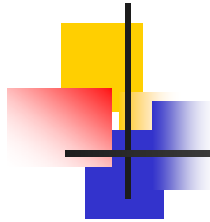


# Μηχανισμοί και παράγοντες παθογένειας βακτηρίων Φυσιολογική χλωρίδα - Επικοινωνία, συμβίωση και ανταγωνισμός βακτηρίων



*Ιωσήφ Παπαπαρασκευάς  
Βιοπαθολόγος, Λέκτορας ΕΚΤΑ  
Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή  
iraparar@med.uoa.gr*



## Στόχοι της παρουσίασης

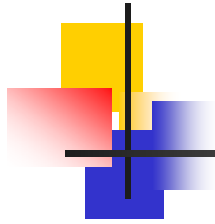
---

Συζήτηση των κυριότερων μηχανισμών παθογένειας, με παρουσίαση παραδειγμάτων παθογόνων

Συζήτηση των τρόπων επικοινωνίας των μικροοργανισμών μεταξύ τους για την έκφραση της παθογένειας

Παρουσίαση της φυσιολογικής χλωρίδας των κυριότερων ανατομικών περιοχών και συζήτηση των παραγόντων που την επηρεάζουν

Καταστάσεις αλληλεπίδρασης μικροοργανισμών μεταξύ τους και με τον ξενιστή. Συμβίωση και ανταγωνισμός.



## Βασική διαφορά

---

Αντοχή  $\neq$  Παθογονικότητα

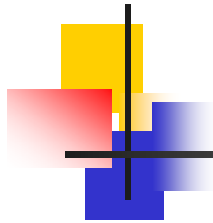
*Acinetobacter* spp.  $\neq$  *Streptococcus pyogenes*



## Γιατί πρέπει να διερευνούμε τους μηχανισμούς της βακτηριακής παθογένειας;

---

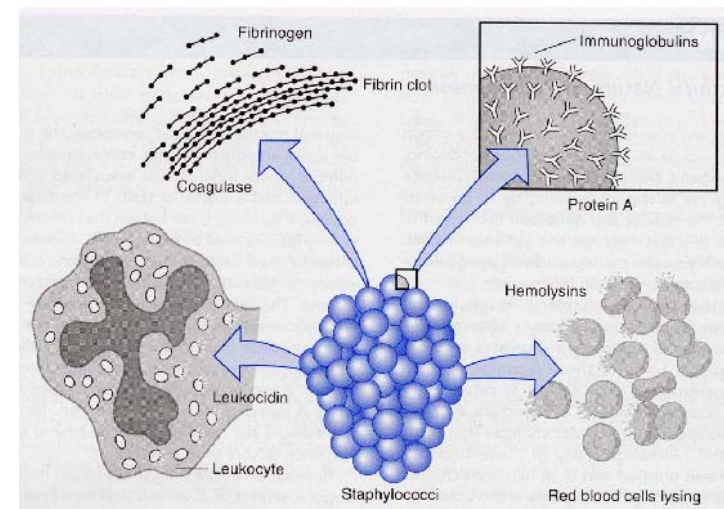
- α) Στόχος για φάρμακα ή εμβόλια
- β) Πληροφορίες για την δομή και την λειτουργία των ανθρώπινων κυττάρων
- γ) Διερεύνηση της μικροβιακής συμβολής στην αυτοανοσία

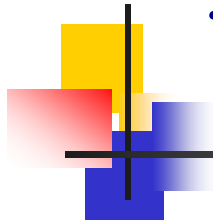


## Τι σημαίνει παθογόνο βακτήριο;

Πληρέστερη διατύπωση: "Κάτω από ποιες προϋποθέσεις ο Χ μικροοργανισμός μπορεί να προξενήσει νόσο;"

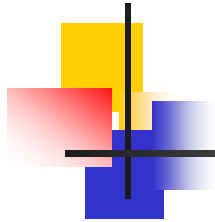
Η παθογένεια είναι ένα σύνθετο φαινόμενο αλληλεπίδρασης μεταξύ μικροβίου και ξενιστή





## Τα κριτήρια του Koch για την παθογονικότητα

1. Το παθογόνο θα πρέπει να είναι παρών σε κάθε περίπτωση νόσου.
2. Το παθογόνο θα πρέπει να απομονώνεται από τον ασθενή σε καθαρή καλλιέργεια σε κάθε περίπτωση νόσου
3. Καθαρό καλλιέργημα του παθογόνου θα πρέπει να αναπαράγει την νόσο όταν ενοφθαλμισθεί σε υγιές άτομο.
4. Το παθογόνο θα πρέπει να απομονώνεται εκ νέου από το πειραματικά μολυσμένο άτομο.



## Παθογόνοι μικροοργανισμοί

---

- Παθογόνος μικροοργανισμός

Αυτός που μπορεί να προκαλέσει νόσο

- Ευκαιριακά παθογόνος οργανισμός

Αυτός που μπορεί να προκαλέσει νόσο (εξαρτάται από την ανοσιακή κατάσταση του ξενιστή)



## Παθογόνοι μικροοργανισμοί

---

- ◆ Λοιμογόνος δράση βακτηρίων: αριθμός των μικροβίων που μπορούν να προκαλέσουν νόσο
- ◆ Lethal Dose 50% ( $LD_{50}$ )  
Ο αριθμός των μικροβίων που απαιτείται για να σκοτωθεί το 50% των ξενιστών
- ◆ Infectious Dose 50% ( $ID_{50}$ )  
Ο αριθμός των μικροβίων που απαιτείται για να νοσήσει το 50% των ξενιστών

*Shigella*:  $ID_{50} \sim 100$  βακτηριακά κύτταρα

*Salmonella*:  $ID_{50} \sim 100.000$  βακτηριακά κύτταρα





# Πότε ένας μικροοργανισμός είναι παθογόνος;

---

## Προϋποθέσεις

Σύνδεση, αποικισμός και επιμόλυνση του επιθηλίου του ξενιστή

Ικανότητα διείσδυσης στους εν τω βάθει ιστούς του ξενιστή

Ικανότητα πολλαπλασιασμού *in vivo*

Αλληλεπίδραση - διαφυγή από τους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή

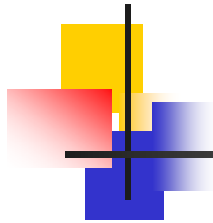
Πρόκληση βλάβης στον ξενιστή



## Στάδια παθογένειας νόσου

---

1. Εγκατάσταση και πολλαπλασιασμός στους ιστούς
2. Διείσδυση εν τω βάθει
3. Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα του ξενιστή
4. Πρόκληση ιστικής βλάβης



## Γραμμές άμυνας του ξενιστή

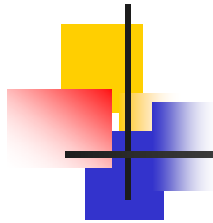
### Μη ειδική (φυσική) άμυνα του ξενιστή

Φυσιολογική χλωρίδα δέρματος και βλεννογόνων

Φυσικοχημικοί παράγοντες (κερατίνη στιβάδα, λυσοζύμη εκκρίσεων, λιπαρά οξέα δέρματος, κροσσωτό επιθήλιο αναπνευστικού, όξινο pH κόλπου, αύξηση θερμοκρασίας σώματος)

Φαγοκύτταρα

Παράγοντες αίματος, ΕΝΥ και εκκρίσεων (ιντερφερόνες, σιδηροδεσμευτικές πρωτεΐνες, εκκριτική IgA, συμπλήρωμα, πρωτεΐνες οξείας φάσης)



