



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE**

***Staphylococcus epidermidis:*
DA INNOCUO COMMENSALE DELLA PELLE A PATOGENO OPPORTUNISTA**

***Staphylococcus epidermidis:*
AND ITS DUAL LIFESTYLE IN SKIN HEALTH AND INFECTION**

Tesi di Laurea di:

Viola Priori

Docente Referente
Chiar.mo Prof.

Carla Vignaroli

Sessione Straordinaria – Febbraio 2024

Anno Accademico 2022/23

RIASSUNTO

Staphylococcus epidermidis and its dual lifestyle in skin health and infection, Morgan M. Severn, Alexander R. Horswill, NATURE REVIEW | MICROBIOLOGY, Volume 21, February 2023

Il batterio coagulasi-negativo *Staphylococcus epidermidis* è un membro ubiquitario del microbiota cutaneo umano, in grado di colonizzare la maggior parte dei siti cutanei, soprattutto le zone umide o sebacee, come risulta sia utilizzando metodi di coltura tradizionali che analisi metagenomiche.

Molti studi hanno confermato il ruolo di *S. epidermidis* come membro benefico del microbiota cutaneo, un vero e proprio commensale in quanto capace di promuovere lo sviluppo della barriera cutanea, mantenere l'omeostasi della pelle e impedire ai patogeni opportunisti di causare malattie attraverso meccanismi di «resistenza alla colonizzazione».

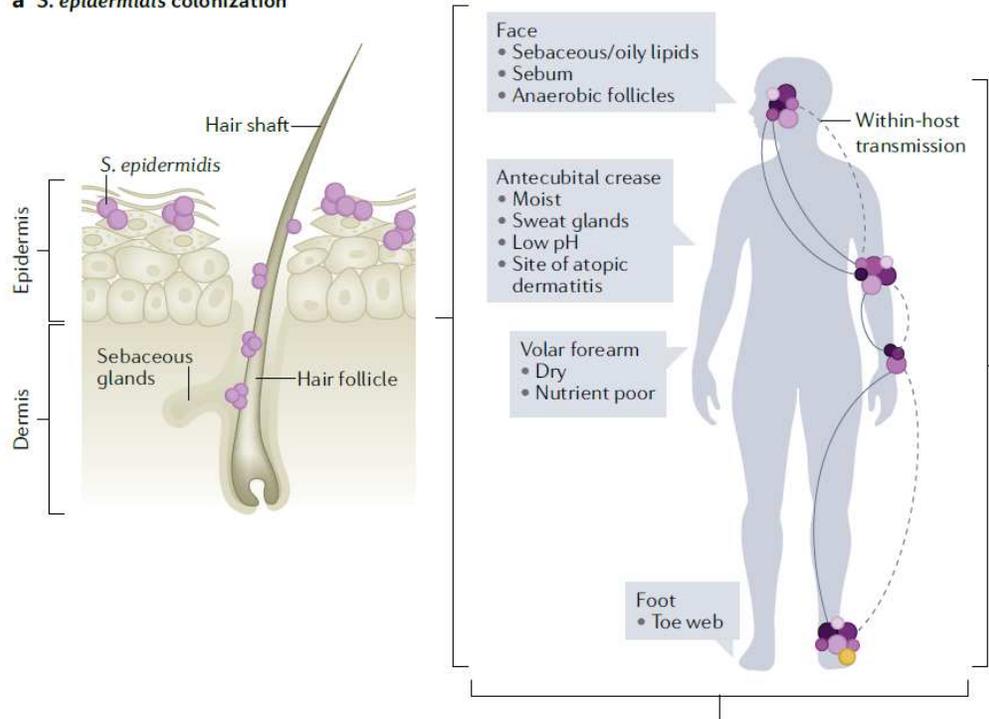
Allo stesso tempo però *S. epidermidis* rappresenta una delle cause più comuni di infezioni associate ad impianti di protesi o dispositivi medici, nonché produttore di biofilm altamente strutturati e complessi di natura sia polisaccaridica che proteica. Inoltre, alcuni ceppi di *S. epidermidis* possono contribuire alla patogenesi delle comuni malattie della pelle (dermatite atopica/seborroica, forfora e rosacea). Infine, è considerato il responsabile del 30-40% delle batteriemie nosocomiali.

