

## Scienza

## La subdola strategia del batterio killer

Il temibile Stafilococco aureo si va a nascondere all'interno delle cellule

È (anche) ticinese la scoperta dei meccanismi con cui lo Stafilococco aureo si nasconde nelle cellule, per poi riapparire anche a distanza di molto tempo: una strategia che ha in comune con altri batteri

PAGINA DI  
CRISTINA VALSECCHI

Lo Stafilococco aureo è un incubo per gli infettivologi. Responsabile nell'uomo di numerose patologie, alcune solamente fastidiose come la dermatite e l'otite, altre invalidanti e potenzialmente letali come l'osteomielite, l'artrite e l'endocardite, oggi questo batterio è una delle cause più frequenti di infezioni acquisite all'interno di strutture sanitarie: le cosiddette infezioni nosocomiali. Le ragioni per cui i medici lo temono tanto sono la sua aggressività e virulenza e la sua straordinaria abilità di acquisire e accumulare con facilità resistenze agli antibiotici con cui entra in contatto, tanto che alcuni ceppi del batterio in circolazione sono ormai invulnerabili ai farmaci più comuni (per esempio il famigerato Stafilococco aureo meticillino-resistente, MRSA).

#### Il trucco: una scoperta (anche) ticinese

Ora un gruppo di ricercatori dell'ospedale Universitario di Ginevra e dell'Institute of Food Research di Norwich, in Gran Bretagna, ha svelato nei dettagli il trucco usato dallo Stafilococco aureo per sfuggire ai meccanismi immunitari dell'organismo che infetta. Il medico ticinese Christian Garzoni, che attualmente si è trasferito come infettivologo all'Inselsspital di Berna, e i suoi colleghi a Ginevra e Norwich (dove è attivo un altro ticinese, il biologo Sacha Lucchini) hanno studiato il comportamento del batterio su una linea cellulare di epitelio polmonare umano (la membrana che riveste i polmoni) coltivata in laboratorio.

#### Sparisce e poi riappare

«Era già stato osservato in diverse occasioni che lo Stafilococco aureo ha la capacità di penetrare e di nascondersi all'interno delle cellule dei tessuti infettati, dove non può essere raggiunto dagli anticorpi e dagli antibiotici, e di riemergere anche a distanza di molto tempo, provocando ricadute dell'infezione», spiega Garzoni. Questo fenomeno era stato osservato per una varietà di cellule, dall'epidermide e l'endotelio fino ai fibroblasti e alle cellule ossee. «Per la prima volta abbiamo studiato questo comportamento in laboratorio, analizzando passo passo i cambiamenti che il batterio induce nell'espressione dei propri geni per rendersi invisibile e prepararsi alla lunga attesa», aggiunge l'esperto.

