membrane di cellule adiacenti con la creazione di cellule giganti

- es.: citomegalovirus, HIV, virus del morbillo, e virus erpetici

Lisi cellulare

virus si replicano efficientemente e lisano la cellula ospite:

- es.: epatociti infettati dal virus della febbre gialla, neuroni infettati da poliovirus

Infezioni lente

le infezioni lente culminano in malattie severe e progressive dopo lunghi periodi di latenza biologica o clinica

sono dovute ad un equilibrio virus-ospite solo lievemente spostato a favore del virus

- es.: la panencefalite sclerosante subacuta causata dal virus del morbillo

Tabella 17.30: Danni indiretti indotti da virus

Attacco da parte dei linfociti dell'ospite

Il danno cellulare è una conseguenza diretta della risposta immune fisiologica al virus

Le cellule infettate vengono riconosciute e lisate da CTL (*cytotoxic T lymphocytes*) specifici per gli antigeni virali espressi sulla superficie cellulare

- es.: epatociti infettati con HBV, *hepatitis B virus*

proteine virali rilasciate nel liquido interstiziale possono anche provocare la comparsa di una ipersensibilità ritardata (*delayed type hyper-sensitivity*, DTH)

Danno a cellule implicate nelle difese anti-microbiche

danni indotti da virus a queste cellule conducono ad infezioni secondarie

- es.: un danno virale all'epitelio respiratorio favorisce una susseguente polmonite causata da pneumococco od *Haemophilus*
- es.: HIV riduce il numero di cellule CD4⁺ *helper*, che normalmente bloccano le infezioni opportunistiche

L'uccisione di un tipo cellulare causa la morte di un altro


- es.: la degenerazione delle cellule muscolari denervate da un attacco del poliovirus ai motoneuroni


Trasformazione neoplastica




alcuni virus inducono trasformazione neoplastica della cellula ospite

- es.: HTLV-1 (*human T-cell lymphotropic virus*): leucemia
- es.: *human papilloma virus*: papilomi e carcinomi
- es.: virus di Epstein Barr: carcinoma nasofaringeo, linfoma di Burkitt

17.13. Immunità innata contro i virus

-  La principale sorgente di immunità innata ai virus è rappresentata dalla mancanza di compatibilità di specie:
- incompatibilità dei recettori
 - incompatibilità di sequenza nei casi in cui è richiesta l'inserzione nel DNA dell'ospite
 - incompatibilità di substrato per gli enzimi virus indotti

 Nel caso in cui il virus sia specie compatibile con l'uomo i principali mezzi di difesa innata sono:

-  **Interferone** L'infezione virale stimola direttamente la produzione da parte delle cellule infettate di interferone, la cui funzione è quella di inibire la replicazione virale nelle cellule vicine (azione paracrina)
-  **Cellule *natural killer*** Le cellule NK sono in grado di lisare una vasta gamma di cellule infettate da virus riconoscendo una diversità del *self* sulla superficie cellulare
-  **Complemento e fagocitosi** Eliminano i virioni dagli spazi inter-cellulari e dal circolo generale

17.13.1. EFFETTI INTRA-CELLULARI DEGLI INTERFERONI NELLE INFEZIONI VIRALI

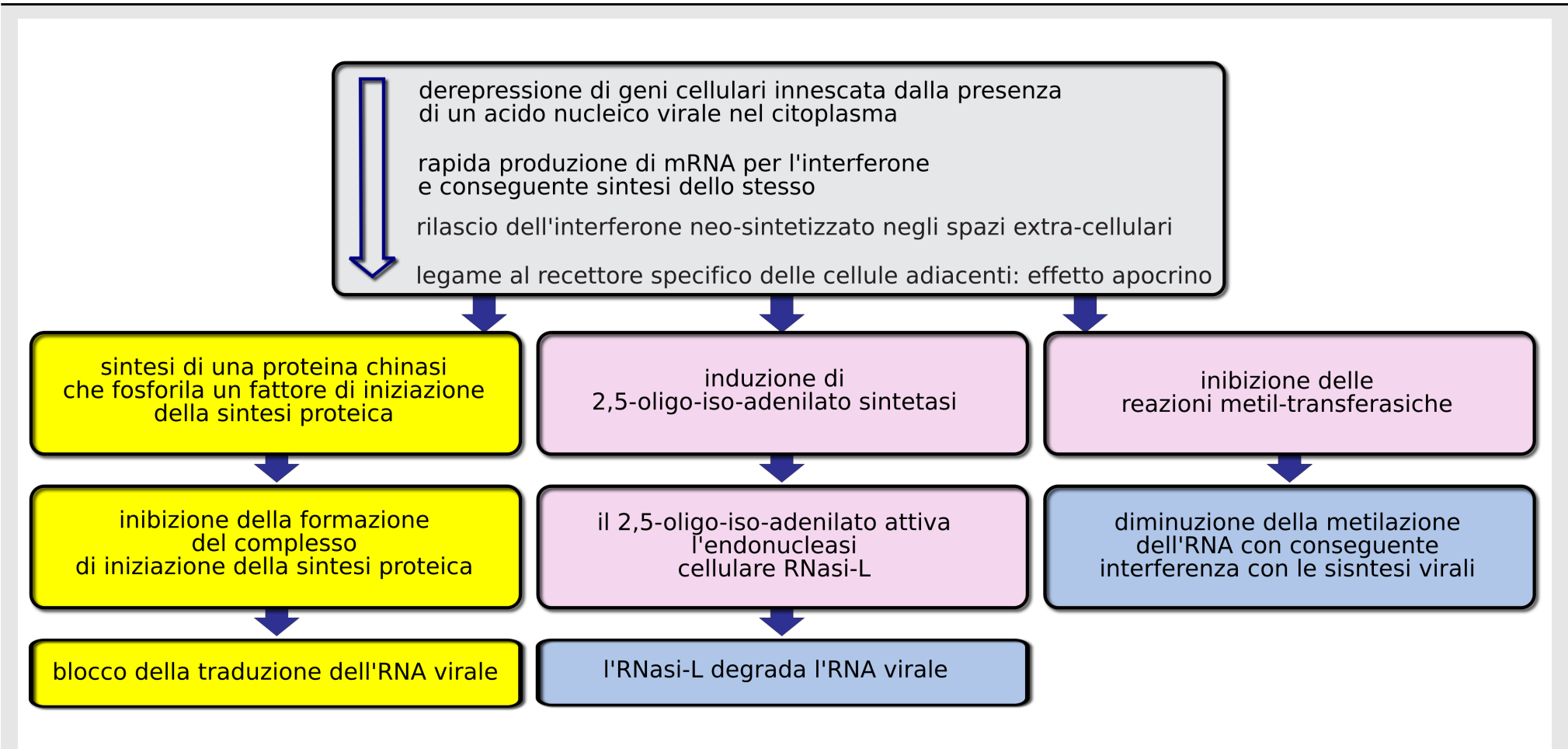



Figura 17.11. Effetti intra-cellulari degli interferoni. I vari effetti molecolari descritti portano a:

- inibizione della replicazione cellulare
- aumento del potenziale litico delle cellule NK
- modulazione dell'espressione delle molecole del MHC


17.14. Risposte immuni specifiche ai virus (immunità adattativa)

 L'immunità antivirale specifica adattativa è mediata da una combinazione di meccanismi umorali e cellulari


17.14.1. ANTICORPI

 Gli anticorpi specifici sono importanti nella difesa contro i virus durante le prime fasi dell'infezione quando il virus è ancora a localizzazione extra-cellulare


- gli anticorpi neutralizzanti rivolti verso il virus si legano alle proteine del capsido o del pericapsido virale, prevenendone l'adesione alla superficie cellulare e quindi l'entrata nelle cellule
- gli anticorpi opsonizzanti possono potenziare l'eliminazione delle particelle virali per fagocitosi
- le IgA sono importanti per la neutralizzazione dei virus che si diffondono per via respiratoria o digerente (vaccino anti-poliomielite)
- Il complemento legato al complesso antigene-anticorpo opsonizza e a volte lisa involucri virali contenenti lipidi

 Gli anticorpi possono favorire l'invasione da parte del virus di cellule che recano il recettore per l'Fc (HIV e macrofagi)

17.14.2. LINFOCITI T CITOTOSSICI (*CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES, CTL*)

 Per una corretta reazione CTL (*cytotoxic T lymphocytes*, linfociti T citotossici) è necessaria una cooperazione tra linfociti CD4⁺ e CD8⁺

- cellule CD8⁺ riconoscono antigeni virali sintetizzati endogenamente in associazione a molecole MHC di classe I su tutti i tipi cellulari
- cellule CD4⁺ riconoscono antigeni virali in associazione con antigeni MHC di classe II
- il differenziamento completo delle cellule CD8⁺ richiede l'intervento delle cellule *helper* CD4⁺

 L'effetto antivirale dei CTL è dovuto alla lisi delle cellule infettate, all'attivazione degli enzimi endo-cellulari (endonucleasi) che provocano la degradazione del genoma virale ed alla secrezione di citochine ad attività interferone

- in alcune infezioni da virus non dotati di attività citopatica, i CTL possono essere i soli responsabili del danno tissutale: LCMV (*lymphocytic choriomeningitis virus*)

17.14.3. EVASIONE DELLA RISPOSTA IMMUNE DA PARTE DEI VIRUS



Variabilità antigenica

È stato identificato in più casi un gran numero di ceppi dello stesso virus dalle diverse caratteristiche sierologiche:

- es.: le grandi epidemie influenzali verificatesi nel 1917, nel 1957 e nel 1968 erano, ad esempio, dovute a ceppi differenti di virus, ma varianti più limitate si originano ancora più frequentemente

Di conseguenza i virus diventano insensibili o meno sensibili all'immunità creata nella popolazione da una precedente infezione in funzione dell'importanza della variazione strutturale (antigenica)






Soppressione della risposta immune

Una soppressione della funzione immunitaria è presente nel corso di infezioni da retrovirus, da virus di Epstein Barr (EBV) e da numerosi altri virus



- es.: è stato osservato recentemente che un gene dell'EBV è omologo al gene che nei mammiferi codifica per una citochina denominata CSIF (*cytokine synthesis inhibitory factor*). Il CSIF inibisce la produzione tra le altre di IL-2 e IFN- γ

I virus patogeni possono pertanto contenere, o avere acquisito nel corso della filogenesi, alcuni geni i cui prodotti inibiscono le risposte immuni anti-virali



17.14.4. EVASIONE DELLA RISPOSTA IMMUNE DA PARTE DEL VIRUS DELL'INFLUENZA

-  Un meccanismo dinamico di variazione antigenica si può osservare nel caso del virus dell'influenza. In un determinato periodo di tempo, è lo stesso unico tipo di virus che è responsabile dell'infezione in tutto il mondo
 -  La popolazione umana sviluppa gradualmente un'immunità protettiva contro questo tipo di virus, per lo più sotto forma di anticorpi neutralizzanti diretti contro la principale proteina di superficie del virus dell'influenza, **l'emoagglutinina**
 -  Poiché l'influenza si diffonde così velocemente, finirebbe per esaurire tutti i possibili ospiti se non potesse cambiare il proprio tipo antigenico. Il virus dell'influenza può infettare lo stesso soggetto molte volte modificando i propri antigeni di superficie secondo due modalità distinte:
 - **deriva antigenica**
 - **variazione antigenica**
-