## Γραμμές άμυνας του ξενιστή

---

### Ειδική άμυνα του οργανισμού

Χυμική ανοσία

Πλασματοκύτταρα

Ig ανοσοσφαιρίνες

Κυτταρική ανοσία

T-λεμφοκύτταρα

# Στάδιο 1<sup>ο</sup>: Εγκατάσταση στους ιστούς, πολλαπλασιασμός

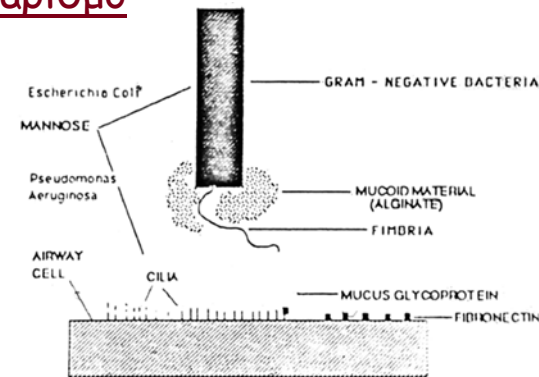
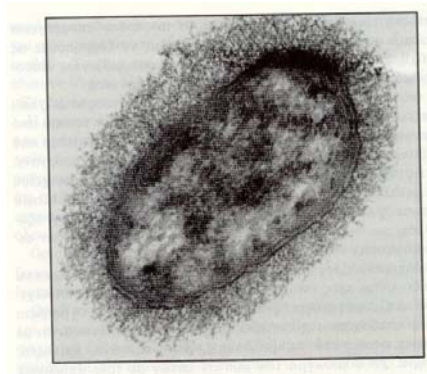
Βακτηριακές προσκολλητίνες (adhesins)

Κροσσοί (fimbriae), τριχίδια (pili)

Υποδοχείς ευκαρυωτικών κυττάρων

Ιντεγκρίνη, φιμπρονεκτίνη (επιφάνεια  
επιθηλιακών κυττάρων)

Προσοχή → υποδοχείς πεπερασμένοι σε αριθμό



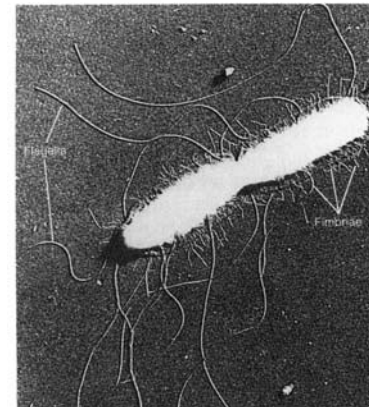
## Στάδιο 2<sup>ο</sup>: Διείσδυση (εσωτερικό κυττάρου - εν τω βάθει ιστούς)

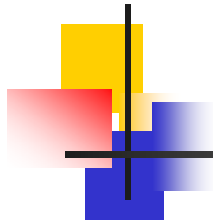
Κροσσοί (fimbriae)

Τριχίδια (pili)

Μαστίγια (flagella)

Έλυτρο (capsular)





## Στάδιο 3<sup>ο</sup>: Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα

### Διαφυγή από το συμπλήρωμα

#### Κάλυψη

Έλυτρο (*S. pneumoniae*)

IgA (δεν ενεργοποιεί το συμπλήρωμα) (*N. meningitidis*)

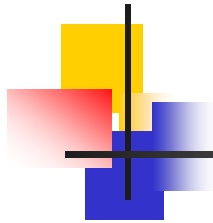
Πολυσακχαριδικά μόρια (αντιγόνα O) (*Salmonella*)

#### Παραλλαγή

Σιαλικό οξύ (μίμηση ανθρώπινων κυττάρων - γονόκοκκος)

#### Υδρόλυση

Πεπτιδάση C3b (*Streptococcus* spp.)



## Στάδιο 3<sup>ο</sup>: Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα

---

Αποφυγή φαγοκυττάρωσης

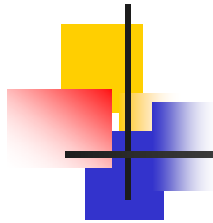
Καταστολή ή καταστροφή φαγοκυττάρων

Λευκοκτονίνες (leukocidins) (*S. aureus*)

Προστασία της βακτηριακής επιφάνειας

Έλυτρο





## Στάδιο 3<sup>ο</sup>: Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα

Επιβίωση εντός των φαγοκυττάρων

Αναστολή σύντηξης φαγοσώματος με λυσόσωμα

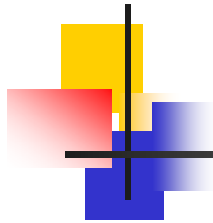
(*M. tuberculosis*)

Αναστολή οξειδωτικής οδού στα φαγοκύτταρα

Κατάλυση *S. aureus* → διασπά το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ )

Καταστροφή φαγοσώματος

Παραγωγή τοξίνης (*Listeria*)



## Στάδιο 3<sup>ο</sup>: Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα

Μετατροπή του ανοσιακού συστήματος

Ανοσοκαταστολή του ξενιστή

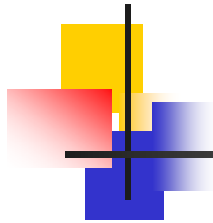
Ιογενείς λοιμώξεις (HIV, HBV)

Εκτροπή της ανοσιακής απάντησης:

Υπεραντιγόνα (*Streptococcus pyogenes*)

Μεταβολή των βακτηριακών αντιγόνων

(*Neisseria gonorrhoeae*)



## Στάδιο 3<sup>ο</sup>: Διαφυγή από το ανοσιακό σύστημα

---

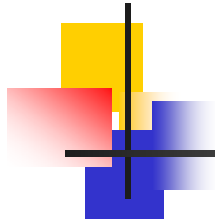
### Ενδοκυττάρια διαβίωση

Προστασία από αντισώματα και φάρμακα

*Legionella pneumophila*

*Ehrlichia chaffeensis*

*S. pyogenes*



## Στάδιο 4<sup>ο</sup>: Βλάβες ιστών

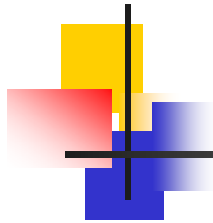
---

Με έμμεσο τρόπο

Ανοσιακή απάντηση ξενιστή - Φλεγμονώδης αντίδραση

Με άμεσο τρόπο

Παραγωγή τοξινών



## Τοξίνες

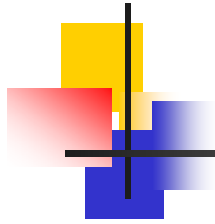
---

### Εξωτοξίνες

Πολυπεπτίδια που απελευθερώνονται από το μικρόβιο  
Παράγονται από Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτηρία

### Ενδοτοξίνες

Λιποπολυσακχαρίτες που αποτελούν τμήμα του μικροβιακού  
τοιχώματος (LPS)  
Είναι παρούσες μόνο σε Gram-αρνητικά μικρόβια



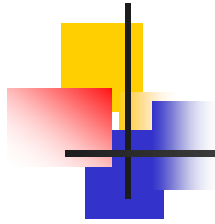
## Εξωτοξίνες

---

Αποτελούν εξαιρετικά τοξικούς παράγοντες

Γονίδια για τις τοξίνες συνήθως σε πλασμίδια → εύκολη οριζόντια μετάδοση

Σε κατεργασία με φορμαλδεΰδη τα πολυπεπτίδια της εξωτοξίνης μετατρέπονται σε ατοξίνες (διατήρηση της αντιγονικότητας αλλά απώλεια τοξικής δράσης)  
→ χρήση στην παραγωγή εμβολίων



## Εξωτοξίνες - Είδη

### Υδρόλυση μακρομορίων

Υαλουρονιδάση: υδρολύει υαλουρονικό οξύ συνδετικού ιστού

DNAάση: υδρολύει DNA

Στρεπτοκινάση: Πρωτεάση → καταστροφή θρόμβων ινικής

Κολλαγενάση

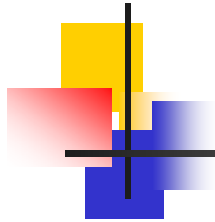
Ελαστάση

### Λύση κυττάρων

Πρωτεϊνικοί πόροι στην κυτταρική μεμβράνη: εκροή  
κυτταροπλασματικών μορίων

Λεκιθινάση (*C. perfringens*), άλλες αιμολυσίνες

α-τοξίνη (*S. aureus*), στρεπτολυσίνη (*S. pyogenes*)



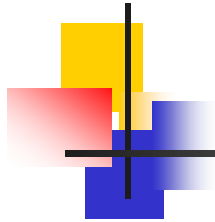
## Εξωτοξίνες - Είδη

Τοξίνες τύπου A-B (Active-Binding subunits)  
(Καταστολή πρωτεϊνοσύνθεσης)

Δέσμευση σε μεμβρανικούς υποδοχείς → ενδοκυττάρωση →  
ενεργοποίηση A υπομονάδας → δράση

Π.χ. Διφθερίτιδα, χολέρα κλπ.