Gli alti livelli di resistenza agli antibiotici e la produzione di diversi fattori di virulenza contribuiscono alla patogenicità di alcuni ceppi che possono rappresentare un problema dal punto di vista terapeutico.

Recentemente si è assistito ad un crescente interesse per *S. epidermidis* per il suo possibile utilizzo come bioterapeutico per il trattamento di determinati disturbi cutanei.

MORFOLOGIA STRUTTURALE - I

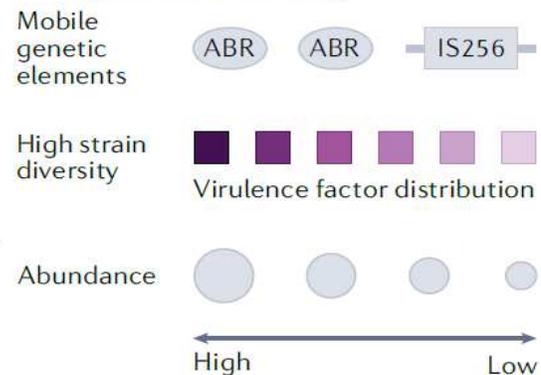
a *S. epidermidis* colonization



S. epidermidis

- Batterio Gram + appartenente al genere degli stafilococchi
- Coagulasi-negativo (CoNS)
- Membro del microbiota cutaneo umano
- Colonizza diversi siti della pelle, a diverse densità (compreso lo strato corneo più esterno così come l'interno del follicolo pilifero)

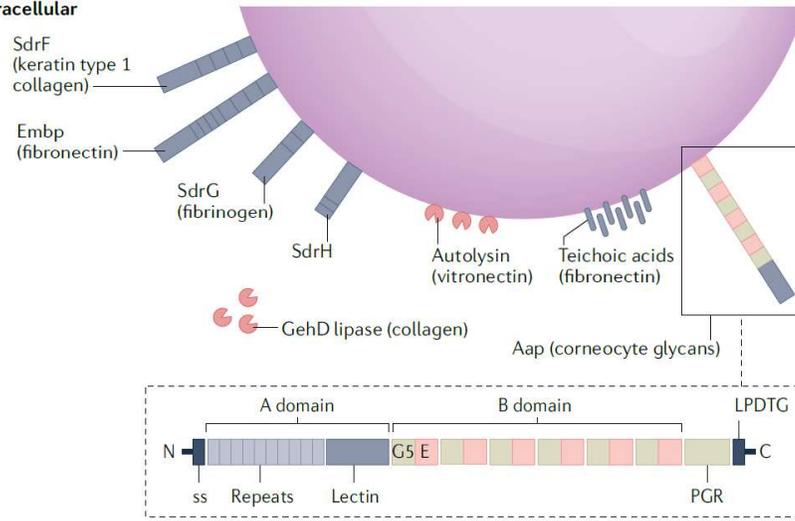
b *S. epidermidis* diversity



- I ceppi di *S. epidermidis* che colonizzano la pelle mostrano una elevata diversità genetica correlata all'ospite e ai siti della pelle colonizzati
- Il 20% del genoma varia tra i ceppi e questa porzione include geni per fattori di virulenza e geni di resistenza agli antibiotici (ABR) che possono essere condivisi attraverso meccanismi di trasferimento genetico orizzontale (HGT) di elementi genetici mobili.
- Molti elementi mobili come la sequenza di inserzione IS256 sono stati associati alla propensione di certi ceppi di *S. epidermidis* di causare infezione
- Siti del corpo colonizzati da concentrazioni variabili di *S. epidermidis* con più alta densità nei siti umidi o sebacei

MORFOLOGIA STRUTTURALE - II

a Adhesion to skin and extracellular matrix ligands



Lega i componenti della pelle e la matrice extracellulare attraverso l'espressione di adesine



La proteina Aap (*accumulation-associated protein*) è un'adesina implicata nell'adesione allo strato corneo: è una grande fibrilla bastoncellare (140 kDa) ancorata alla parete cellulare dalla sortasi tramite il motivo LPDTG nell'estremità terminale carbossilica.