Deriva antigenica

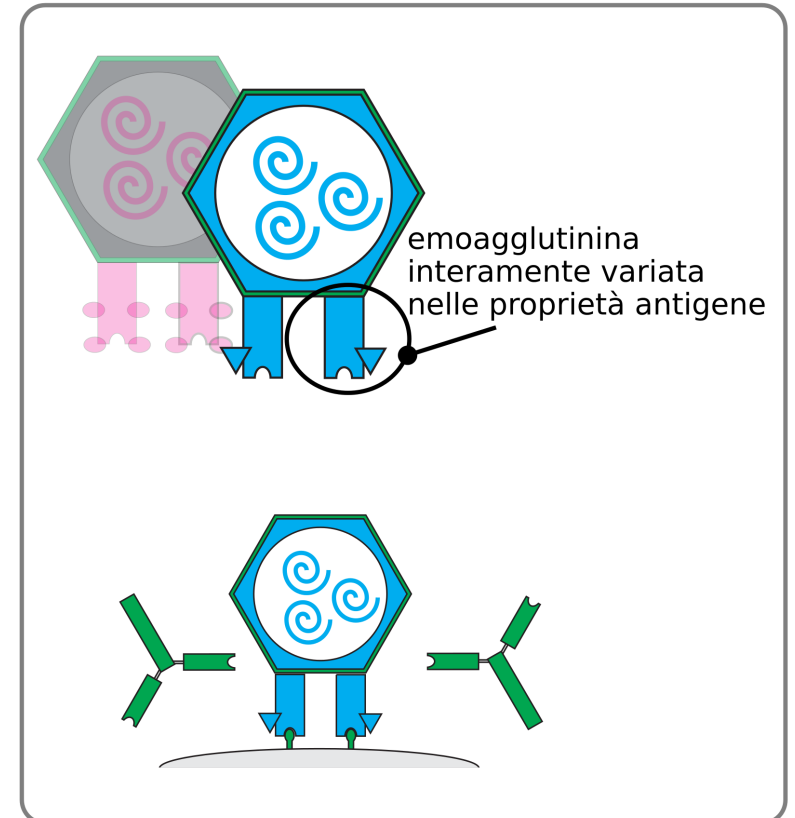
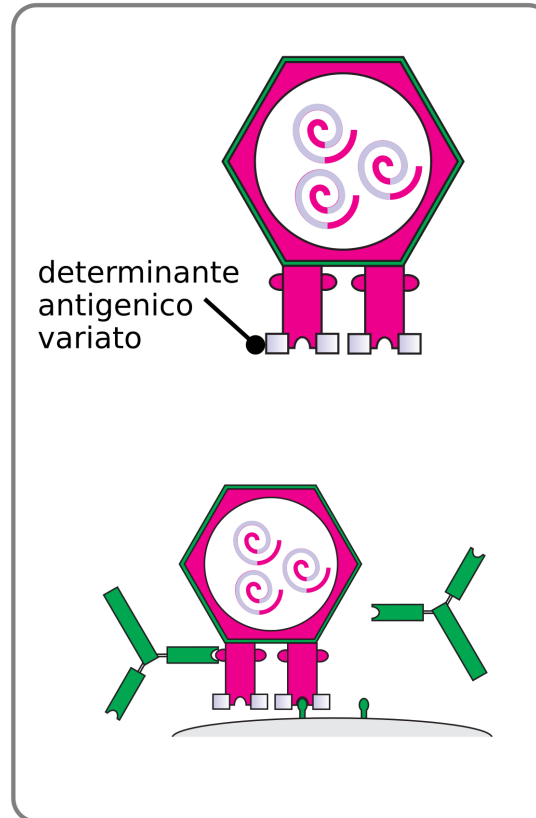
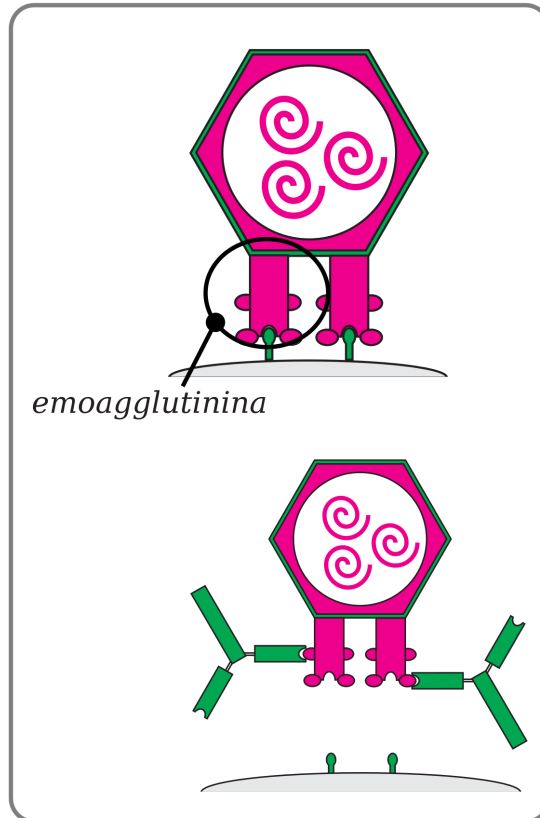
-  La deriva antigenica (*antigenic drift*) è causata da mutazioni puntiformi nei geni che codificano per l'emoagglutinina e per una seconda proteina di superficie, l'enzima neuroamminidasi
 -  Ogni due o tre anni spunta una variante con mutazioni che permettono al virus di evadere la neutralizzazione da parte degli anticorpi presenti nella popolazione, cosicché individui che erano stati precedentemente infettati con la vecchia variante, e quindi immuni ad essa, sono ora suscettibili alla nuova variante
- Questo causa un'epidemia relativamente lieve, perché c'è ancora una debole reattività crociata con gli anticorpi e le cellule T prodotte nel corso della precedente infezione con la vecchia variante del virus, reattività che offre alla popolazione un sia pur basso livello di immunità
-

Variazione antigenica

-  Le principali pandemie di influenza con malattia diffusa e a volte fatale si hanno come risultato di un processo diverso dal precedente, chiamato variazione antigenica (*antigenic shift*)
 -  Questo avviene quando c'è una ricombinazione tra i geni del virus dell'influenza e quelli dei virus correlati di altri ospiti animali. Questo processo di ricombinazione provoca modificazioni importanti nella proteina emoagglutinina sulla superficie del virus
- Il virus che ne risulta è poco o niente riconoscibile dagli anticorpi e dalle cellule T dirette contro la precedente variante; perciò la maggior parte della popolazione è altamente suscettibile al nuovo virus con una conseguente grave infezione
-

deriva antigenica

variazione antigenica



Anticorpi neutralizzanti contro la emoagglutinina bloccano il legame alla cellula

Mutazioni alterano epitopi della emoagglutinina così che gli anticorpi neutralizzanti non si legano più

La variazione antigenica si ha quando vengono scambiati segmenti di DNA tra ceppi virali in un ospite secondario. Nessuna immunità crociata protettiva verso il virus che esprime una nuova emoagglutinina

Figura 17.12. Variazione e deriva antigenica. Liberamente tratto da Janeway (1994)

17.14.5. PERSISTENZA E RIATTIVAZIONE DELL'INFEZIONE CON VIRUS HERPES SIMPLEX

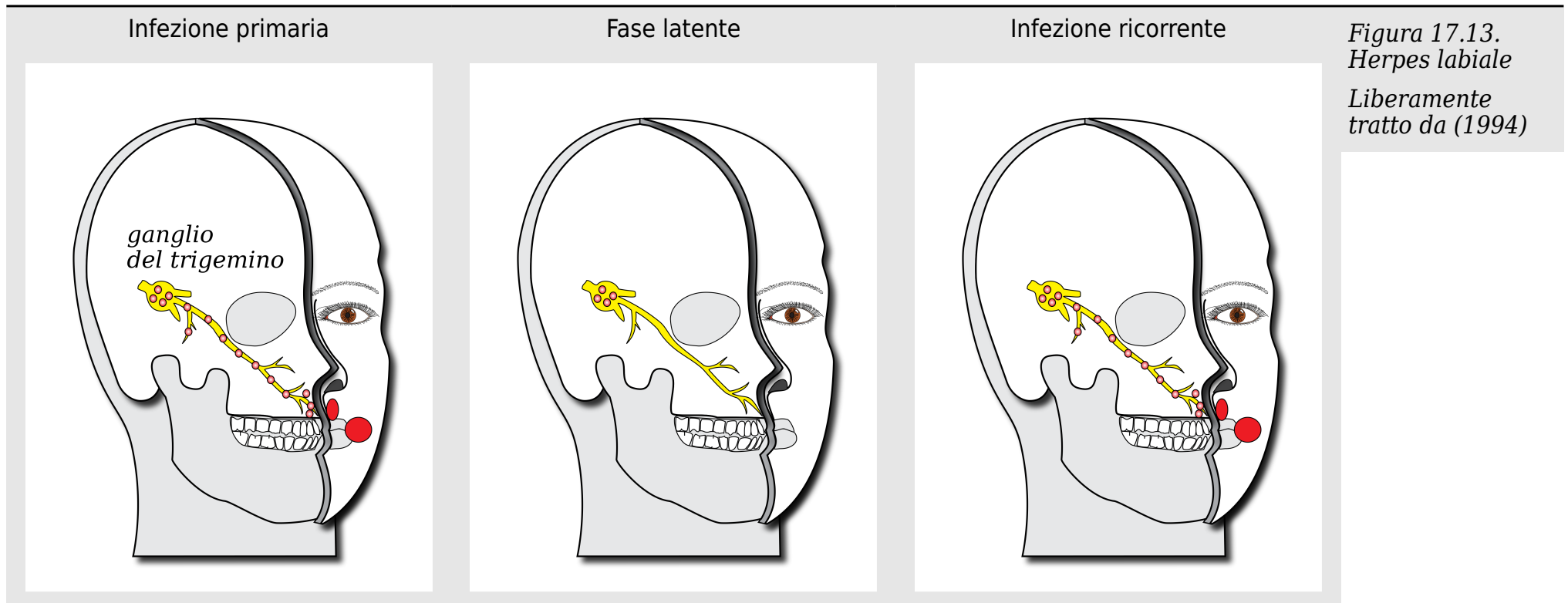





Figura 17.13.
Herpes labiale

Liberamente
tratto da (1994)

- ☞ L'infezione cutanea iniziale viene eliminata dalla risposta immunitaria, ma una infezione residua persiste nei neuroni sensitivi, come quelli del ganglio del trigemino le cui terminazioni innervano le labbra
- ☞ Quando il virus viene riattivato (da *stress* ambientale e/o da un'alterazione dello stato immunitario) la cute nell'area innervata viene re-infettata: nuova lesione cutanea. Il processo si può ripetere molte volte
- ☞ L'**herpes zoster** (varicella) può diventare latente nei gangli delle radici dorsali dopo l'infezione iniziale, e può essere riattivato a causare il "fuoco di Sant'Antonio", una eruzione a distribuzione metamERICA. La riattivazione dell'herpes simplex è frequente, mentre l'herpes zoster si riattiva solo una volta nella vita


17.14.6. IMMUNITÀ PROTETTIVA NEI CONFRONTI DI VIRUS

-  L'immunità protettiva nei confronti dei virus opera a due livelli distinti:
- nella fase iniziale dell'infezione, prima cioè che il virus abbia invaso le cellule dell'ospite
 - dopo l'invasione cellulare, quando il virus è divenuto inaccessibile a cellule e anticorpi
- Quest'ultima è una difesa più difficile e costosa per l'ospite e che comporta sempre un danno
-  Una volta entrato nel compartimento intra-cellulare il virus può infettare cellule adiacenti passando direttamente da una cellula all'altra, senza quindi divenire mai accessibile alla difesa anticorpale
-  Inoltre, dal momento che diversi virus possono infettare molteplici bersagli cellulari, l'immunità antivirale deve essere in grado di agire su differenti popolazioni di cellule infettate

Es.:


- Il **poliovirus** è un enterovirus molto diffuso che normalmente (99%) causa una gastroenterite a cui segue uno stato di immunità protettiva
In rari casi il virus acquisisce neurotropismo, raggiunge il motoneurone α , dove attiva un ciclo litico
Alla morte del motoneurone segue l'atrofia delle cellule muscolari innervate. Il quadro clinico è quello della paralisi flaccida
La protezione da vaccino si ottiene con un ceppo, che, pur dando una gastroenterite, ha perduto definitivamente il neurotropismo; il sistema immunitario risponde ad una infezione con caratteristiche naturali con produzione di IgA che proteggono il vaccinato neutralizzando nel lume un eventuale ceppo patogeno


17.15. Microrganismi intra-cellulari


 Numerosi batteri ed alcuni protozoi oltre a tutti i virus, sopravvivono e si replicano solo in cellule ospite. Due sono le localizzazioni possibili:

- intra-citoplasmatica
- vacuolare

Nel caso di batteri o protozoi, le cellule interessate sono di regola quelle con citoplasma più voluminoso e maggior capacità fagocitaria intrinseca per ragioni fisiche di volume e di sopravvivenza all'inserimento di un corpo relativamente voluminoso: in particolare macrofagi

 La maggior parte dei batteri intra-cellulari patogeni sono resistenti alla degradazione nei macrofagi, e quindi in grado di sopravvivere all'interno dei fagociti: due tra gli esempi più rappresentativi sono i micobatteri e la *Listeria monocytogenes*

 Dal momento che questi batteri sono in grado di ricavarsi una nicchia in cui si rendono inaccessibili all'azione degli anticorpi circolanti, la loro eliminazione richiede l'intervento di meccanismi immunitari diversi dai meccanismi di difesa operanti nei confronti dei batteri extra-cellulari

 Anche molti miceti sono in grado di sopravvivere nelle cellule dell'ospite: la difesa contro di essi è mediata da meccanismi simili a quelli operanti nei confronti dei batteri endo-cellulari


Definizione di Batteri endo- ed extra-cellulari

Batteri endo-cellulari: devono parassitare una cellula per potersi replicare


Batteri extra-cellulari: si replicano autonomamente fuori dalle cellule dell'ospite

17.16. Risposte non adattative ai batteri intra-cellulari

17.16.1. FAGOCITOSI



-  Il principale meccanismo di immunità naturale nei confronti dei microrganismi endo-cellulari è la fagocitosi. Tuttavia, i batteri patogeni intra-cellulari sono relativamente resistenti alla degradazione all'interno dei fagociti mononucleati; non è pertanto sorprendente che di solito l'immunità naturale sia pressoché inefficace nel controllarne la diffusione.
- La resistenza alla fagocitosi è anche la ragione per cui tali batteri tendono a provocare infezioni croniche che possono prolungarsi per anni, recidivare frequentemente o andare incontro a recrudescenza dopo un'apparente eradicazione (guarigione clinica, non biologica), e per cui sono molto difficili da stroncare (es.: tubercolosi).