#### Nascosto nelle cellule

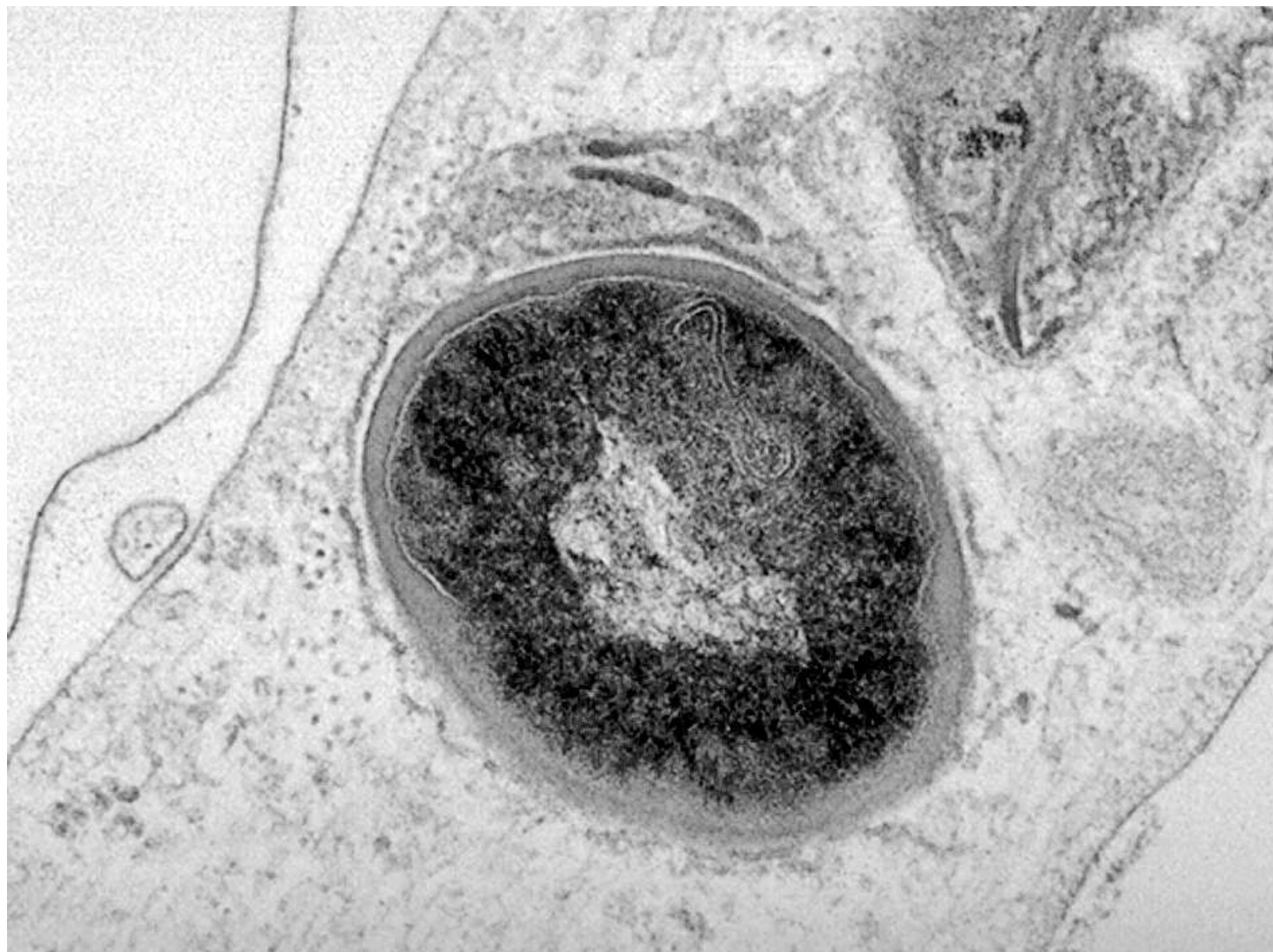
Tre anni fa lo stesso gruppo di ricerca aveva esaminato campioni di mucosa nasale di pazienti affetti da rinosinusiti ricorrenti da Stafilococco aureo e aveva verificato la presenza di batteri nascosti in stato latente all'interno delle cellule. «Un meccanismo di questo tipo spiega in che modo i pazienti sottoposti a trattamenti antibiotici e apparentemente guariti tornano a essere infettati a distanza di mesi, e a volte anche di anni, da microrganismi geneticamente identici a quelli responsabili della prima infezione», dice Garzoni. «Lo stesso fenomeno si presenta a volte nell'osteomielite, un'infezione di origine batterica di un

segmento osseo, che può cronicizzarsi e comportare gravi complicazioni. La malattia, apparentemente sconfitta dopo un lungo trattamento antibiotico ed eventualmente un intervento chirurgico, può tornare a manifestarsi a distanza di mesi. Una parte di queste recidive potrebbe essere dovuta a una riserva di batteri latenti all'interno delle cellule ossee che si riattivano dopo settimane».

Per condurre l'esperimento, descritto sulle pagine della rivista internazionale *BMC Genomics*, i ricercatori hanno coltivato in provetta linee cellulari di epitelio polmonare. «A contatto con queste cellule, i batteri penetrano al loro interno», spiega l'infettivologo. «Questo processo di internalizzazione è facilitato in condizioni di stress del microrganismo, cioè quando lo Stafilococco è sotto attacco da parte del sistema immunitario del paziente o nel corso di un trattamento antibiotico».