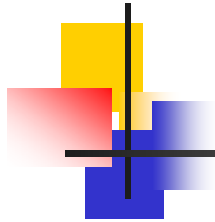
## Εξωτοξίνες - Είδη

---

### Νευρολογικές εξωτοξίνες

*C. tetani*: καταστολή έκλυσης ανασταλτικών  
νευρομεταβιβαστών → σπαστική παράλυση

*C. botulinum*: ενεργοποίηση από εντερικές πρωτεάσες →  
νευροσκελετικές συνάψεις → αναστολή έκλυσης  
ακετυλχολίνης → χαλαρή παράλυση



## Ενδοτοξίνες

---

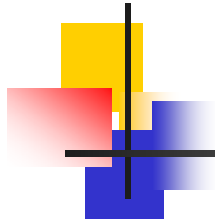
Η άμεση τοξικότητα των ενδοτοξινών είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με αυτή των εξωτοξινών

Όλες οι ενδοτοξίνες προκαλούν τις ίδιες γενικές εκδηλώσεις: πυρετό και καταπληξία

Παρουσιάζουν μικρή αντιγονικότητα

Σπάνια επάγουν προστατευτικά αντισώματα

Δεν παράγουν ατοξίνες και δεν χρησιμοποιούνται στην παραγωγή εμβολίων



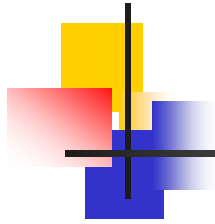
## Ενδοτοξίνες - Είδη

---

LPS (Gram-αρνητικά βακτήρια)

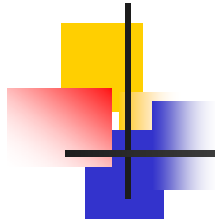
Μικρές ποσότητες: προκαλεί την ανοσιακή απάντηση  
(ενεργοποίηση συμπληρώματος, μακροφάγων,  
πυρετός, ενεργοποίηση Β λεμφοκυττάρων)

Μεγάλες ποσότητες: εκτρέπει την ανοσιακή απάντηση →  
σήψη (υπερπαραγωγή IL-1 και TNF)



## Δράσεις της ενδοτοξίνης

- Πυρετός
- Υπόταση
- Φλεγμονή
- Πήξη αίματος
- Ιντερλευκίνη-1
- Βραδυκίνη
- Εναλλακτική οδός του συμπληρώματος
- Ενεργοποίηση του παράγοντα XII (Hageman)



## Παθογόνα - Παραδείγματα

---

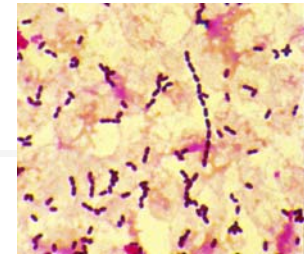
*Streptococcus pyogenes*

*Streptococcus pneumoniae*

*Haemophilus influenzae*

*Escherichia coli*

## *S. pyogenes* - Παράγοντες παθογονικότητας



### Αντιφαγοκυτταρικοί παράγοντες

- ✓ Μ-πρωτεΐνη
- ✓ Μ-like και Μ-related πρωτεΐνες
- ✓ Έλυτρο υαλουρονικού οξέος
- ✓ C5a - πεπτιδάση

### Παράγοντες προσκόλλησης

- ✓ Λιποτειχοϊκό οξύ
- ✓ Σύνδεση φιμπρονεκτίνης

### Παράγοντες διείσδυσης στο κύτταρο (internalization)

- ✓ Μ-πρωτεΐνη
- ✓ Έλυτρο υαλουρονικού οξέος

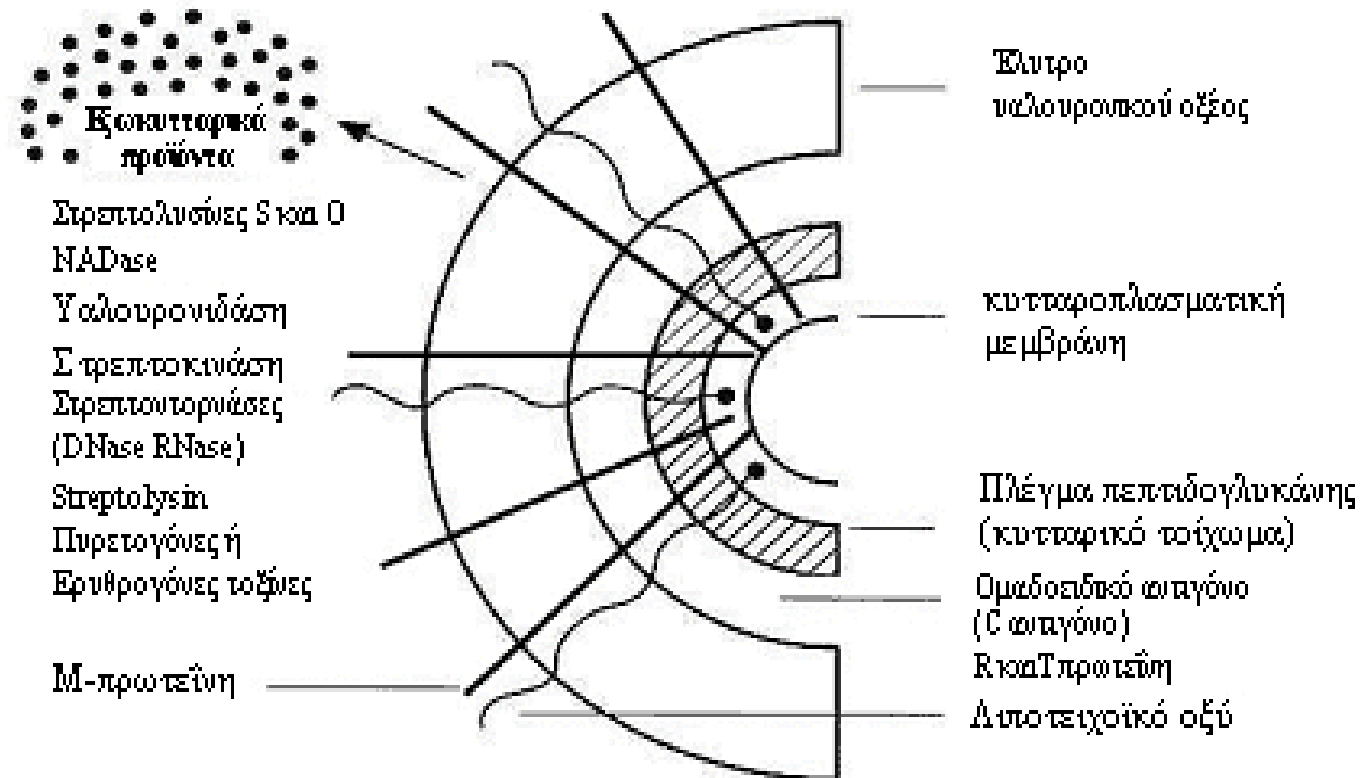
### Παράγοντες διείσδυσης και διασποράς στους ιστούς (invasion)

- ✓ Μ-πρωτεΐνη
- ✓ Έλυτρο υαλουρονικού οξέος
- ✓ Υαλουρονιδάση, στρεπτοκινάση
- ✓ Τοξίνη SpeB, DNAσες A-D