17.16.2. EQUILIBRIO OSPITE-PATOGENO


-  Il rapporto tra batteri endo-cellulari e ospite è caratterizzato da un delicato equilibrio tra scarsa virulenza e difficili difese dell'ospite, equilibrio necessario per la co-evoluzione delle due specie.

17.17. Risposte adattative ai batteri intra-cellulari


17.17.1. IMMUNITÀ CELLULO-MEDIATA

-  La principale risposta protettiva nei confronti dei batteri intra-cellulari è rappresentata dalla immunità cellulo-mediata
-  La risposta immune verso questi batteri è analoga alle reazioni DTH (*delayed type hypersensitivity*, ipersensibilità ritardata o di tipo IV) verso antigeni proteici solubili
Gli antigeni proteici dei batteri intra-cellulari stimolano vigorose risposte da parte dei linfociti T

17.17.2. ADIUVANTI

-  Molti dei microrganismi intra-cellulari contengono nella loro parete componenti che attivano direttamente i macrofagi, funzionando così come **adiuvanti**
 - es.: il muramil-dipeptide, presente nella parete cellulare dei micobatteri

17.17.3. CELLULE CD4⁺ E CELLULE CD8⁺

 Sia le cellule CD4⁺ che le cellule CD8⁺ contribuiscono all'immunità protettiva nei confronti dei batteri endocellulari


Le due sotto-popolazioni T riconoscono probabilmente tipi diversi di antigeni

- es.: nelle infezioni da micobatteri, antigeni come il PPD (*protein purified derivative*) stimolano le cellule CD4⁺, che mediano la reazione DTH al test cutaneo con PPD (Mantoux) in soggetti sensibilizzati da una precedente infezione

Le cellule CD8⁺ possono riconoscere antigeni batterici prodotti dalle cellule infettate

La principale funzione di entrambe le sotto-popolazioni cellulari dell'immunità cellulo-mediata è comunque quella di produrre citochine, ed in particolare IFN- γ


17.17.4. INTERFERONE- γ (IFN- γ)

 La produzione di IFN- γ da parte delle cellule T specifiche porta all'attivazione dei macrofagi, compresi quelli infettati


L'IFN- γ stimola le funzioni fagocitiche e degradative dei macrofagi, potenziando l'attività battericida

A seguito dell'attivazione macrofagica, il numero di batteri vivi all'interno delle cellule può essere drasticamente ridotto, e a volte l'infezione viene completamente eradicata


17.17.5. RESISTENZA


 I microrganismi intra-cellulari hanno evoluto mezzi di resistenza ai fagociti, che permettono loro di resistere per lunghi periodi, anche in soggetti dotati di una normale risposta immunitaria adattativa

17.17.6. FLOGOSI CRONICHE E GRANULOMI

 La persistenza dei microrganismi fornisce una sorgente di stimolazione antigenica cronica
Questo fenomeno può portare all'accumulo localizzato di macrofagi attivati, con la formazione di un granuloma
Il granuloma è una struttura che tende a circoscrivere i microrganismi impedendone la disseminazione
La caratteristica istologica saliente di molte infezioni micobatteriche e fungine è proprio la presenza di granulomi
Questo tipo di infiammazione si accompagna spesso a necrosi tissutale e fibrosi anche imponente, con conseguente menomazione funzionale

17.17.7. PATOGENESI DEL DANNO TISSUTALE

 Nel corso delle infezioni da parte di alcuni batteri intra-cellulari, la risposta immune dell'ospite è la principale causa del danno tissutale e della malattia

 Nel caso di micobatteri

- i micobatteri non producono alcuna tossina nota, né enzimi che danneggino direttamente i tessuti infettati
- la prima esposizione a *Mycobacterium tuberculosis* induce un'inflammatione cellulare locale, ed i batteri iniziano a proliferare nei fagociti, all'interno dei quali possono morire o rimanere in uno stato di quiescenza
- nel frattempo, l'individuo sviluppa una risposta immune adattativa specifica
- dopo l'instaurazione di uno stato di immunità, possono verificarsi gravi reazioni granulomatose nei siti di persistenza dei micobatteri, o a seguito di successive esposizioni ad essi

L'immunità protettiva e la reazione di ipersensibilità responsabile del danno dei tessuti autologhi sono quindi due facce della stessa medaglia

Definizioni

Gli adiuvanti sono sostanze che modificano la presentazione di un antigene rendendolo più immunogeno: ad es. allume, etc.

I granulomi sono neoformazioni di tessuto formati essenzialmente da cellule infiammatorie e da loro derivati. Generalmente sono associati alla persistenza in loco della noxa patogena per un periodo di tempo prolungato

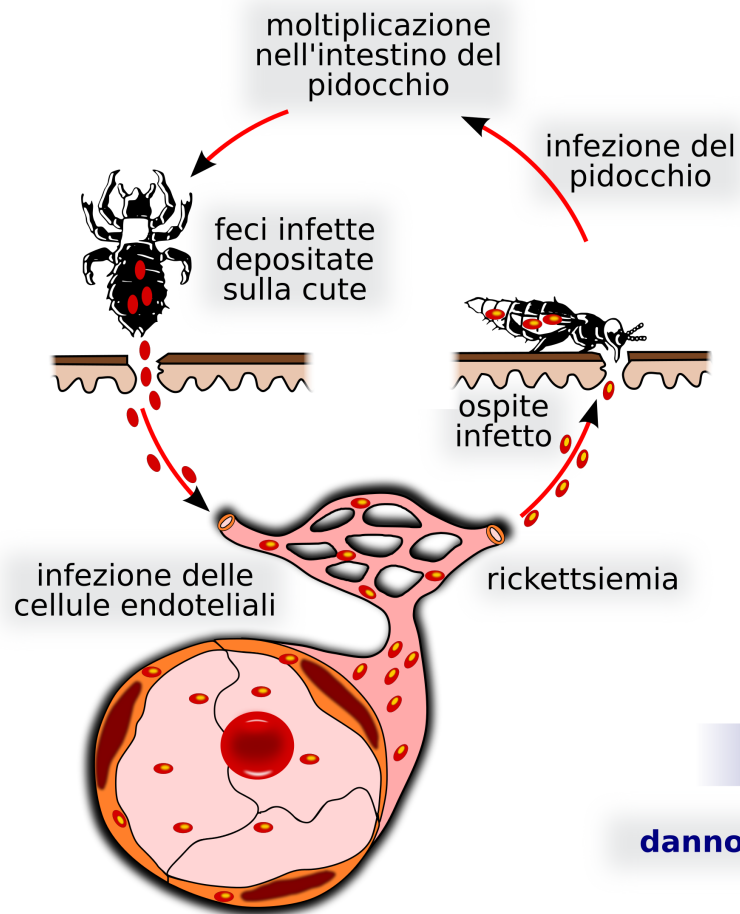
17.17.8. EVASIONE DELLA RISPOSTA IMMUNE DA PARTE DEI BATTERI INTRA-CELLULARI



La capacità di resistere all'eliminazione da parte dei fagociti costituisce un importante meccanismo per la sopravvivenza dei batteri intra-cellulari

- i micobatteri raggiungono questo scopo grazie all'inibizione della formazione di fago-lisosomi, interferendo forse con il trasporto dei lisosomi
- il glicolipide fenolico del *Mycobacterium leprae* funziona come *scavenger* (spazzino) dei radicali dell'ossigeno
- i ceppi virulenti di *Listeria monocytogenes* producono una proteina chiamata emolisina, che crea dei pori nella membrana dei fagosomi, causando il rilascio dei batteri direttamente nel citoplasma e prevenendone quindi la degradazione
L'emolisina può anche bloccare la processazione dell'antigene da parte dei macrofagi, inibendo la risposta specifica T
- ceppi mutanti di *Legionella pneumophila* (batterio intra-cellulare che provoca l'insorgenza della cosiddetta "malattia del legionario") privi della capacità di inibire la fusione dei fago-lisosomi perdono anche la virulenza

17.17.9. TIFO PETECCHIALE



danno al microcircolo

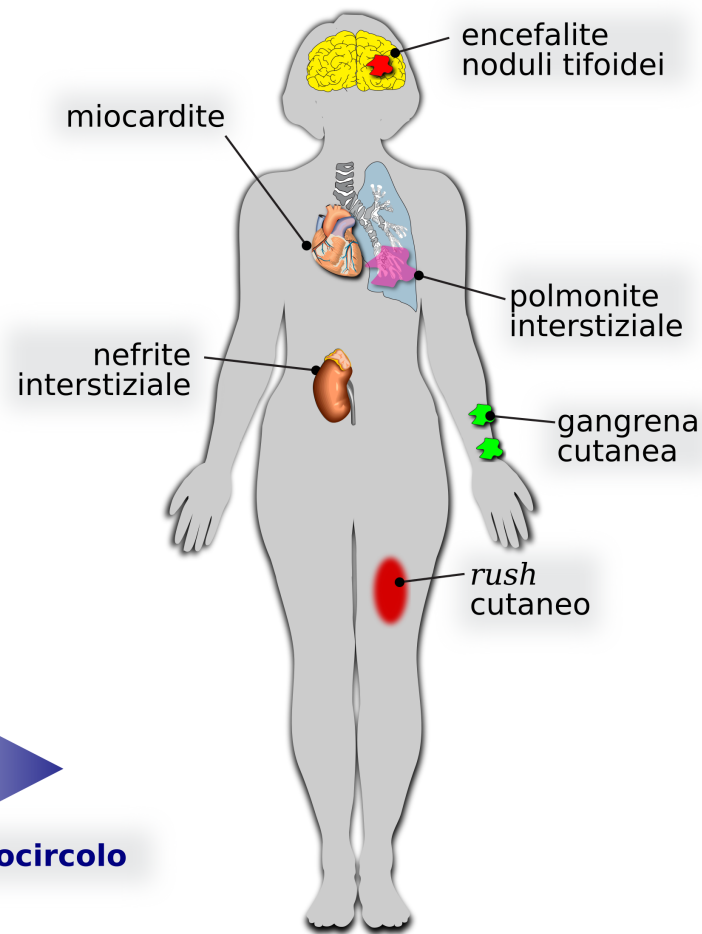



Figura 17.14. Tifo petecchiale. Liberamente tratto da Rubin (1994)

Il tifo petecchiale uccise milioni di soldati durante la prima guerra mondiale

L'agente eziologico è la *Rickettsia prowazekii*






L'agente che trasmette è il pidocchio (*Pediculus corporis*)

Patogenesi del tifo petecchiale


 Il tifo petecchiale (trasmesso dal pidocchio) è causato dalla *Rickettsia prowazekii* che possiede un ciclo uomo-pidocchio-uomo

- il microrganismo si moltiplica nelle cellule endoteliali, le quali si distaccano, si rompono e rilasciano i microrganismi nel circolo sanguigno (rickettsiemia)
- un pidocchio che si nutre con un pasto di sangue si infetta con le rickettsie, le quali entrano nelle cellule epiteliali del suo intestino, si moltiplicano e rompono le cellule, causando così il rilascio di rickettsie nel lume intestinale del pidocchio
- le feci contaminate vengono deposte sulla cute o sui vestiti di un altro ospite e penetrano attraverso un'abrasione. Le rickettsie poi penetrano nelle cellule endoteliali, si moltiplicano e rompono le cellule, completando quindi il ciclo

17.18. Batteri extra-cellulari


-  I batteri extra-cellulari sono in grado di replicarsi all'esterno delle cellule, cioè nel circolo ematico, nei tessuti connettivali, ed in vari spazi extra-tissutali come le vie aeree od il lume intestinale
-  Possono essere a volte anche intra-cellulari facoltativi (possono vivere dentro le cellule ma sono in grado di replicarsi anche all'esterno)
-  Esempi di questi batteri sono:
 - cocchi Gram-positivi piogeni (stafilococchi, streptococchi)
 - bacilli Gram-positivi (*Clostridia*)
 - cocchi Gram-negativi (*Neisseriae*)
 - bacilli Gram-negativi (enterobatteri)
-  I batteri extra-cellulari causano malattia essenzialmente attraverso due meccanismi
 - induzione di un **processo infiammatorio** con conseguente distruzione dei tessuti sede di infezione (ad es. i cocchi piogeni sono causa di numerose comunissime infezioni suppurative nell'uomo)
 - **produzione di tossine**. Si possono distinguere due categorie principali di tossine: endotossine (componenti della parete batterica) ed esotossine (molecole prodotte dai batteri, di solito enzimi), rilasciati durante la vita del batterio od a seguito di lisi cellulare batterica
-  Le risposte immuni contro i batteri extra-cellulari sono volte ad eliminare i batteri ed a neutralizzare gli effetti delle tossine da essi prodotte