S. epidermidis esprime anche varie altre proteine ancorate alla parete cellulare importanti per legare i componenti della matrice cutanea → **Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules (MSCRAMM)**:

- SdrF → lega la cheratina e il collagene di tipo I
- SdrG → lega il fibrinogeno
- SdrH → il suo ruolo nel legare i substrati cutanei resta da determinare

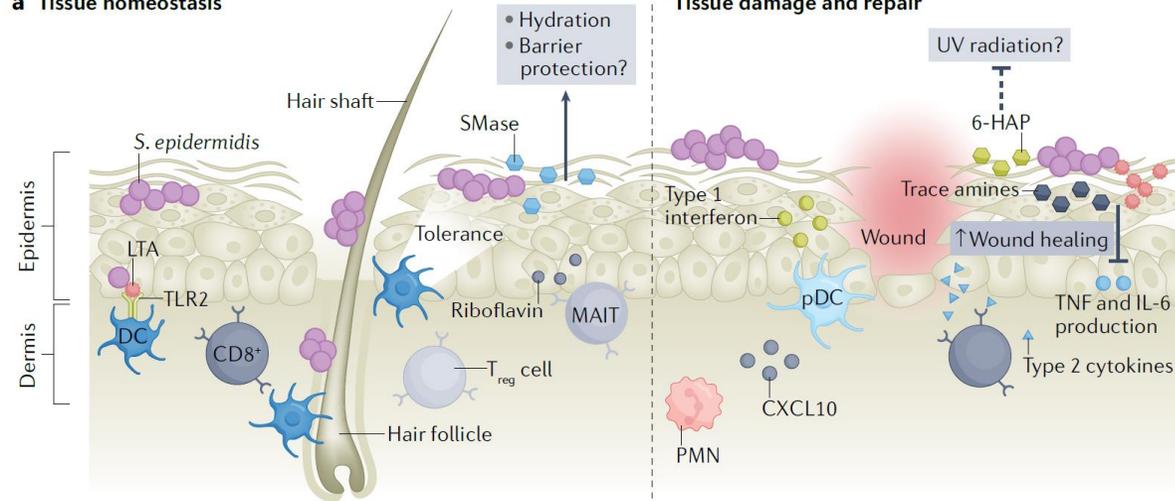
Altre proteine associate alla parete cellulare **non MSCRAMM** con ruoli nell'adesione cellulare includono:

- Atl → autolisina bifunzionale
- Embp → proteina di superficie gigante lega la vitronectina
- GehD → lipasi bifunzionale che lega fibronectina e collagene

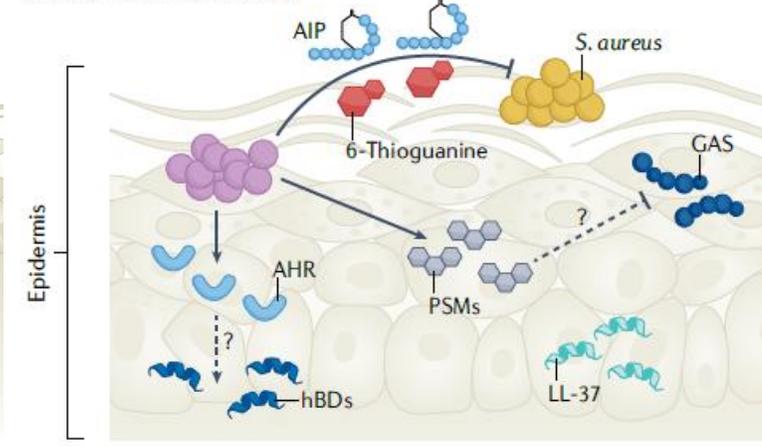
Acidi teicoici → migliora il legame con la fibronectina