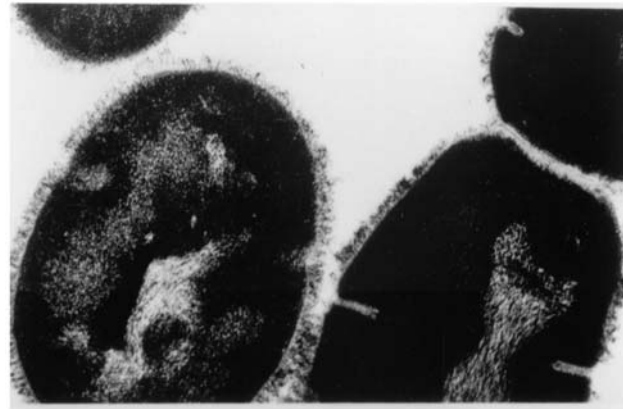
### Παράγοντες συστηματικής τοξικότητας

- ✓ Στρεπτολυσίνη O και S
- ✓ Ερυθρογόνες τοξίνες SpeA, SpeC
- ✓ Εξωτοξίνες SpeH, SpeL, Sme
- ✓ Παράγοντας Sic

## Δομή *S. pyogenes*

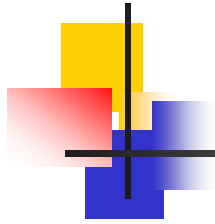


## Μ-πρωτεΐνη



Η Μ-πρωτεΐνη αποτελεί τον κατ' εξοχήν ανασταλτικό παράγοντα της φαγοκυττάρωσης και τον κυριότερο παράγοντα παθογονικότητας του *S. pyogenes*





## Μ-πρωτεΐνη

Το κύριο σύστημα τυποποίησης (ανοσοδιάχυση)

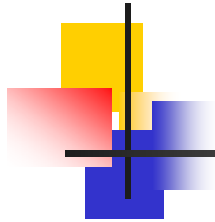
Σήμερα προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας τμήματος ~200 bp του υπερμεταβλητού άκρου της Ν-τελικής περιοχής του γονιδίου *emm* που κωδικοποιεί για την Μ-πρωτεΐνη

Συσχέτιση με:

Διεισδυτικές λοιμώξεις (Μ1, Μ3, Μ12)

Μεταστρεπτοκοκκικά σύνδρομα (Μ12, Μ22)

## Η σημασία επικράτησης νέων Μ-οροτύπων



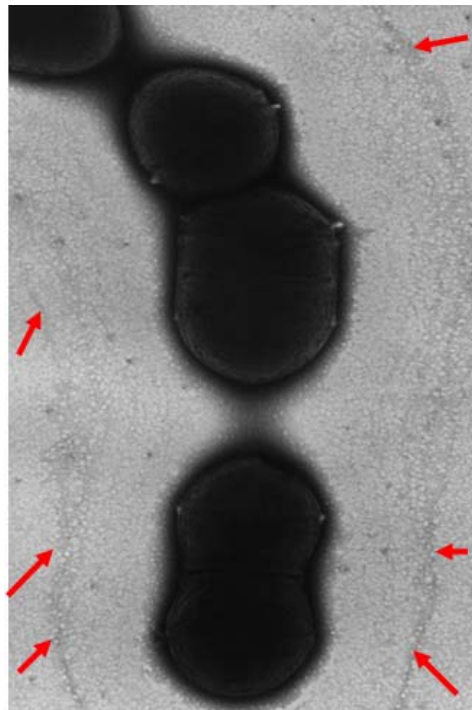
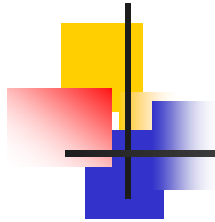
Λοίμωξη (π.χ. φαρυγγίτιδα) με *S. pyogenes* συγκεκριμένου Μ-τύπου → αναμνηστική ανοσολογική απάντηση

Συλλογική ανοσία στους ήδη γνωστούς τύπους

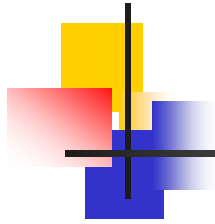
Η επικράτηση νέων Μ-τύπων → αύξηση λοιμώξεων σε ένα "απροστάτευτο ανοσολογικά πληθυσμό".

Σημαντική η επιδημιολογική επιτήρηση των Μ-ορότυπων (emm-τύπων) για τις προσπάθειες παρασκευής εμβολίου

## Έλυτρο



Το έλυτρο υαλουρονικού οξέος έχει συσχετισθεί θετικά αλλά και αρνητικά με την διείσδυση στο εσωτερικό του επιθηλιακού κυττάρου (internalization)



## Εξωτοξίνες

Ερυθρογόνος τοξίνη SpeA (βακτηριοφάγος) → δράση υπεραντιγόνου,

Ερυθρογόνος τοξίνη SpeC (βακτηριοφάγος) → τοξίνη της οστρακιάς

Εξωτοξίνη SpeB (χρωμοσωματική) → Πρωτεάση που υδρολύει την φιλμπρονεκτίνη, δράση υπεραντιγόνου, παράγεται εξ' ορισμού από όλα τα στελέχη *S. pyogenes*

Τοξίνες SpeH, SpeL, SpeM → Οξύς ρευματικός πυρετός

Παράγοντας Sme → Επιτάχυνση απάντησης λεμφοκυττάρων

Παράγοντας Sic → Streptococcal Inhibitor of Complement



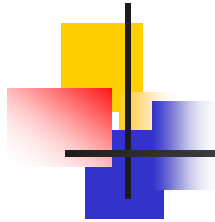
## Εξωτοξίνη SpeB και αλληλεπίδραση με τον ξενιστή

---

Άτομα με ικανότητα να παράγουν μεγάλες ποσότητες αντισωμάτων  
έναντι της SpeB → ισχυρή συσχέτιση με φαρυγγίτιδα - αμυγδαλίτιδα

Άτομα που παράγουν μικρές ποσότητες αντισωμάτων έναντι της  
SpeB → ισχυρή συσχέτιση με διεισδυτικές λοιμώξεις

Μεγάλη σημασία η δυνατότητα αντίδρασης του ξενιστή για το είδος  
της λοίμωξης



## Εξωτοξίνες ως υπεραντιγόνα

Μη ειδική σύνδεση με το σύμπλεγμα TCR-MHC Class II  
Μη ειδική ενεργοποίηση Τ-λεμφοκυττάρων

Παραγωγή IL-1b, IL-2, TNFα, IFNγ  
Έναρξη καταρράκτη φλεγμονώδους αντίδρασης  
“Αποσυντονισμός” του ανοσιακού συστήματος

## *S. pneumoniae* - Παθογένεια

Ο *S. pneumoniae*, σε αντίθεση με τον *S. pyogenes*, παράγει μικρό αριθμό εξωτοξινών

Η παθογένεια της λοίμωξης οφείλεται κυρίως στην προσκόλληση, διείσδυση και αναπαραγωγή στους ιστούς και την συνεπακόλουθη φλεγμονώδη αντίδραση

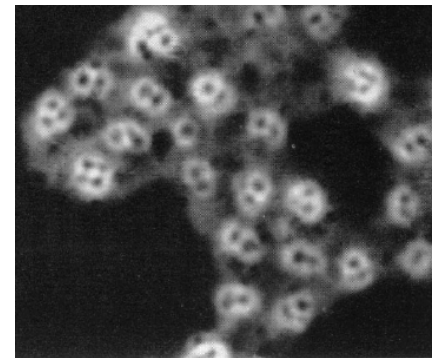


## Πολυσακχαριδικό έλυτρο

Το πολυσακχαριδικό έλυτρο εμποδίζει την σύνδεση των αντισωμάτων και των παραγόντων του συμπληρώματος (C3b)

Εξαιρετικά ετερογενές → κύρια μέθοδος τυποποίησης (οροτυπία)

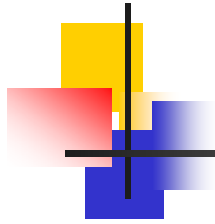
Η παραγωγή αντισωμάτων είναι προφυλακτική έναντι του συγκεκριμένου ορότυπου (πολυδύναμο εμβόλιο)