17.19. Immunità naturale verso i batteri extra-cellulari

 I principali meccanismi dell'immunità naturale verso i batteri extra-cellulari sono:


- fagocitosi (il più importante)
- attivazione del complemento in assenza di anticorpi
- citochine

Fagocitosi


 I batteri extra-cellulari vengono rapidamente uccisi dall'apparato microbicida dei fagociti dopo fagocitosi da parte dei neutrofilo, dei monociti e dei macrofagi tissutali

La resistenza eventuale dei batteri alla fagocitosi ed alla uccisione e distruzione da parte dei fagociti rappresenta di converso un fattore molto importante di virulenza

Attivazione del complemento in assenza di anticorpi


 La parete cellulare dei batteri Gram-positivi contiene un peptidoglicano in grado di attivare la via alternativa del complemento, promuovendo la generazione della C3 convertasi della via alternativa

- il LPS (lipopolisaccaride) presente nella parete cellulare dei batteri Gram-negativi è uno dei più potenti attivatori della via alternativa del complemento in assenza di anticorpi
- il LPS rappresenta un accettore ottimale per la deposizione di C3b
- in congiunzione con questo accettore C3b è protetto dalla inattivazione da parte del fattore H e del Fattore I
- il LPS può anche legare direttamente C1q, attivando così la via classica del complemento, senza l'intervento di anticorpi

 Il risultato dell'attivazione del complemento è

- la formazione di C3b, che opsonizza i batteri favorendone la fagocitosi
- la formazione del complesso di attacco alla membrana (MAC, *membrane attack component*) che provoca la lisi dei batteri
- la formazione dei prodotti collaterali della attivazione complementare partecipano alla risposta infiammatoria reclutando ed attivando i fagociti

Citochine

 Le endotossine come il LPS stimolano la produzione di citochine da parte dei macrofagi, cellule endoteliali etc. (TNF, IL-1, IL-6, IL-8)

Il recettore macrofagico per il lipopolisaccaride

👉 I macrofagi portano parecchi recettori differenti tra loro in grado di riconoscere componenti microbici e di indurre fagocitosi e rilascio di citochine

La figura illustra il fenomeno per il recettore specifico per il lipopolisaccaride batterico (LPS)

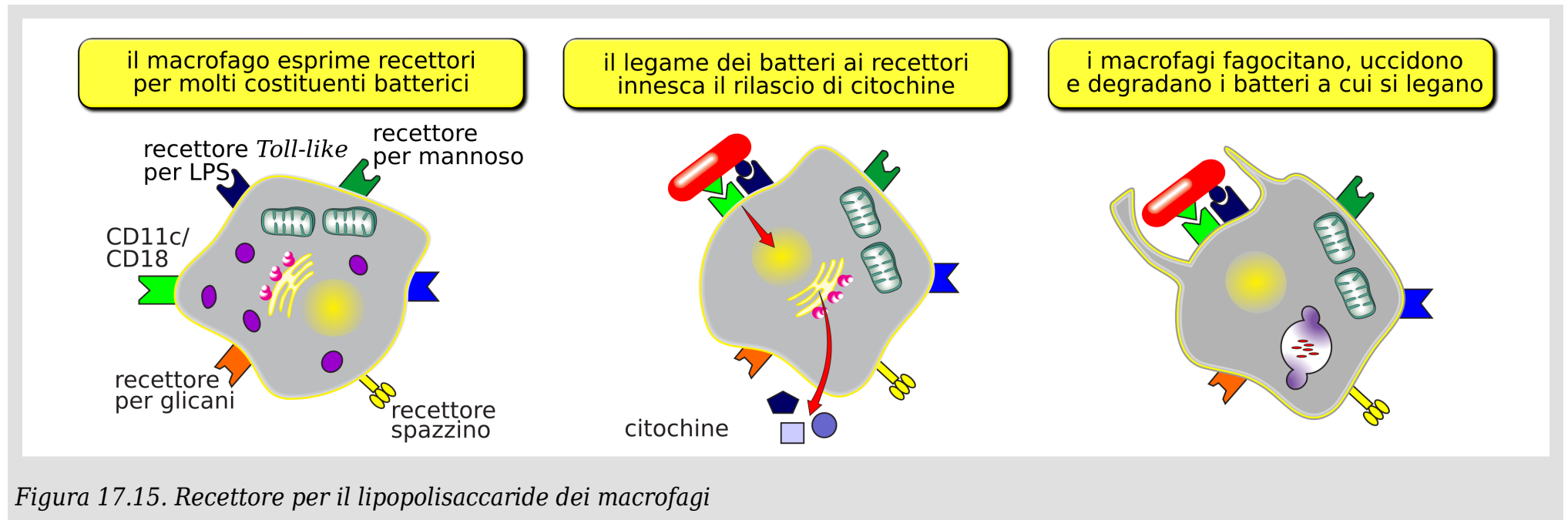






Figura 17.15. Recettore per il lipopolisaccaride dei macrofagi


17.19.1. LE CITOCINE NELLA DIFESA CONTRO I BATTERI EXTRA-CELLULARI


-  Le citochine di derivazione macrofagica stimolano l'infiammazione non specifica, ed il potenziamento dell'attivazione dei linfociti specifici verso gli antigeni batterici

 -  Le citochine sono in grado di promuovere l'adesione di monociti e neutrofilii all'endotelio vascolare nel sito di infiammazione con conseguente migrazione, accumulo locale ed attivazione di queste cellule. Le cellule infiammatorie servono ad eliminare i batteri: il danneggiamento dei tessuti circostanti è un effetto patologico collaterale di questo meccanismo di difesa

 -  Le citochine inducono febbre e stimolano la sintesi delle proteine di fase acuta



 -  Alcune citochine funzionano come co-stimolatori delle cellule B e T, con conseguente amplificazione della risposta adattativa


 -  Una eccessiva produzione di citochine, può essere pericolosa e causare alcune delle manifestazioni cliniche delle malattie da batteri extra-cellulari: la coagulazione intra-vascolare disseminata (CID) e lo *shock* settico

 -  Il *tumor necrosis factor* TNF- α è il principale mediatore dello *shock* da endotossine
-

17.20. Risposte adattative contro i batteri extra-cellulari

17.20.1. RISPOSTA ANTICORPALE

-  L'immunità umorale è la principale risposta immune specifica protettiva nei confronti delle infezioni da batteri extra-cellulari
 -  I polisaccaridi della parete e della capsula sono i prototipi degli antigeni che stimolano direttamente le cellule B, dando luogo ad una risposta anticorpale specifica ad IgM
- A volte può essere indotto anche uno scambio di classe di anticorpi, come nel caso dell'antigene capsulare del pneumococco, verso cui si ha una prevalenza di IgG₂

-  Le funzioni anti batteri extra-cellulari degli anticorpi possono essere elencate come segue:
 - gli anticorpi IgG opsonizzano i batteri e ne favoriscono la fagocitosi
 - sia le IgG che le IgM neutralizzano le tossine batteriche
 - sia le IgG che le IgM attivano il sistema del complemento
 - le IgA neutralizzano batteri e tossine nel lume dei tratti digerente e respiratorio, oltre ad essere anche opsonine

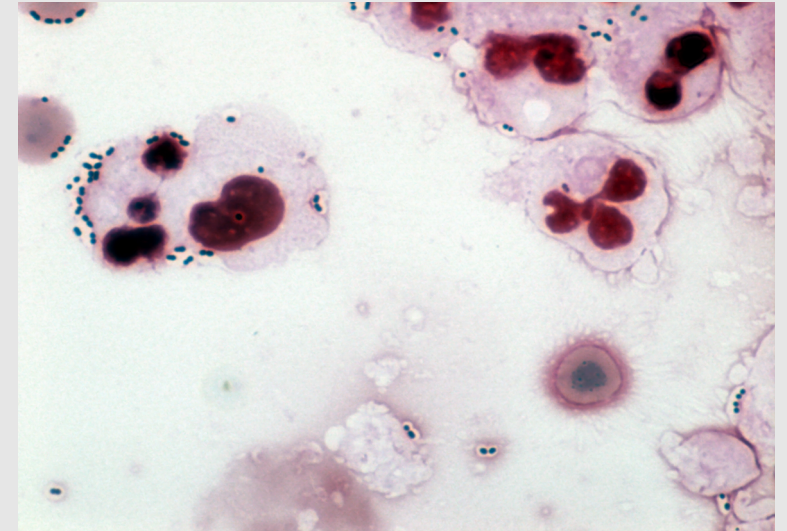






Figura 17.16. *Streptococcus pneumoniae* in liquor. Preparato da Giovanna Testa, AUSL di Rimini

17.20.2. RISPOSTA CELLULO-MEDIATA

-  La principale risposta dei linfociti T ai batteri extra-cellulari consiste in cellule CD4⁺ che rispondono ad antigeni presentati in congiunzione con molecole MHC di classe II
 -  I batteri extra-cellulari ed i loro antigeni solubili vengono fagocitati dalle cellule APC (*antigen presenting cells*); vengono processati, ed i frammenti peptidici vengono presentati sulla superficie per lo più in associazione con molecole MHC di classe II
 -  I linfociti T CD4⁺ funzionano come cellule *helper* nella stimolazione della produzione anticorpale e nell'attivazione delle funzioni fagocitiche e microbicide dei macrofagi
-
-  I linfociti T quindi hanno la funzione di promuovere e regolare la produzione di anticorpi da parte delle cellule B, linfociti e plasmacellule
-

17.20.3. CONSEGUENZE DELLA DIFESA CONTRO I BATTERI EXTRA-CELLULARI



- Infiammazione acuta
 - *Shock* da endotossine
 - Generazione di anticorpi patogeni
-

Generazione di anticorpi patogeni




Febbre reumatica o **reumatismo articolare acuto**. L'infezione della faringe da parte di alcuni tipi sierologici di streptococchi β -emolitici porta alla produzione di anticorpi contro un costituente della parete batterica, la proteina M

Alcuni di questi anticorpi presentano una reattività crociata con le proteine del sarcolemma e la miosina del miocardio, portando alla fissazione degli anticorpi a livello cardiaco e a conseguente infiammazione (miocardite)

Glomerulonefrite post-streptococcica. L'infezione della cute o del cavo oro-faringeo da parte di alcuni tipi sierologici di streptococchi β -emolitici porta alla formazione di immuno-complessi, composti da antigeni batterici e dai relativi anticorpi; i complessi vanno a depositarsi a livello dei glomeruli renali, causando glomerulo-nefrite

Malattie autoimmuni. L'attivazione policlonale indotta dalle endotossine e dai superantigeni batterici può contribuire all'instaurarsi di malattie autoimmuni. Tali risposte possono portare alla stimolazione anche di cloni normalmente anergici specifici per antigeni autologhi

17.20.4. SUPERANTIGENI


 Alcune tossine batteriche stimolano un gran numero di linfociti T CD4⁺, indipendentemente dalla loro specificità antigenica

Ognuna di esse può stimolare in un individuo tutte le cellule T che esprimono un particolare set di geni V_α del TCR (recettore per l'antigene dei linfociti T), cioè si legano alla parte costante della struttura del recettore, provocando tuttavia la stessa trasmissione di segnale di un ligando specifico

Tali tossine sono state denominate superantigeni

La loro importanza risiede nella capacità di attivare un gran numero di linfociti T, con conseguente produzione di quantità elevatissime di citochine, a cui seguono alterazioni clinico-patologiche simili a quelle che si riscontrano nello *shock* settico

17.20.5. EVASIONE DELLA RISPOSTA IMMUNE

 Varie sono le proprietà a cui si deve l'evasione della risposta immune

- proprietà anti-adesive delle proteine della superficie batterica
 - prevenzione della fagocitosi
es.: batteri dotati di capsula resistono alla fagocitosi perché ostacolano il contatto diretto tra fagocita e batterio
 - inibizione dell'attivazione del complemento e inattivazione dei suoi prodotti
es.: la capsula di molti batteri contiene acido sialico che inibisce l'attivazione del complemento per la via alternativa
 - variazione genetica degli antigeni di superficie
es.: la variazione dei geni per le proteine dei pili di *Escherichia coli* e gonococchi
-