#### Il microarray per esaminare il DNA

Il DNA dello Stafilococco aureo comprende circa 2.800 geni. Per esaminarli, Garzoni e i suoi colleghi si sono serviti di una tecnica innovativa: quella dei microarray, sonde molecolari che permettono di misurare la concentrazione di tutti i geni espressi da una cellula o da un microrganismo. «Il nostro laboratorio, sotto la supervisione dei professori Jacques Schrenzel e Patrice Francois, è stato probabilmente il primo a generare un microarray specifico per lo Stafilococco aureo, e ci sono voluti svariati mesi per mettere a punto una tecnica di amplificazione del DNA batterico, presente in piccola quantità all'interno delle cellule», spiega Garzoni. «Sottoponendo a test con i microarray l'in-



tero DNA dello Stafilococco immediatamente dopo il suo ingresso nelle cellule epiteliali e a distanza di due e sei ore, abbiamo osservato che questi batteri riprogrammano massicciamente l'espressione dei propri geni per adattarsi alle nuove condizioni in cui vengono a trovarsi».

#### Si adegua al nuovo ambiente...

Subito dopo l'ingresso nella cellula, lo Stafilococco muta l'espressione di circa 1.050 geni. «Silenzia quelli coinvolti nel metabolismo e nella riproduzione,

si pone in uno stato di latenza e sfrutta alcuni meccanismi della cellula ospite per nutrirsi», dice l'infettivologo. «Al tempo stesso lo Stafilococco potenzia l'espressione dei geni che gli permettono di assorbire alcune sostanze indispensabili, come il ferro, dalla cellula che lo circonda, secerne sostanze per difendersi dai radicali liberi prodotti dalla cellula nel tentativo di ucciderlo e genera una serie di fattori di virulenza, in parte noti in parte ancora da caratterizzare. Il batterio dunque non entra nella cellula per dormire, come si potrebbe pen-

sare, ma mette in atto una serie di cambiamenti per adeguarsi al nuovo ambiente intracellulare».

#### ...e poi ricomincia a riprodursi

A distanza di due e poi di sei ore dall'ingresso, il microrganismo modifica l'espressione di circa 800 geni e ricomincia lentamente a riprodursi nella cellula infettata. «Nel corso dell'esperimento abbiamo verificato la presenza di batteri ancora vitali all'interno delle cellule epiteliali a due settimane dal loro ingresso, uno dei risultati più significativi e in-

novativi dello studio, ma ipotizziamo che *in vivo*, nei tessuti dei pazienti, la permanenza intracellulare dei batteri possa protrarsi anche più a lungo».

L'esperimento portato a termine da Garzoni e dai suoi colleghi apre la strada a ulteriori ricerche per identificare i punti deboli del meccanismo e mettere a punto farmaci in grado di impedire ai batteri di penetrare nelle cellule o capaci di ucciderli nei loro nascondigli.

Consulenza scientifica  
di Marco Cagnotti

#### IDENTIKIT

## Resistente agli antibiotici

Lo Stafilococco aureo è stato il primo microrganismo a infrangere l'illusione che gli antibiotici potessero eradicare la piaga delle malattie infettive. Già pochi anni dopo la diffusione della penicillina sono stati isolati i primi ceppi di questo batterio che avevano sviluppato un'efficace forma di resistenza al farmaco: erano in grado di produrre un enzima che demolisce la molecola della penicillina. Nel 1950 il 40 per cento dei ceppi di Stafilococco aureo isolati in Gran Bretagna era resistente alla penicillina. Alla fine degli Anni Cinquanta è stato introdotto un nuovo antibiotico, la meticillina, resistente all'enzima prodotto dal batterio. Due anni dopo è stato isolato il primo Stafilococco aureo resistente alla meticillina, conosciuto anche con la sigla MRSA.

A livello mondiale è in atto una vera e propria epidemia di questo batterio. In alcuni ospedali la popolazione di Stafilococco aureo resistente alla meticillina supera il 50 per cento. «La Svizzera è parzialmente risparmiata dal fenomeno, ma vi sono grosse variazioni regionali e sono fondamentali le misure di prevenzione, soprattutto all'interno degli istituti di cura», dice Christian Garzoni.