*Χρώση σινικής μελάνης, x2000*



## *Αλληλεπίδραση επιθηλιακού κυττάρου - *S. pneumoniae**

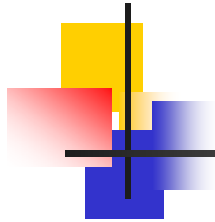


Μεγάλος αριθμός παραγόντων  
προσκόλλησης στα επιθηλιακά κύτταρα

Κυριότερος μηχανισμός παθογένειας



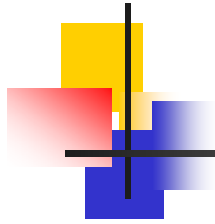
## *S. pneumoniae* - τοξίνες



**Πνευμονολυσίνη:** Προκαλεί καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης του ευκαρυωτικού κυττάρου και ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Παράγεται μετά τη λύση του βακτηριακού κυττάρου

**Αυτολυσίνη:** Ένζυμο που επάγει τη λύση του βακτηριακού κυττάρου και τη συνεπακόλουθη παραγωγή πνευμονολυσίνης

## *H. influenzae* - Παράγοντες παθογονικότητας



### Αντιφαγοκυτταρικοί παράγοντες

- ✓ Πολυσακχαριδικό έλυτρο

### Παράγοντες προσκόλλησης

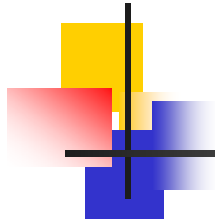
- ✓ Ινίδια (γονίδια *hifA-E*)
- ✓ Προσκολλητίνες (πρωτεΐνες *hmw1-2, hia-hsf*)
- ✓ Πρωτεΐνες *hap* και *iga* (πρωτεάση της εκκριτικής *IgA*)

### Παράγοντες διείσδυσης στο κύτταρο (*internalization*)

- ✓ Πολυσακχαριδικό έλυτρο
- ✓ Ινίδια (γονίδια *hifA-E*)

### Παράγοντες διείσδυσης και διασποράς στους ιστούς (*invasion*)

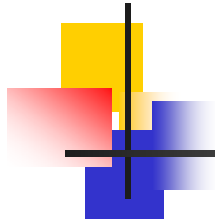
- ✓ Πολυσακχαριδικό έλυτρο
- ✓ Ινίδια (γονίδια *hifA-E*)



## Πολυσακχαριδικό έλυτρο

Τα στελέχη που προκαλούν λοιμώξεις ανώτερου αναπνευστικού (ΜΠΟ) είναι κατά κύριο λόγο μη ελυτροφόρα και άρα μη τυποποιήσιμα

*E. Leibovitz et al, Pediatr Infect Dis J, 2004*



## Πολυσακχαριδικό έλυτρο

**Μη ελυτροφόρα στελέχη**

**Διείσδυση στο εσωτερικό του επιθηλιακού κυττάρου**

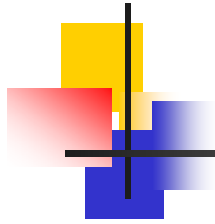
**Διαφυγή ανοσολογικού συστήματος?**

**Πρόκληση τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης**

**Ελυτροφόρα στελέχη**

**Διασπορά στους ιστούς διαμέσου επιθηλιακής  
στοιβάδας**

**Πρόκληση συστηματικής λοίμωξης**



## Ινίδια προσκολλητικότητας

---

**Φαίνεται να εκφράζονται περισσότερο σε στελέχη που δεν έχουν πολυσακχαριδικό έλυτρο**

**Συμμετέχουν στην προσκόλληση και είσοδο στο εσωτερικό του επιθηλιακού κυττάρου**

# Εντεροτοξινογόνα *E. coli* (ETEC) Παράγοντες παθογονικότητας

## Παράγοντες προσκόλλησης

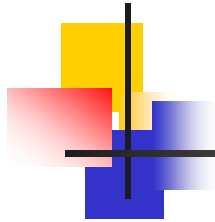
- ✓ Παράγοντες αποικισμού (CF) → πλασμιδιακής προέλευσης προσκολλητίνες με εκλεκτικό τροπισμό στο επιθήλιο του εντέρου
- ✓ Tib, Tia → Χρωμοσωματικής προέλευσης προσκολλητίνες που η σύνδεσή τους προάγει την έκκριση της τοξίνης

## Τοξίνες

- ✓ Θερμοανθεκτικές εντεροτοξίνες (STa, STb, EST1)
- ✓ Θερμοευαίσθητη εντεροτοξίνη (LT) → τοξίνη τύπου AB
- ✓ Πρωτέαση (EatA)
- ✓ Κυτταροτοξίνη (ClyA)

# ETEC *E. coli*

Προσκόλληση και έκκριση τοξινών τοπικής δράσης



## Έκκριση τοξινών

ST<sub>a</sub>, ST<sub>b</sub>, EST<sub>1</sub>

LT, EatA, ClyA

Επαγωγή έκκρισης και αναστολή επαναρρόφησης υγρών από το έντερο





# Εντεροαιμορραγικά *E. coli* (ΕΗΕC) Παράγοντες παθογονικότητας

## Παράγοντες προσκόλλησης

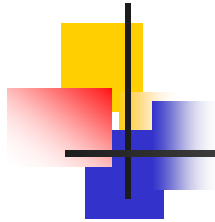
- ✓ Ινίδια τύπου IV (Bfp) → Προσκόλληση στο επιθήλιο του εντέρου  
→ Επικοινωνία μεταξύ βακτηριακών κυττάρων (Quorum Sensing)
- ✓ Μαστίγια, κροσσοί, τριχίδια

## Τοξίνες

- ✓ Shiga-like τοξίνες (Τοξίνες τύπου AB) → Stx1, Stx2, Stx2c
- ✓ Πρωτεάση εντεροβακτηριακών τύπου SPATE (StcE)
- ✓ Αιμολυσίνες (α, β, γ)

# ΕΗΕC *E. coli*

Προσκόλληση και έκκριση τοξινών τοπικής και συστηματικής δράσης



## Έκκριση τοξινών

Shiga-like, πρωτέασες, αιμολυσίνες

Τοπική φλεγμονώδης αντίδραση, τοπική και συστηματική αιμόλυση



## Εντεροδισδυτικά *E. coli* (ΕΑΕC) Παράγοντες παθογονικότητας

### Παράγοντες προσκόλλησης και διείσδυσης

- ✓ Κροσσοί τύπου AAF (Aggregative adherence fimbria I/II)
- ✓ Μαστίγιο

### Τοξίνες

- ✓ Πρωτεάση εντεροβακτηριακών τύπου SPATE (Pet)
- ✓ Εντεροτοξίνη (EAST1) πλασμιδιακής προέλευσης
- ✓ Εντεροτοξίνη (ShET1) χρωμοσωματικής προέλευσης

### Παράγοντες επαγωγής της τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης

- ✓ Μαστίγιο → επαγωγή παραγωγής IL-8

## ΕΑΕC *E. coli*

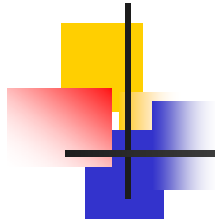
Προσκόλληση, διείσδυση στο επιθήλιο και έκκριση τοξινών τοπικής δράσης

---

### Μαστίγιο

Προσκόλληση, διείσδυση, επαγωγή τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης

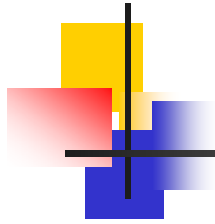
Διείσδυση και τοπική φλεγμονώδης αντίδραση



# QUORUM SENSING

---

Η επικοινωνία των μικροοργανισμών μεταξύ τους



# QUORUM SENSING

Τρόπος επικοινωνίας και συνεργασίας των μικροβιακών κυττάρων προκειμένου να εκφράσουν την επιθετική ή την αμυντική τους συμπεριφορά

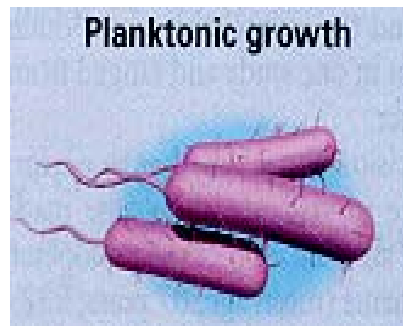
Στο επίπεδο της ομάδας βακτηριακών κυττάρων → "συνεργασία" έναντι δυσμενών παραγόντων του περιβάλλοντος και των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή

Στο επίπεδο του ενός βακτηριακού κυττάρου → συντονισμός των πολλαπλών παραγόντων παθογονικότητας

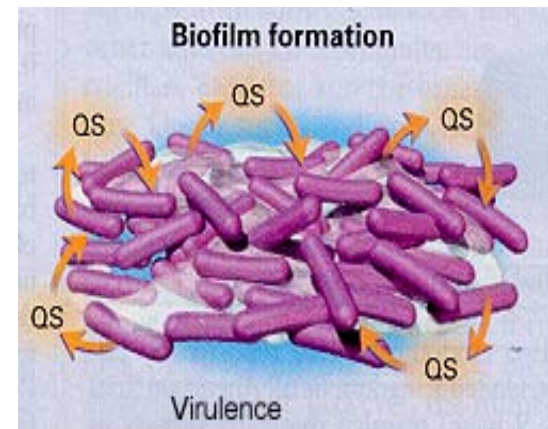
## QUORUM SENSING - Ορισμοί

QUORUM → **απαρτία**  
SENSING → **αίσθηση**

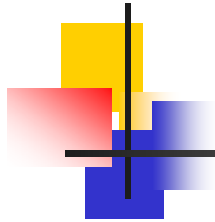
Ελευθέρως δρώντα (κινούμενα) κύτταρα ≠ Ομαδικώς δρώντα κύτταρα



Planktonic cells (Ελευθέρως κινούμενα)



Σχηματισμός βιομεμβράνης (biofilm)



## QUORUM SENSING - Ορισμοί

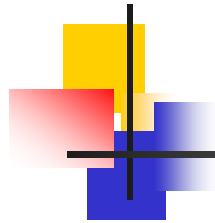
---

Η δημιουργία της βιομεμβράνης επάγει την επικοινωνία λόγω αύξησης του αριθμού των κυττάρων και της εγγύτητας τους (συγχρωτισμός), με αποτέλεσμα την επαγωγή της έκφρασης των παραγόντων παθογένειας ως άμυνα του πληθυσμού

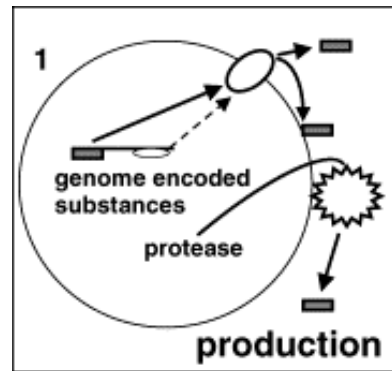
Τα βακτηριακά κύτταρα, στα πλαίσια της βιομεμβράνης δεν δρουν ατομικά, αλλά με ομαδικό και συστηματικό τρόπο, που ομοιάζει με τις αντιδράσεις πολυκύτταρων οργανισμών



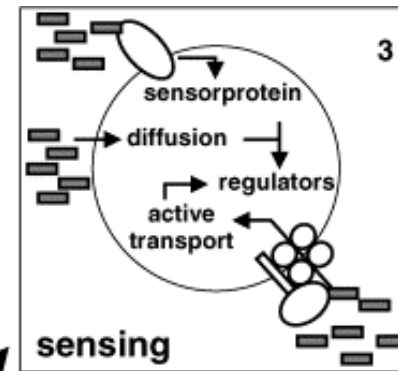
# QUORUM SENSING - Διαδικασία



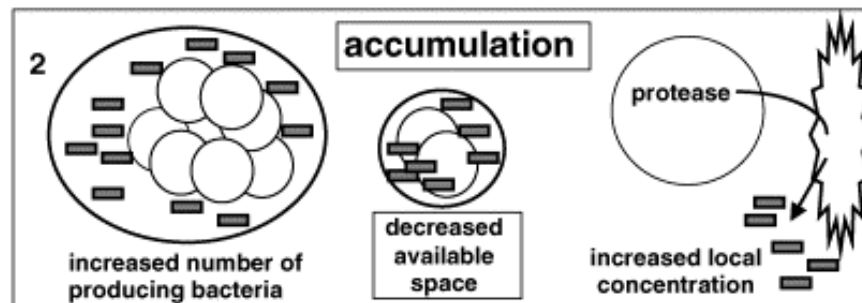
Παραγωγή  
μακρομορίου  
σήματος



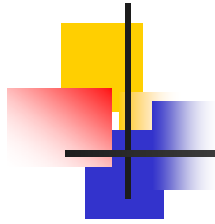
Ανάδρομη ρύθμιση  
Θετική ή αρνητική



Ανίχνευση  
μακρομορίου  
σήματος



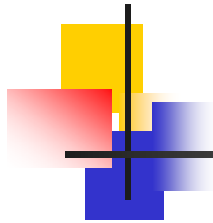
Αύξηση συγκέντρωσης μακρομορίου σήματος



## Τι είναι η βιομεμβράνη (biofilm)

Ομάδα μικροβιακών κυττάρων σε σχηματισμό (μήτρα) πολυμερούς ουσίας, που αυτά παράγουν και η οποία προσκολλάται σε αδρανείς ή ζώσες επιφάνειες

- ◆ *S. epidermidis - CoNS*
- ◆ *S. aureus*
- ◆ *P. aeruginosa*
- ◆ *Streptococci*
- ◆ *C. albicans*



## Τι λοιμώξεις προκαλούνται

Είδη λοιμώξεων

Οστεομυελίτις

Τερηδόνα-περιοδοντίτιδα

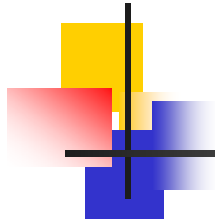
Βακτηριακή προστατίτιδα

Λοιμώξεις καθετήρων, καρδιακών βαλβίδων

Χαρακτηριστικά λοιμώξεων

Χρόνιες, με σχετικά ήπια συμπτωματολογία αλλά συχνές υποτροπές

Δυσκολία αντιβιοτικής Θεραπείας για την εκρίζωση,  
Κυρίως Θεραπεία υποτροπών



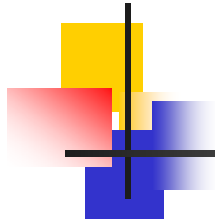
## Διαδικασία σχηματισμού

Αρχική προσκόλληση - σχηματισμός μικροαποικίας

Πρώιμη εκθετική φάση ανάπτυξης βακτηρίων (λίγα κύτταρα) → έκφραση επιφανειακών μορίων (πρωτεΐνες) → QS → έναρξη σχηματισμού βιομεμβράνης → Παραγωγή πολυσακχαριδίου (slime)

Ωρίμανση biofilm → Ελευθέρωση κυττάρων (υδρόλυση πολυσακχαριδίου, απόσπαση τμήματος)

Όψιμη εκθετική φάση ανάπτυξης (πολλά κύτταρα) → έκφραση εξωκυττάρων πρωτεϊνών (τοξίνες, ένζυμα) → παθογονικότητα



## Γιατί δεν δρουν τα αντιμικροβιακά στις βιομεμβράνες ?

Επιβραδυνόμενη ή ατελής είσοδος των αντιβιοτικών

Υψηλές βακτηριακές συγκεντρώσεις

Επιβραδυνόμενη ανάπτυξη βακτηρίων

Μεταβαλλόμενο μικρο-περιβάλλον

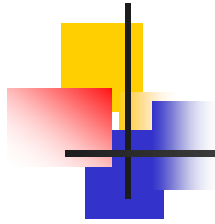
*Lancet 2001, 358: 135*



## ΑΝΤΙ-ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Σκευάσματα αναστολής της ενεργοποίησης του Quorum Sensing (Quorum Sensing Inhibitors) → νέα γενιά αντιμικροβιακών φαρμάκων (αντιπαθογόνων)

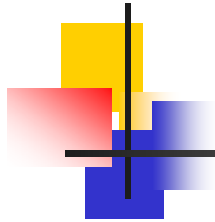
- ◆ Δεν είναι τοξικά για τα ευκαρυωτικά κύτταρα (απουσία παρενεργειών)
- ◆ Οι μεταλλάξεις των υποδοχέων στόχων δεν οδηγούν σε αντοχή
- ◆ Αναστολή των οδών ρύθμισης και πολ/σμού → αναστολή του QS → αναστολή της παθογένειας
- ◆ Ο μικροοργανισμός εξακολουθεί να υπάρχει αλλά δεν προκαλεί νόσο