17.20.6. PATOGENESI DELL'INFEZIONE GONOCOCCICA



L'infezione gonococcica o gonorrea è dovuta a *Neisseria gonorrhoeae*

Le *Neisserie* sono patogeni intra-cellulari facoltativi in grado di legarsi alle cellule epiteliali dell'ospite e di invaderle. Il legame è mediato dalle adesine o piline

Piline



Il principale antigene dei pili è costituito da una proteina di circa 35 kDa denominata pilina

Le piline mostrano una variazione antigenica basata su:

- ricombinazione intra-genomica
- ricombinazione a seguito di incorporazione di DNA esogeno proveniente da gonococchi lisati



La variabilità antigenica della pilina ha l'effetto di:

- rendere più difficoltosa la neutralizzazione da parte della risposta anticorpale
 - selezionare i pili con una maggiore adesività, quindi in grado di conferire maggiore virulenza
-

Adesine



La internalizzazione è basata su un secondo set di adesine (proteina II) che a loro volta mostrano una variabilità antigenica con meccanismi diversi da quella relativa ai pili

Queste proteine ora chiamate OPAs (*opacity associated outer membrane proteins*, proteine della membrana esterna associate all'opacità) possono o no essere espresse su un singolo ceppo di gonococco

Fino a 7 o 8 diversi sierotipi possono essere espressi in successione temporale dallo stesso ceppo e da 0 a 3 possono essere espressi su una singola cellula

Fattori di resistenza dell'ospite: resistenza all'attacco

- (i) Componenti della flora uretrale e vaginale: *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, lattobacilli, altri batteri sia anaerobi che aerobi inibiscono la *N. gonorrhoeae*, con meccanismo di competizione
- (ii) Il ferro è un elemento critico nello sviluppo della infezione gonococcica:
 - sulle superfici mucose è presente la lattoferrina che compete con i gonococchi per il ferro, che è necessario per la replicazione del microrganismo
 - tuttavia in condizioni di scarsità di ferro i gonococchi producono proteine che sono normalmente repressate in presenza di ferro: FeRPs (*iron repressible proteins*)
 - le FeRPs sono in grado di catturare ferro dalla lattoferrina e dalla transferrina

Alcuni ceppi di gonococchi sono FeRPs-deficienti, dando luogo a colonizzazioni asintomatiche

- (iii) L'attacco di gonococchi alle cellule mucose è mediato in parte dai pili e dalla proteina II (proteina di membrana dotata di variabilità antigenica nell'ambito dello stesso ceppo). Anticorpi locali diretti verso i pili o la proteina II possono bloccare l'adesione
- (iv) I pili:
 - da una parte impediscono la fagocitosi da parte dei neutrofili
 - dall'altra consentono l'opsonizzazione da parte di anticorpi diretti contro i pili stessi
- (v) La proteasi secreta dalle *Neisserie* patogene inattiva le IgGA solubili, interferendo con l'effetto anti-adesione degli anticorpi

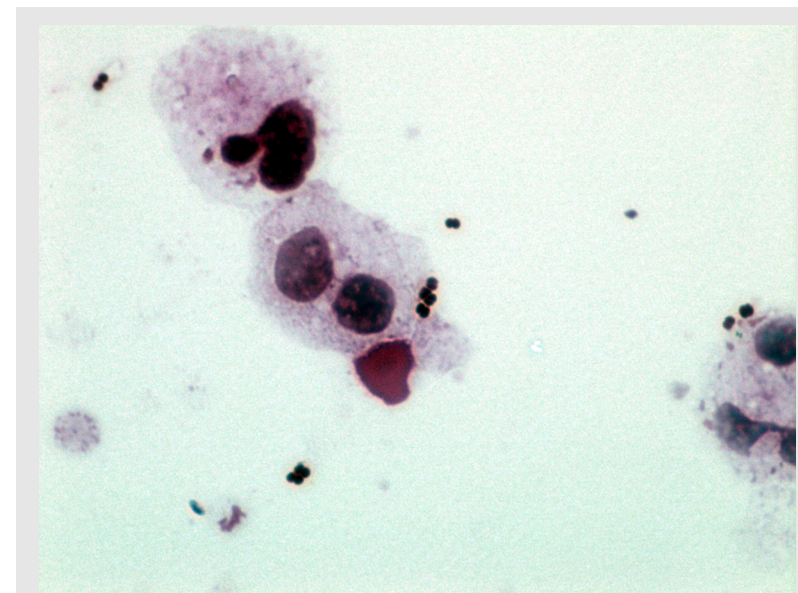




Figura 17.17. *Neisseria gonorrhoeae*, essudato uretrale. Preparato da Giovanna Testa

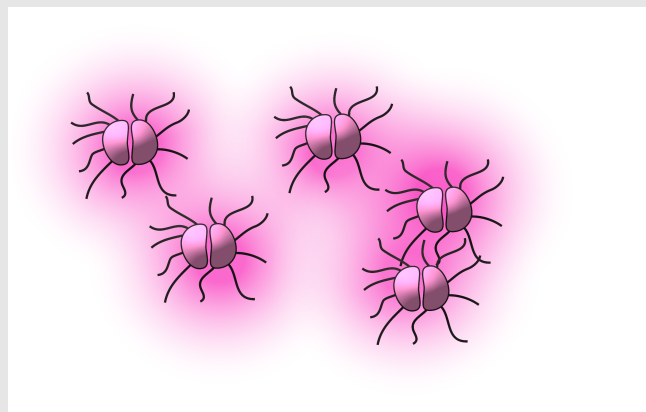
Fattori di resistenza dell'ospite: resistenza alla penetrazione

-  Dopo l'attacco all'epitelio cilindrico o di transizione, i gonococchi penetrano attraverso o tra le cellule per raggiungere i tessuti sub-epiteliali
- il trasferimento della proteina I gonococcica alla cellula ospite può dare inizio all'endocitosi da parte della cellula epiteliale
 - il lipopolisaccaride ed il peptidoglicano gonococcici sono tossici per i tessuti delle tube del Falloppio
 - i gonococchi producono proteasi, peptidasi, fosfolipasi, ed elastasi, che ne favoriscono la diffusione
-

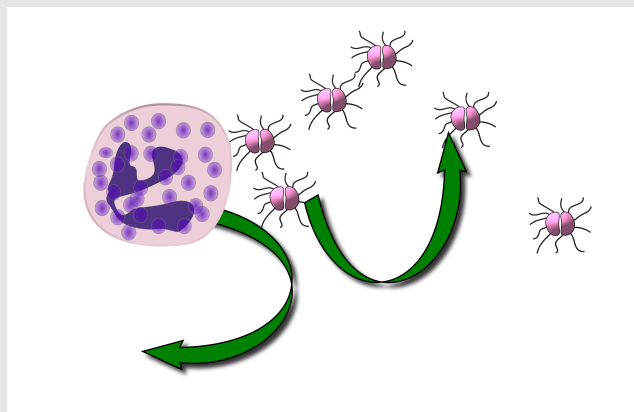
Fattori di resistenza dell'ospite: resistenza da parte del tessuto sub-epiteliale e del sangue

-  I gonococchi interagiscono con IgM naturali contro antigeni lipopolisaccaridici, con attivazione del complemento: fattore chemiotattico C5a e complesso di attacco battericida C5b-C9. L'inserimento del complesso di attacco nella membrana esterna dei gonococchi sierio-sensibili porta alla lisi batterica
- nel caso di ceppi sierio-resistenti, il complesso di attacco si forma, ma con una configurazione anomala che non assicura una rapida lisi batterica
 - il siero umano contiene anche anticorpi IgG non fissanti il complemento diretti contro la proteina III della parete gonococcica. Questi anticorpi hanno un effetto paradossale perché bloccano l'attività battericida delle IgM anche nel caso di ceppi sierio-sensibili
 - durante la crescita *in vivo* i gonococchi sviluppano una resistenza fenotipica al siero ed alla uccisione mediata dai neutrofili
-

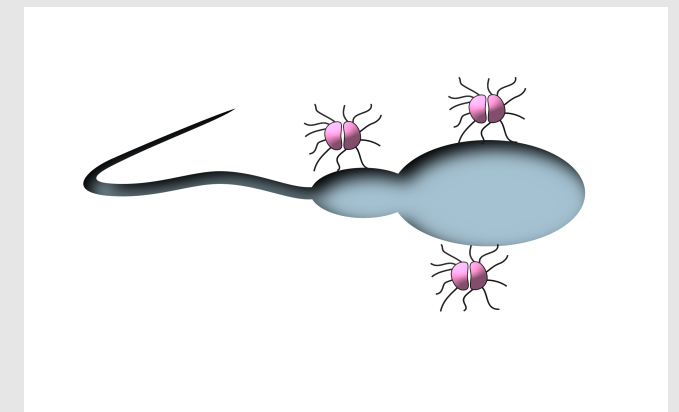
Storia naturale della gonorrea



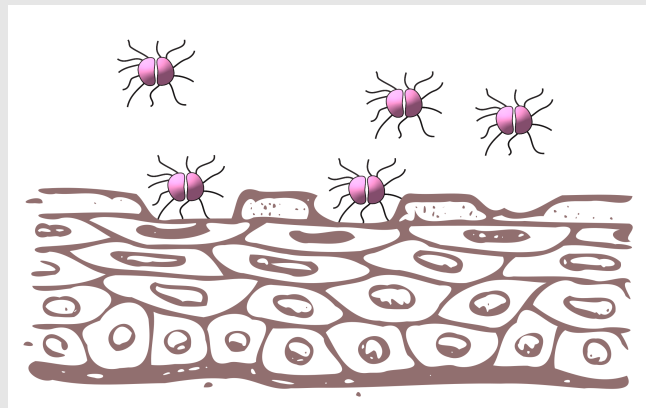
Le ciglia della *Neisseria gonorrhoeae* contengono una proteasi specifica per le IgA



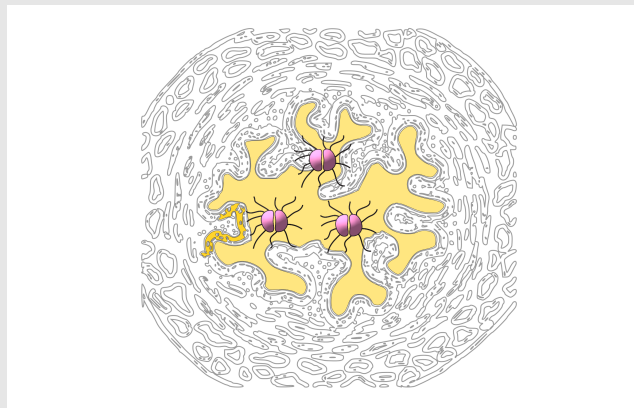
I pili prevengono la fagocitosi da parte dei polimorfonucleati neutrofili



I gonococchi possono anche aderire alla testa degli spermatozoi ed essere trasportati nelle tube di Falloppio



La proteasi del gonococco digerisce le IgA presenti sulla superficie luminale delle cellule dell'uretra, dell'endocervice e delle tube di Falloppio



I gonococchi causano infezioni delle mucose: uretrite (uomo), cervicite (donna). Se l'infezione non è trattata efficacemente può complicarsi con epididimiti e stenosi uretrali (uomo), salpingiti, stenosi delle tube di Falloppio, malattia pelvica infiammatoria e ascesso tubo-ovarico (donna). I neonati infettati al parto sviluppano una infezione oculare

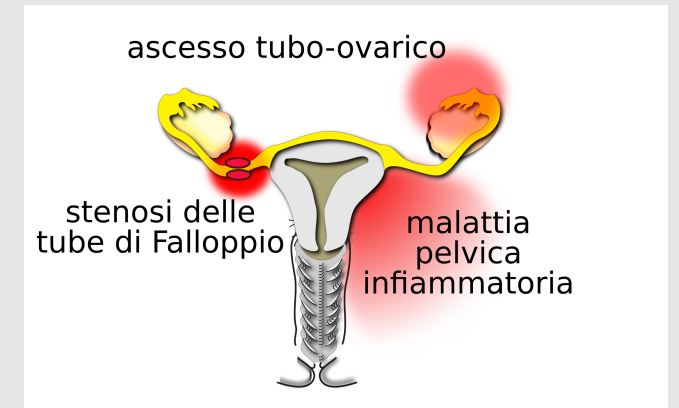


Figura 17.18. *Neisseria gonorrhoeae*. Liberamente tratto da Rubin (1988)

17.21. Tossine batteriche

17.21.1. DIFFERENZE TRA ENDOTOSSINE ED ESOTOSSINE BATTERICHE

Tabella 17.31: Differenze tra endotossine ed esotossine

Endotossine	⇔	Esotossine
lipopolisaccaridi	⇔	polipeptidi
localizzate sulla membrana esterna della parete dei batteri Gram-negativi	⇔	secreti dal batterio
rilasciate sotto forma di vescicole per autolisi o distruzione del batterio	⇔	diffusibili nei tessuti dell'ospite
termostabili	⇔	quasi tutte termolabili
separazione tra componente tossica e componente antigenica		
la tossicità è dovuta al lipide A, non possono essere convertite in tossoidi	⇔	alcune possono essere convertite in tossoidi che perdono il potere tossico mentre conservano quello antigenico
l'antigenicità è dovuta alla componente oligosaccaridica		