RICERCATORE TICINESE Christian Garzoni.

Oggi il trattamento di prima linea contro le infezioni da Stafilococco aureo resistente a penicillina e meticillina è un farmaco più recente, la vancomicina. Nel 2002, però, è stato riportato il primo caso di resistenza anche a quest'antibiotico. Fortunatamente il nuovo ceppo non è stato ancora isolato in Svizzera.

«La guerra contro i batteri è caratterizzata da successi che hanno una durata più o meno limitata nel tempo: i microrganismi evolvono rapidamente, sfruttando purtroppo anche un cattivo uso degli antibiotici, e rapida-

mente generano resistenze che necessitano un continuo sviluppo di nuove sostanze», commenta l'infettivologo.

Comunemente presente sulla pelle e sulla superficie delle mucose del corpo umano, lo Stafilococco aureo diventa patogeno quando penetra all'interno di una ferita, approfittando di particolari condizioni di debolezza immunitaria della persona infettata. È pericoloso quando attacca soggetti già indeboliti da infezioni virali o da patologie croniche, neonati, anziani o persone immunodepresse per cause genetiche o per l'assunzione di farmaci.

La serietà delle patologie provocate da questo batterio varia a seconda della sede dell'infezione, della virulenza del ceppo responsabile e delle difese immunitarie del paziente: dalle più lievi, come le dermatiti, i foruncoli, gli ascessi, fino a quelle più temibili con un alto grado di mortalità come la polmonite, la setticemia, l'endocardite, l'osteomielite e la meningite. I danni ai tessuti infettati sono dovuti all'azione dei fattori di virulenza, proteine tossiche prodotte dai batteri che hanno l'effetto di distruggere i tessuti. Diversi ceppi producono fattori di virulenza differenti e possono avere effetti più o meno gravi.

#### ALTRI CASI SIMILI

## Ospiti indesiderati

Lo Stafilococco aureo non è l'unico batterio capace di nascondersi all'interno delle cellule del tessuto che infetta. Alcune specie batteriche vivono costantemente in queste condizioni, sfruttano le cellule ospiti per trovare rifugio dagli attacchi del sistema immunitario e, come i virus, procurarsi i principi nutritivi e le molecole di cui hanno bisogno. È il caso della *Chlamydia trachomatis*, responsabile di una delle più comuni infezioni sessualmente trasmissibili.

«Altri batteri sono intracellulari facoltativi, cioè penetrano nelle cellule solo quando ne hanno necessità, come forma di difesa dal sistema immunitario», spiega Christian Garzoni. «Tra questi c'è il *Mycobacterium tuberculosis*, che può permanere allo stato latente nei polmoni di una persona anche per decenni, e la *Listeria monocytogenes*, uno degli agenti patogeni della meningite batterica nei pazienti con le difese immunitarie compromesse».

Quando vengono fagocitati dai macrofagi, cellule del sistema immunitario che distruggono i microrganismi estranei inglobandoli e digerendoli, questi batteri mettono in atto una se-

rie di contromisure per evitare di essere uccisi.

Ogni batterio utilizza una strategia diversa e specifica. Ad esempio, alcuni inattivano gli enzimi digestivi dei macrofagi, altri si diffondono nel loro citoplasma. Alcuni poi si riproducono fino a distruggere la cellula che li ha inglobati, altri ancora invece rallentano il processo riproduttivo o lo sospendono del tutto e rimangono a lungo protetti nel proprio nascondiglio.

«Negli ultimi decenni si sono intensificate in tutto il mondo le ricerche sul comportamento dei patogeni intracellulari e più in generale sui meccanismi di interazione tra i batteri e l'organismo che infettano», spiega il ricercatore ticinese. «Da queste conoscenze stanno emergendo nuovi potenziali trattamenti per combattere malattie persistenti che resistono ai più comuni farmaci e spesso, quando anche sembrano debellate, tornano a manifestarsi a distanza di tempo con recidive. Per esempio, alcune ricerche sono orientate verso la progettazione di molecole in grado di impedire al *Mycobacterium tuberculosis* di trovare rifugio nelle cellule dei polmoni».