## Φυσιολογική χλωρίδα

---

Συμβίωση και ανταγωνισμός των μικροοργανισμών



## Φυσιολογική χλωρίδα

Οι μικροοργανισμοί που καλύπτουν τις επιφάνειες των βλεννογόνων, του δέρματος και των ανοικτών κοιλοτήτων, οι οποίοι συμβιώνουν με τον μεγαλοοργανισμό

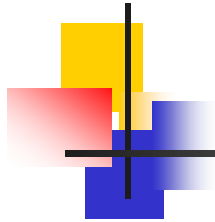
Ενήλικας:  $10^{13}$  ευκαρυωτικά κύτταρα  $\leftrightarrow$   $10^{14}$  μικροοργανισμοί  
(Για κάθε 1 ευκαρυωτικό κύτταρο  $\leftrightarrow$  10 μικροοργανισμοί)

Σε ολόκληρο τον πλανήτη υπολογίζεται ότι υπάρχουν:

> $10^8$  διαφορετικά είδη μικροοργανισμών

> $6 \times 10^{30}$  κύτταρα μικροοργανισμών (~ 60% της βιομάζας)





## Φυσιολογική χλωρίδα

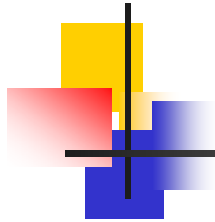
---

Η σύνθεση των μικροοργανισμών που συγκροτούν τη φυσιολογική χλωρίδα εξαρτάται από την ανατομική θέση και την ηλικία και διατηρείται σε γενικές γραμμές σταθερή, τόσο από ποσοτική όσο και από ποιοτική άποψη

Μπορεί να επηρεασθεί από περιβαλλοντικούς παράγοντες (δίαιτα, συνθήκες υγιεινής, περιβάλλον εργασίας κλπ.)

Ειδική χλωρίδα ανάλογα με την περιοχή του σώματος

Τροπισμός μικροοργανισμών προς ορισμένους ιστούς και περιοχές του σώματος



## Φυσιολογική χλωρίδα

### Ανάπτυξη ανοσολογικού συστήματος

Παραγωγή αντισωμάτων σε απάντηση των ερεθισμάτων από τον αποικισμό με διαφορετικά και εναλλασόμενα είδη

### Παρεμπόδιση εγκατάστασης παθογόνων μικροβίων και διατήρηση της οικολογικής ισορροπίας

Κατάληψη των υποδοχέων των ευκαρυωτικών κυττάρων

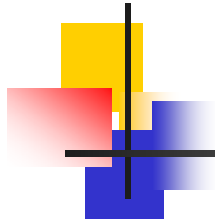
Δημιουργία δυσμενούς περιβάλλοντος (τοξικά προϊόντα, χαμηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό)

Κατανάλωση τροφής σε τοπικό επίπεδο

### Βιοσύνθεση θρεπτικών στοιχείων (βιταμίνες κλπ.)

Παραγωγή βιταμίνης Κ που απορροφάται στο έντερο

Μεταβολισμός πρωτεϊνών και χολικών αλάτων



## Ανατομικές διαφορές

---

Διαφορετικά είδη αποικίζουν ανάλογα με:

Την ανατομική περιοχή

Την ηλικία

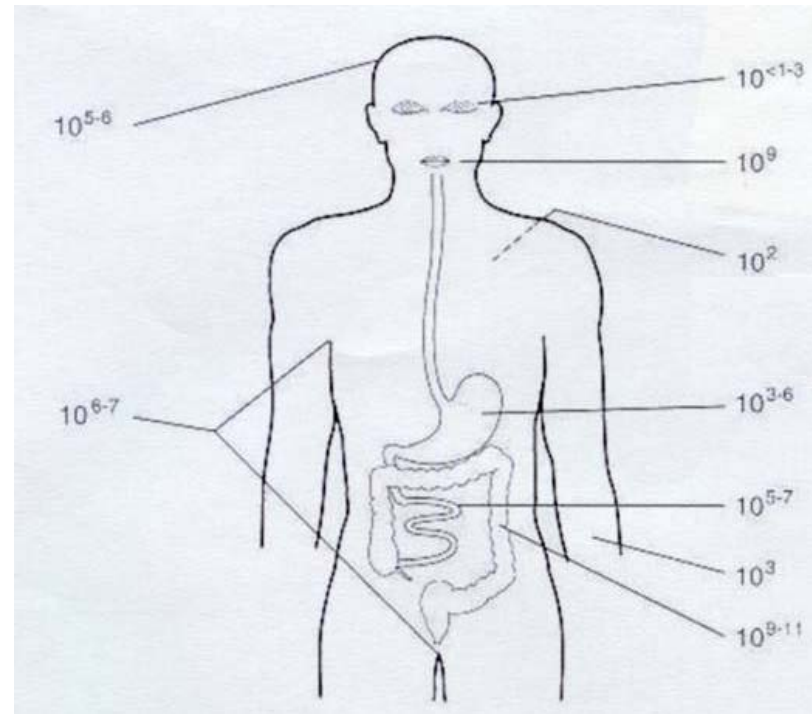
Το φύλο

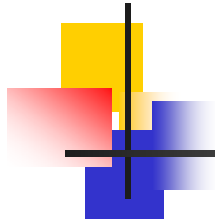
Την διατροφή

Τις έξεις και τον τρόπο ζωής

## Ανατομικές διαφορές - Παραδείγματα

Δέρμα  
Στοματική κοιλότητα  
Παχύ έντερο  
Κόλπος





## Ανατομικές διαφορές - Δέρμα

### Coagulase Negative Staphylococci

Δέρμα τριχωτού κεφαλής → *S. capitis*

Δέρμα έξω ακουστικού πόρου → *S. auricularis*

Δέρμα μασχάλης → *S. hominis*, *S. haemolyticus*

Δέρμα ηβικής περιοχής → *S. haemolyticus*

Δέρμα δακτύλων → *S. saprophyticus*

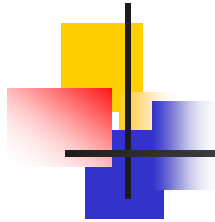
### Micrococci (*M. luteus*)

Περισσότερο σε γυναίκες και παιδιά παρά σε άντρες

### *Propionibacterium acnes*

Περιστασιακά στο δέρμα νεογνών (<10 cfu/cm<sup>2</sup>)

Επανεμφάνιση 1-3 έτη πριν την εφηβεία (>10<sup>6</sup> cfu/cm<sup>2</sup>),  
κυρίως στο πρόσωπο και τον άνω τμήμα του θώρακα



## Ανατομικές διαφορές - Δέρμα

*Corynebacterium* spp.

Gram-αρνητικά βακτήρια

*Acinetobacter* spp → μασχάλες, δάχτυλα ποδιών, βουβωνική περιοχή, αντιβράχιο

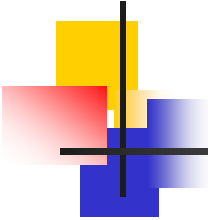
*Proteus, Pseudomonas* spp. → δάχτυλα ποδιών

*Enterobacter, Klebsiella* spp → δάχτυλα χεριών

Μύκητες

*Malassezia* spp.

Πλύσιμο με σαπούνι → ελάττωση έως και 90%, όμως επαναποικισμός σε λιγότερο από 8h



## Ανατομικές διαφορές - Στοματική κοιλότητα

Άνω των 200 διαφορετικών ειδών (~ 100 γνωστά)  
Συγκεντρώσεις:  $10^8$  cfu/ml (επιφάνεια γλώσσας) →  $10^{12}$   
cfu/ml οδοντικές σχισμές

Νεογνά και νήπια

*Streptococcus* spp.