17.21.2. LE ESOTOSSINE BATTERICHE

Le esotossine batteriche (e non) possono essere divise in 4 principali gruppi

● *Veleni della struttura*

- tossine di membrana Le tossine di membrana sono enzimi litici che indeboliscono le difese locali e a preparano i tessuti alla crescita della colonia batterica. Provocano danni locali generalmente riparabili
- citotossine Le citotossine ledono una funzione vitale della cellula provocandone la morte. Il danno all'organismo è dovuto alla morte delle cellule colpite. Se il soggetto sopravvive possono esserci danni residui permanenti
 - es.: tossina difterica, esotossina A della pertosse e Shiga-tossina che bloccano la sintesi proteica

● *Veleni della funzione*

- neurotossine Le neurotossine sono veleni della funzione fisiologica neuromuscolare: non provocano direttamente danno morfologico ai tessuti. Il danno è dovuto alla sospensione o alterazione di una funzione. Se il soggetto sopravvive possono non esserci danni residui
 - es.: tossina tetanica e tossina botulinica che provocano rispettivamente paralisi spastica e paralisi flaccida
- enterotossine Le tossine intestinali agiscono alterando una funzione dell'epitelio intestinale senza per questo uccidere le cellule. Se il soggetto sopravvive non ci sono danni residui
 - es.: tossina LT di *E. Coli* e la tossina colerica
 - Altre tossine che agiscono a livello intestinale, come la tossina della *Shigella dysenteriae*, sono in realtà delle citotossine in quanto il danno provocato è dovuto primariamente al danneggiamento con infiammazione e necrosi delle cellule intestinali

Tossine di membrana citolitiche



Le tossine di membrana o citolitiche possono essere classificate secondo il loro meccanismo d'azione

- degradazione enzimatica dei fosfolipidi di membrana

- α -tossina di *Clostridium perfringens*

- β -lisina di *Staphylococcus aureus*

- azione simile ad un detergente

- β -lisina stafilococcica. Provoca la disorganizzazione di una varietà di membrane differenti, con fuoriuscita dalle cellule colpite di micro e macromolecole

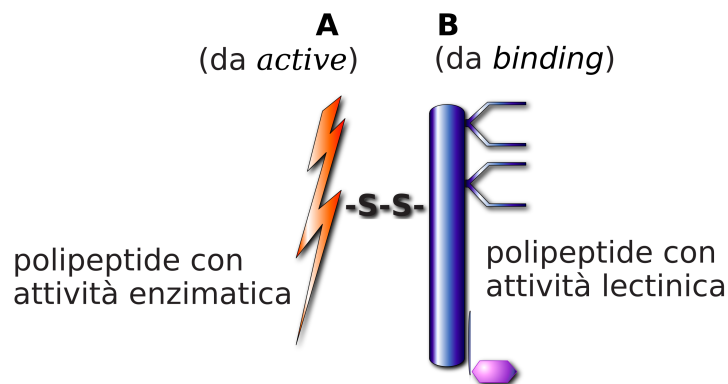
- formazione di pori trans-membrana

- δ -lisina stafilococcica. Interagisce con la membrana bersaglio, polimerizza formando strutture ad anello che penetrano nello strato idrofobico della membrana cellulare originando pori trans-membrana di 2-3 nm di diametro sufficienti al passaggio di microsoluti

- Streptolisina O. Meccanismo simile alla δ -lisina ma con formazione di pori più grandi (15 nm)

17.21.3. STRUTTURA GENERALE

- Molte tossine proteiche sia di derivazione batterica che vegetale presentano una struttura composta da due unità strutturali/funzionali. Per convenzione le due unità si chiamano subunità A da attiva e subunità B da *binding* legame. Le due funzioni risiedono su due polipeptidi uniti tra loro da uno o più ponti disolfuro
- I polipeptidi sono solitamente sintetizzati sotto forma di un precursore unico che viene poi tagliato ad opera di proteasi più o meno specifiche. Questo tipo di struttura è molto diffuso in natura e si può trovare presente anche in certi ormoni umani (es.: ormone lattogeno placentare)



Questa struttura offre i seguenti vantaggi:

- solidità del legame nel plasma
- relativa inattività della subunità A finché rimane legata
- alta specificità della proteina di legame (costanti di affinità per il recettore dello stesso ordine di grandezza di quelle degli anticorpi verso l'antigene)
- dimensionamento della proteina attiva al di sopra del limite di filtrazione glomerulare renale
- facilità di liberazione della subunità A all'interno del citoplasma a causa della presenza di enzimi proteina disolfuro ossido reduttasi che rapidamente riducono il ponte disolfuro tra le due subunità, liberando la subunità A in forma attiva

Figura 17.19. Struttura generale di molecole ibride biologicamente attive

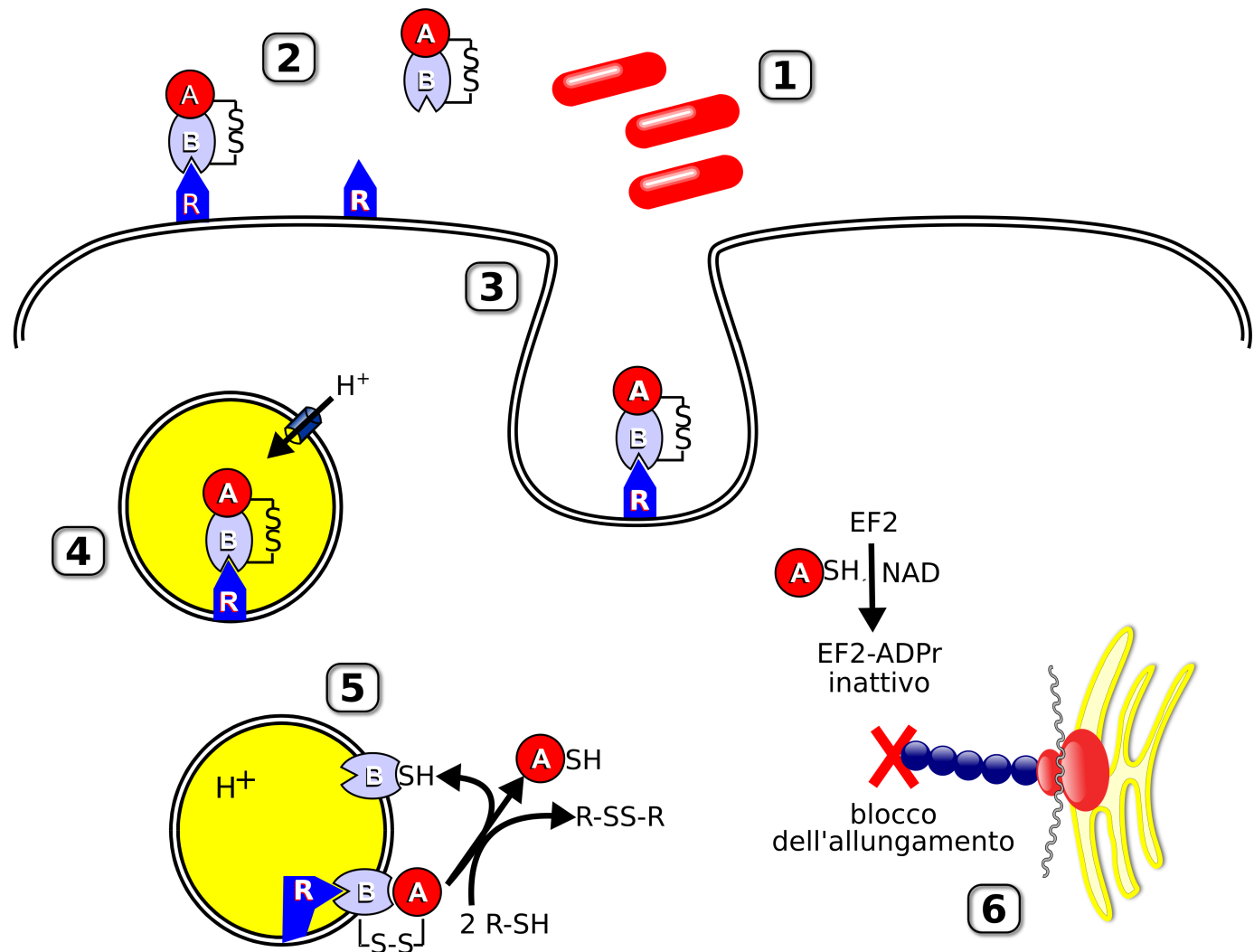
Liberamente tratto da Barbieri (1993)

Questo tipo di struttura viene utilizzato anche in terapia sperimentale creando delle tossine artificiali con una parte tossica e un subunità B costituita da un anticorpo che garantisca la specificità verso le cellule da eliminare

17.21.4. MECCANISMO D'AZIONE DELLA TOSSINA DIFTERICA

Figura 17.20. Meccanismo d'azione della tossina difterica

- 1 Il *Corynebacterium diphtheriae* produce la tossina
- 2 La tossina si lega a recettori sulla superficie cellulare attraverso la catena B
- 3 La tossina viene introdotta per endocitosi
- 4 La vescicola viene acidificata
- 5 In ambiente acido la catena B si inserisce nella membrana portando all'esterno la catena A. Il ponte disolfuro viene rotto liberando la subunità enzimatica in forma attiva
- 6 ADP-ribosilazione di EF2 (elongation factor 2, fattore di allungamento 2) con blocco dell'allungamento. La cellula non ha più sintesi proteica e muore



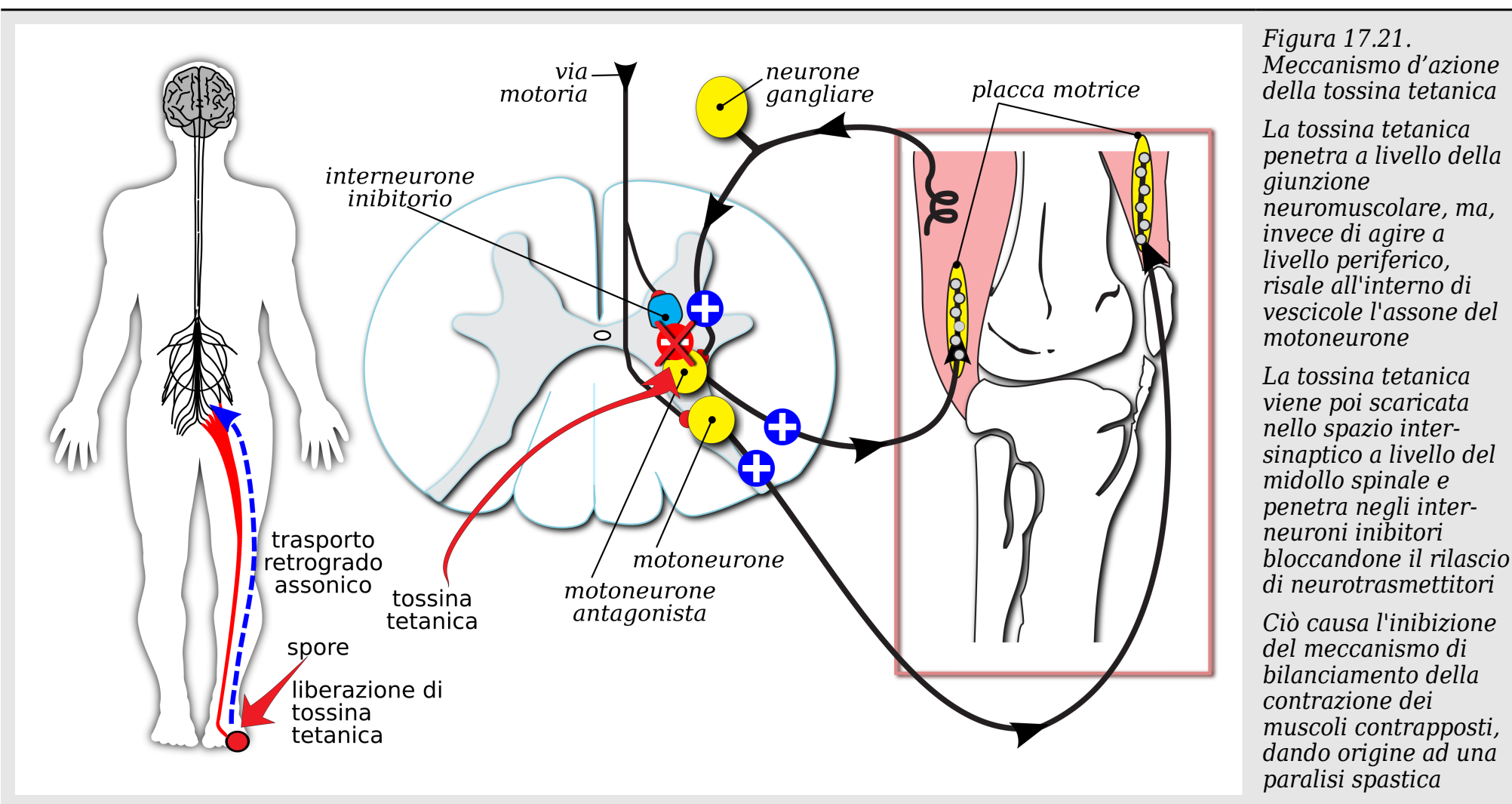
17.21.5. IL MECCANISMO D'AZIONE DELLA TOSSINA TETANICA

Figura 17.21.
Meccanismo d'azione
della tossina tetanica

La tossina tetanica penetra a livello della giunzione neuromuscolare, ma, invece di agire a livello periferico, risale all'interno di vescicole l'assone del motoneurone