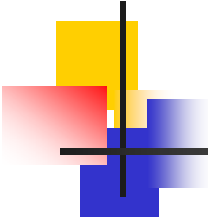
*Neisseria, Veillonella, Lactobacillus, Candida*

Παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας (οδοντοφυΐα) και ενήλικες

*Prevotella, Actinomyces, Bacteroides, Capnocytophaga*

*Viridans Group Streptococci*

*Streptococcus mutans* → οδοντική πλάκα



## Ανατομικές διαφορές - Στοματική κοιλότητα

---

### Διαφορετικά οικοσυστήματα

Οδοντικές σχισμές → αναερόβια

Οδοντική πλάκα → αναερόβια, *S. mutans*

Επιφάνεια της γλώσσας → Viridans Streptococci

Χείλη → CoNS

Αμυγδαλές → αναερόβια





## Ανατομικές διαφορές - παχύ έντερο

Άνω των 300 διαφορετικών ειδών

30% του ξηρού βάρους κοπράνων ( $10^{12}$  cfu/gr)

98% της συνολικής χλωρίδας αναερόβια (10.000/1)

*Bifidobacterium, Eubacterium, Bacteroides, Clostridium spp.*

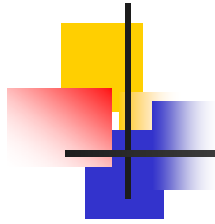
Νεογνά και νήπια που θηλάζουν

*Bifidobacterium, Lactobacillus spp.*

Νεογνά και νήπια που λαμβάνουν "τεχνητό" γάλα

*Enterobacteriaceae, Clostridium, Bacteroides spp.*

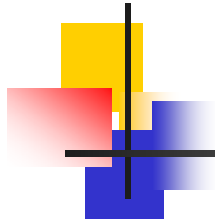
*B. fragilis* → 100% νεογνών που αποκλειστικά έλαβαν "τεχνητή" διατροφή vs 10% των νεογνών που αποκλειστικά θήλασαν



## Ανατομικές διαφορές - κόλπος

Σημαντική η διαφοροποίηση σε σχέση με την ηλικία και την ορμονική κατάσταση

- ◆ Μετά το 1<sup>ο</sup> 24ωρο: διφθεροειδή, *Micrococci*, *Streptococci*
- ◆ 4<sup>η</sup>-6<sup>η</sup> ημέρα: οιστρογόνα θηλασμού → εναπόθεση γλυκαγόνου στο επιθήλιο → Γαλακτοβάκιλλοι → διάσπαση γλυκαγόνου με παραγωγή οξέως → πτώση pH → εξαφάνιση λοιπής χλωρίδας
- ◆ Διακοπή θηλασμού: Χλωρίδα από δέρμα και περίνεο
- ◆ Εφηβεία: ενδογενή οιστρογόνα → επαναφορά γαλακτοβακίλλων και επιπλέον διφθεροειδή, *Micrococci*, αναερόβιοι στρεπτόκοκκοι και λιγότερο *CoNS* και *Enterococci*
- ◆ Κύηση: Ελάττωση αναεροβίων, αύξηση γαλακτοβακίλλων
- ◆ Εμμηνόπαυση: Χλωρίδα από δέρμα και περίνεο



## Ανατομικές διαφορές - κόλπος

---

### Διαφορές ανάλογα με την μέθοδο αντισύλληψης

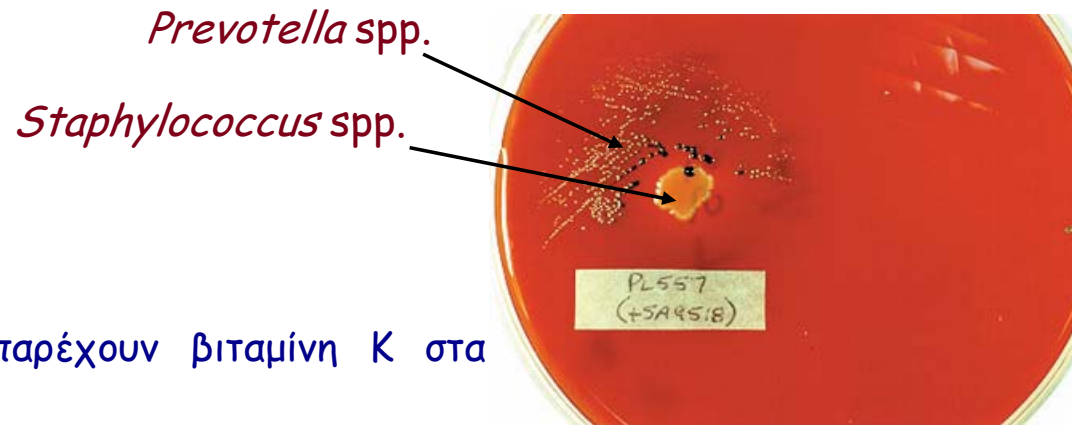
Αντισυλληπτικό χάπι: Ελάττωση γαλακτοβακίλλων

Σπιράλ: Πιθανός αποικισμός από *S. aureus*

Τοπικά σπερματοκτόνα διαλύματα: Συνολική καταστροφή χλωρίδας

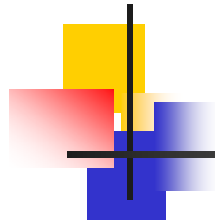
## Αντί συμπερασμάτων - 1

Η σχέση των ειδών της φυσιολογικής χλωρίδας μεταξύ τους και με τον ξενιστή είναι συμβιωτική και αλληλοεξαρτώμενη

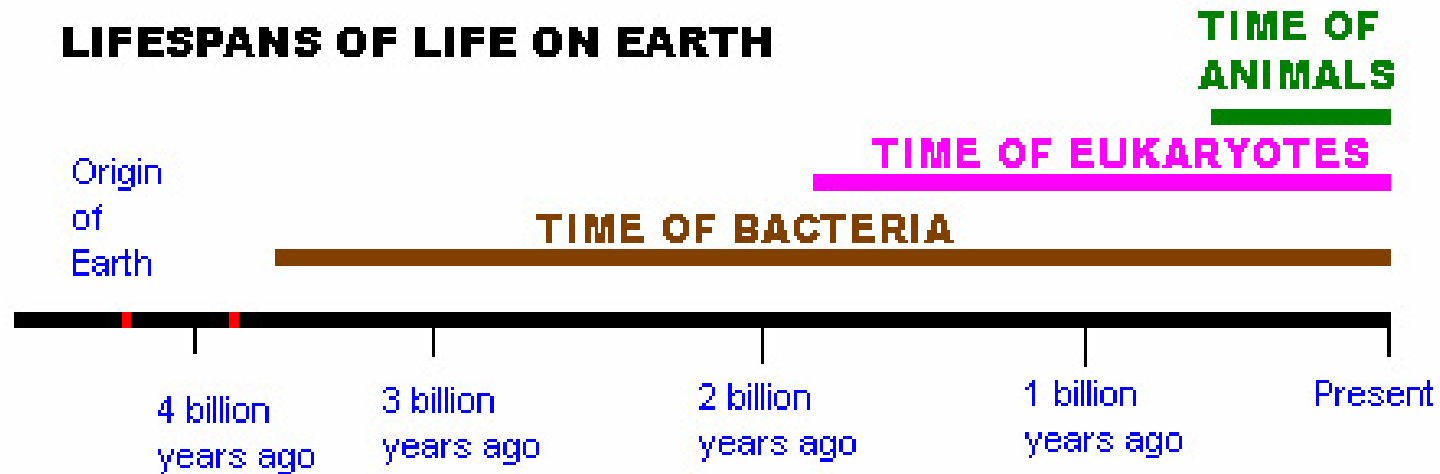


*Staphylococcus* spp. → παρέχουν βιταμίνη Κ στα στελέχη *Prevotella* spp.

*E. coli* → παρέχει το σύστημα απτοσφαιρίνης - αιμοσφαιρίνης ως πηγή σιδήρου στα στελέχη *B. fragilis*



## Αντί συμπερασμάτων - 2



Τα βακτήρια προϋπήρχαν κατά πολύ της εμφάνισης του ανθρώπου στην Γη.  
 Το πιθανότερο είναι ότι θα εξακολουθήσουν να υπάρχουν για περισσότερο  
 και μετά την εξαφάνισή του