La tossina tetanica viene poi scaricata nello spazio intersinaptico a livello del midollo spinale e penetra negli interneuroni inibitori bloccandone il rilascio di neurotrasmettitori

Ciò causa l'inibizione del meccanismo di bilanciamento della contrazione dei muscoli contrapposti, dando origine ad una paralisi spastica

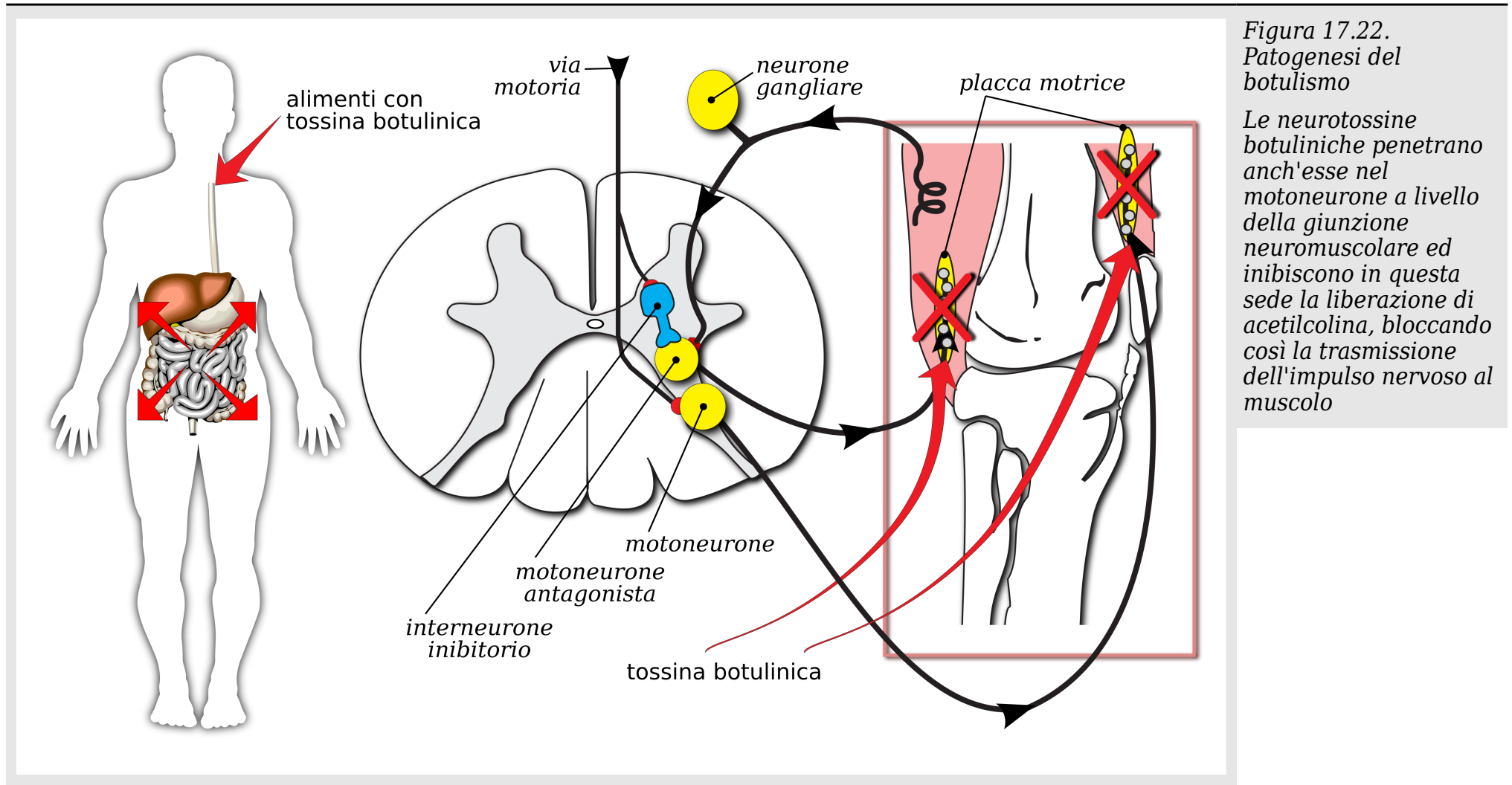
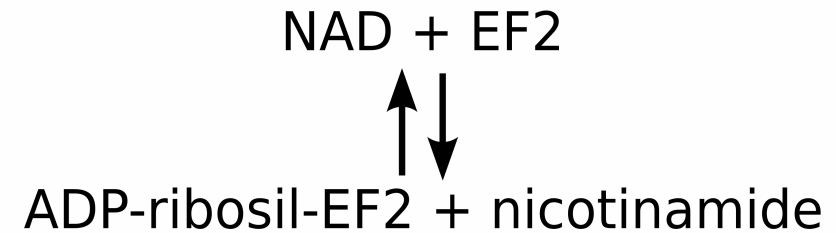
17.21.6. IL MECCANISMO D'AZIONE DELLA TOSSINA BOTULINICA

Figura 17.22.
Patogenesi del
botulismo

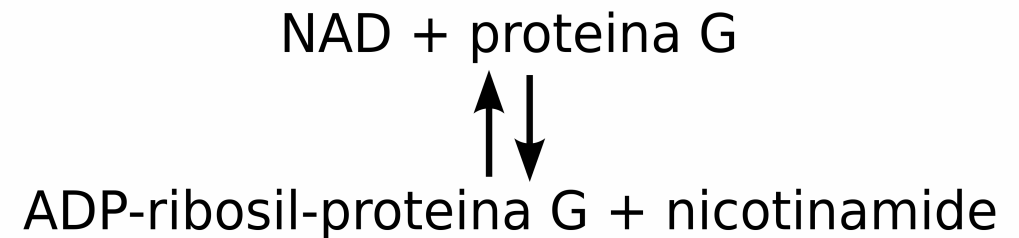
Le neurotossine botuliniche penetrano anch'esse nel motoneurone a livello della giunzione neuromuscolare ed inibiscono in questa sede la liberazione di acetilcolina, bloccando così la trasmissione dell'impulso nervoso al muscolo

17.21.7. TOSSINE CHE HANNO ATTIVITÀ ENZIMATICA DI ADP-RIBOSILAZIONE**Tossina difterica**

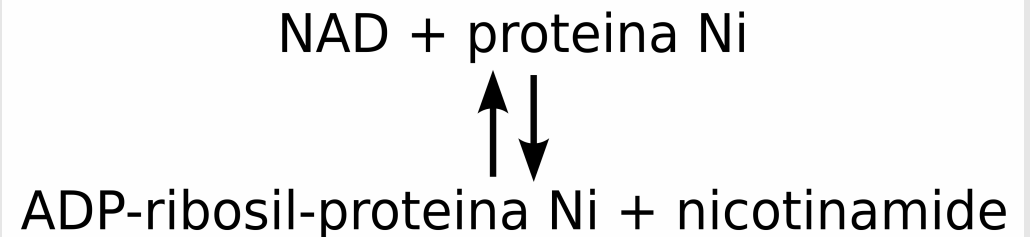
Questa reazione causa inibizione delle sintesi proteiche con morte della cellula bersaglio

**Tossina colerica**

Questa reazione provoca un aumento della produzione di cAMP da cui deriva un'alterazione del bilancio idrico-salino delle cellule che rivestono l'intestino tenue: si determina così diarrea





**Esotossina della pertosse**

Questa reazione libera la ciclasi dal controllo inibitorio ed ha l'effetto di aumentare il livello di cAMP. L'effetto tossico dipende dalle cellule bersaglio



17.21.8. ESEMPI DI QUADRI CLINICO-PATOLOGICI DELLE TOSSINE DI IMPORTANZA IN PATOLOGIA UMANA

Tetano: *Clostridium tetani*

 Aspetti batteriologici	<ul style="list-style-type: none">● l'ambiente anaerobio è necessario per la proliferazione del microrganismo e per la produzione della tossina tetanica
 Modalità di trasmissione	<ul style="list-style-type: none">● spore ubiquitarie nel suolo. Ogni ferita grande o piccola, oppure aree infette chiuse possono costituire un focus d'infezione
 Aspetti clinici	<ul style="list-style-type: none">● infezione locale: a livello di una ferita lacero-contusa, anche di scarsa entità● tossicità sistemica: dovuta alla neurotossina tetanica. Indolenzimento locale e generalizzato. Crescente rigidità muscolare con trisma e spasmi riflessi, contrazioni toniche (opistotono, <i>risus sardonius</i>, laringospasmo). Alterazioni del sistema nervoso autonomo
 Trattamento e prevenzione	<ul style="list-style-type: none">● trattamento: monitoraggio intensivo con sostegno cardio-respiratorio. Immunoglobuline antitetaniche umane; sedativi e miorilassanti, antibiotici per controllare l'infezione e prevenire l'ulteriore rilascio di tossina● prevenzione: immunizzazione con tossoide assorbito su allume

Botulismo: *Clostridium botulinum*

Aspetti batteriologici

- i sierotipi tossigenici sono sette. I sierotipi A, B ed E sono i principali
- le spore di *C. botulinum* sono molto resistenti al calore: resistono a 100°C per 22 h a secco. L'inattivazione si ottiene in acqua 10 min a 100°C o per 30 min a 80°C
- molti fattori determinano la sopravvivenza e la moltiplicazione del *C. botulinum* e la produzione di tossine nel cibo: notevole contaminazione con spore, insufficiente riscaldamento, pH alcalino, pochi sali, condizioni di anaerobiosi

Modalità di trasmissione

- spore ubiquitarie nel suolo. I tipi A e B sono spesso associati alla preparazione casalinga di cibi conservati. Il tipo E è solitamente associato con il pesce. Il miele è implicato in alcuni casi di botulismo infantile
- i cibi non adeguatamente salati, affumicati o seccati o messi sotto aceto costituiscono le fonti più probabili

Aspetti clinici

- intossicazione a seguito di consumo di cibo contaminato: vomito, costipazione, senso di debolezza, apatia, xerostomia. Paresi dei nervi cranici (diplopia, vista offuscata, disfonia, disfagia). Indebolimento dei muscoli respiratori e periferici. La morte avviene per asfissia
- botulismo infantile: *C. botulinum* proveniente da fonti ambientali colonizza il tratto gastroenterico e la produzione di tossine avviene *in vivo*. Il bambino diviene ipototonico, mostra problemi di crescita e presenta un grado variabile di paralisi flaccida

Trattamento e prevenzione

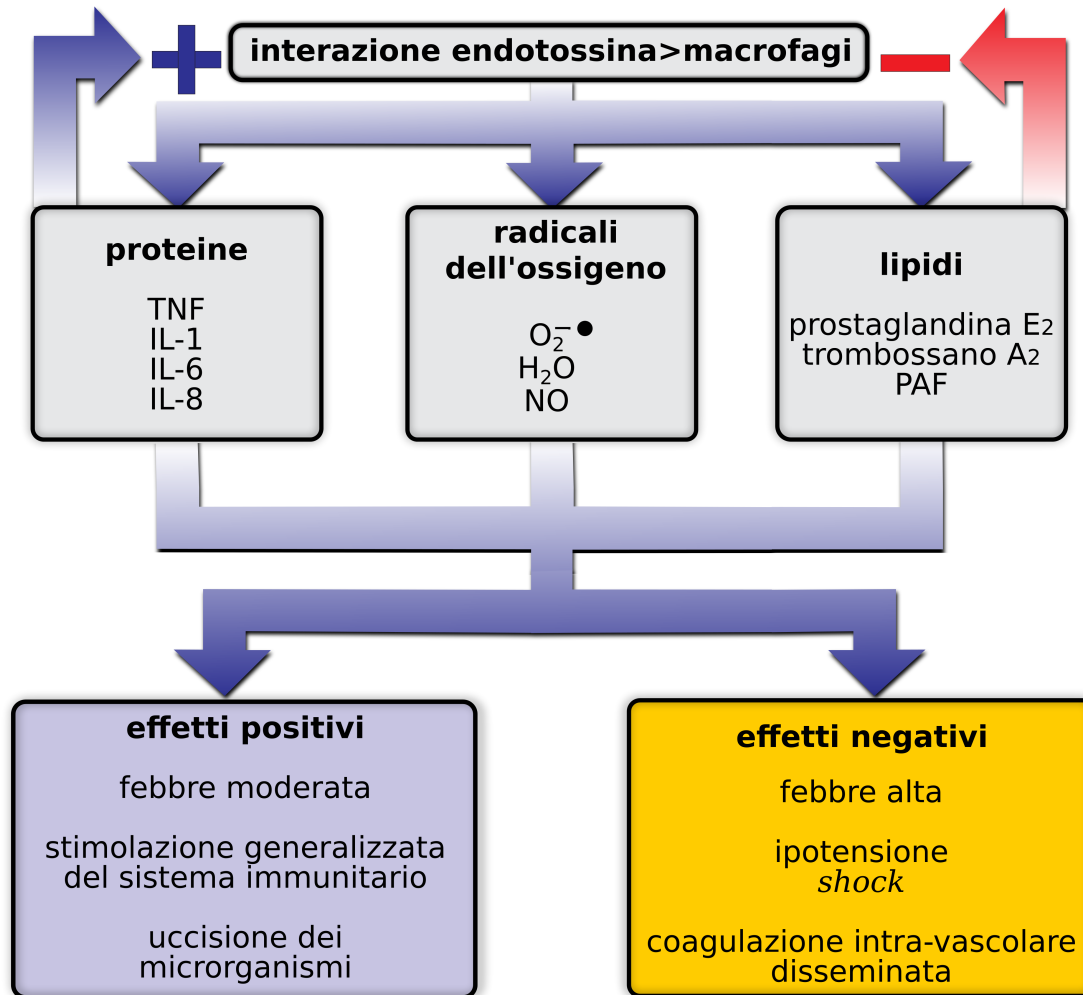
- trattamento: sostegno cardio-respiratorio. Immunoglobuline polivalenti (anti-A, -B, -E).
- prevenzione: controllo della conservazione dei cibi

17.22. Endotossine












Figura 17.23. Aspetti favorevoli e sfavorevoli dell'interazione endotossine - macrofagi

L'interazione endotossina macrofagi produce una serie di eventi che, dipendentemente dalla loro intensità portano a conseguenze favorevoli o sfavorevoli


- la produzione moderata di mediatori sia micro- che macro-molecolari produce uno stato alterato che consente una migliore difesa contro le infezioni
- la produzione massiccia di mediatori porta invece ad una alterazione fisiopatologica profonda che rappresenta essa stessa una patologia, a volte letale come nel caso dello shock settico



17.22.1. IL RUOLO DEL LIPOPOLISACCARIDE (LPS) NELLO SHOCK ENDOTOSSICO (SHOCK SETTICO)


-  Batteri Gram-negativi entrano in circolo
-  Lisi dei batteri Gram-negativi: autolisi, antibiotici, complemento-mediata
-  Liberazione di LPS dalla membrana esterna (endotossiemia)
-  Il LPS agisce su leucociti, piastrine e complemento
-  Aumento di fattori ematici proteolitici e vasoattivi (istamina, chinine, serotonina)
-  Vasodilatazione ed aumento della permeabilità capillare
-  Accumulo periferico di sangue, stravasamento di fluidi, diminuzione del ritorno venoso e della gittata cardiaca
-  Ipotensione, rilascio ulteriore di catecolamine, acidosi tissutale, anossia
-  Congestione e dilatazione dei capillari, ulteriore diminuzione della gittata cardiaca
-  Danno ipossico ai centri nervosi cardio-regolatori
-  **Shock**

17.23. Micosi

 La micosi è una condizione nella quale funghi (miceti) passano le barriere di resistenza del corpo e stabiliscono foci infettivi


I miceti potenzialmente patogeni per l'uomo si trasmettono o per contatto diretto o attraverso la diffusione di spore

17.23.1. MICOSI ED IMMUNO-COMPETENZA

 In soggetti immuno-competenti i siti di accesso preferiti sono la cute macerata in climi caldo umidi ed i polmoni
In soggetti immuno-compromessi possiamo avere frequentemente infezioni delle mucose che sono direttamente esposte all'ambiente


In soggetti immuno-competenti raramente le micosi da superficiali diventano sistemiche, mentre è alto il rischio di questa evoluzione in soggetti immuno-compromessi

17.23.2. EZIOLOGIA DELLE MICOSI

 Il rischio di contrarre micosi aumenta nelle seguenti condizioni:

- somministrazione di antibiotici per periodi prolungati che indeboliscono la flora commensale in particolare in bocca nell'intestino e nella vagina
- immuno-soppressione in cui aumenta il rischio non solo di infezioni superficiali ma anche di infezioni sistemiche: portatori di HIV, soggetti in chemioterapia anti-neoplastica, soggetti in terapia immuno-soppressiva per trapianti od altro, soggetti in terapia cronica con corticosteroidi ad alte dosi
- estremi della vita

17.23.3. CLASSIFICAZIONE DELLE MICOSI

 Le micosi si classificano in base alla loro localizzazione in:

- micosi superficiali
- micosi cutanee
- micosi subcutanee
- micosi sistemiche

17.23.4. MICOSI SUPERFICIALI


 Le micosi superficiali sono limitate agli strati esterni della cute e dei peli


- es.: *Tinea versicolor*, che infetta comunemente giovani su petto, schiena, gambe e braccia. L'agente eziologico si trova come saprofita di parte della popolazione adulta

L'impatto è generalmente solo estetico con macchie che possono essere o scolorite o rosso brune


Non si hanno risposte difensive da parte dell'ospite

17.23.5. MICOSI CUTANEE


-  Le micosi cutanee si espandono profondamente nell'epidermide e coinvolgono gli strati cheratinici degli annessi: peli e unghie
- Si possono avere risposte immuni da parte dell'ospite con conseguenti reazioni che coinvolgono il derma
- Gli agenti eziologici di queste micosi, collettivamente chiamati dermatofiti, sono *Microsporum*, *Trichophyton*, e *Epidermophyton* (collettivamente circa 40 specie)
-

-  L'affezione più frequente è il “piede dell'atleta”
- I soggetti a rischio, frequentatori di piscine, atleti possono ridurre il rischio di contrarre queste infezioni con una attenta igiene, usando ciabatte in piscina, lavando le scarpe e le calze usate durante l'attività fisica frequentemente
- L'uso frequente di saponi aggressivi aumenta di molto il rischio di contrarre una micosi superficiale
-

17.23.6. MICOSI SOTTOCUTANEE

-  Le micosi sottocutanee coinvolgono il derma, i tessuti sottocutanei, i muscoli e le fasce tendinee
- Queste infezioni sono croniche e difficili da trattare: a volte richiedono un intervento chirurgico di ripulitura (toiletta chirurgica)
- Queste micosi sono frequentemente indotte dal *piercing*
-

17.23.7. MICOSI DOVUTE A MICETI INTRINSECAMENTE PATOGENI

-  Le micosi sistemiche generalmente originano dai polmoni e poi si diffondono ad altri organi
- I miceti che le causano sono intrinsecamente virulenti e sono per lo più dimorfici, cioè crescono sia come lieviti che come muffe
-

17.23.8. MICOSI SISTEMICHE DOVUTE A MICETI OPPORTUNISTI

☞ Le micosi sistemiche dovute a patogeni opportunisti possono svilupparsi solo in soggetti immuno-compromessi
Gli agenti eziologici più comuni sono: *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*

Le micosi sistemiche sono malattie molto gravi che sono accompagnate dall'incapacità del paziente a contenere l'infezione e dalla scarsità di mezzi terapeutici: i farmaci antimicotici per via generale sono molto tossici essendo rivolti contro organismi eucariotici, simili alle nostre cellule per quanto riguarda l'apparato metabolico

☞ Pazienti a rischio di micosi opportunistiche:

- serio stato di debilitazione organica
- tumore o leucemia
- terapia antibiotica ad ampio spettro
- diabete mellito
- terapia immuno-soppressiva (trapianti, gravi malattie autoimmuni)
- nutrizione parenterale o CVC (catetere venoso centrale)
- infezione da HIV

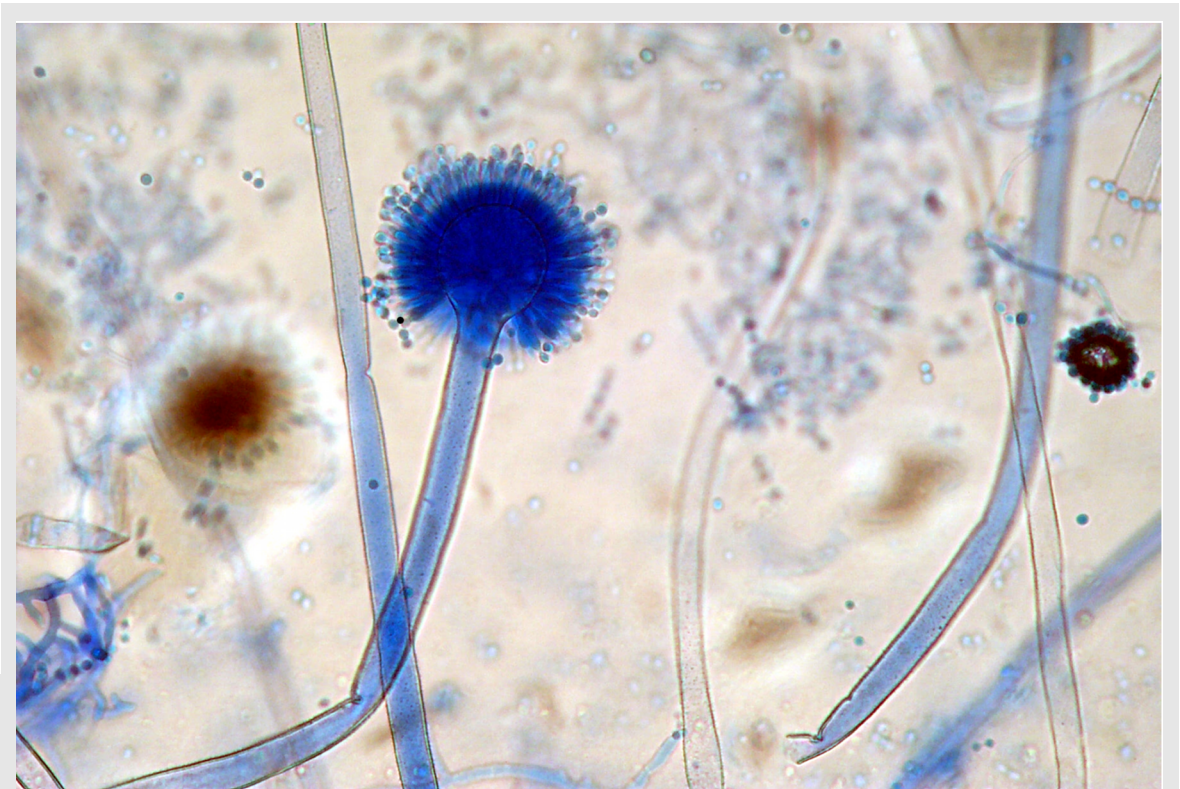


Figura 17.24. *Aspergillus niger*. Per gentile concessione di Anna Nanetti, Alma Mater Università di Bologna

17.24. Principali fonti utilizzate

Barbieri, L., Battelli, M.G., Stirpe, F. (1993) Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochim. Biophys. Acta* 1154, 237-282

Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. (1999) *Robbins pathologic basis of disease*. VI ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia

Dixon, T.C., Meselson, M., Guillemin, J., Hanna, P.C. (1999) Anthrax. *N. Engl. J. Med.* 341, 815-825

Janeway, C.A., Travers, O. (1994) *Immunobiology: the immune system in health and disease*. Garland, New York

Mims, C. A. (1988) *The pathogenesis of infectious disease*. Academic, Orlando

Rowe, S.M., Miller, S., Sorscher, E.J. (2005) Cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 352, 1992-2001

Rubin, R., Farber, J.L. (1988) *Pathology*. I ed. Lippincott, Philadelphia

Schiavo, G., Benfenati, F., Poulain, B., Rossetto, O., Polverino de Laureto, P., DasGupta, B.R., Montecucco, C. (1992) Tetanus and botulinum B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 359, 832-835