STILE DI VITA COMMENSALE

a Tissue homeostasis



b Colonization resistance



OMEOSTASI CUTANEA

- La colonizzazione cutanea da *S. epidermidis* nel follicolo pilifero innesca la risposta immunitaria cutanea per tollerare la futura colonizzazione attraverso l'attivazione di cellule T regolatorie (T_{reg})
- Riboflavina → rilevata da cellule MAIT
- Cellule T CD8⁺ migrano grazie a cellule dendritiche CD11B⁺
- LTA rilevato da cellule dendritiche, tramite i recettori TLR2
- Produzione di sfingomielinasi (Smasi) → aumenta il contenuto di ceramide, promuove l'idratazione della pelle e integrità della barriera

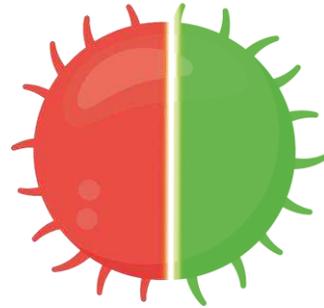
RIPARAZIONE DELLA BARRIERA CUTANEA DOPO LESIONI

- Prodotti molecolari di *S. epidermidis* (es. ammine) attenuano la risposta infiammatoria (cioè la produzione di TNF e IL-6) per favorire la guarigione delle ferite
- I leucociti polimorfonucleati (PMN) richiamati da *S. epidermidis* stimolano le cellule dendritiche pDC a produrre gli interferoni di tipo I nel sito della ferita per favorire la guarigione
- Citochine di tipo 2, prodotte da cellule T CD8⁺, indotte da *S. epidermidis*, favoriscono la riparazione delle ferite

RESISTENZA ALLA COLONIZZAZIONE

- *S. epidermidis* esclude patogeni dalla pelle, quali streptococchi di gruppo A (GAS) e *S. aureus*
- AIP bloccano quorum sensing di *S. aureus*
- 6-tioguanina, analogo delle purine, inibisce la biosintesi delle purine di *S. aureus*
- Le moduline fenolosolubili (PSM) di *S. epidermidis* sinergizzano con i peptidi antimicrobici (AMP) dell'ospite come LL-37, per aumentare l'uccisione di *S. aureus* e GAS
- Fattori non noti prodotti da *S. epidermidis* stimolano i cheratociti a produrre defensine (hBDs)

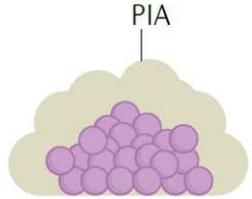
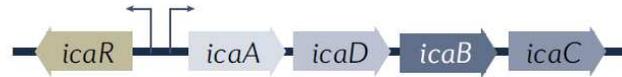
STILE DI VITA PATOGENO



- Può diventare patogeno → infezioni post-chirurgiche opportunistiche “accidentali” molto pericolose (ceppo infettivo = ceppo colonizzante)
- Leader causa di infezioni → associate ad impianti di protesi o dispositivi medici: endocardite valvolare protesica, infezioni da pacemaker cardiaco, cateteri endovenosi, protesi vascolari e articolari, shunt innesti vascolari
- Malattie della pelle → dermatite atopica, forfora, dermatite seborroica e rosacea
- Responsabile del 30-40% delle batteriemie nosocomiali (spesso risultato di una precedente infezione da biofilm catetere-correlata che si è disseminata nel flusso sanguigno)
 - causa predominante di sepsi ad esordio tardivo nella popolazione neonatale pretermine con complicanze a lungo termine dovute all’infezione (compromissione dello sviluppo neurologico e paralisi cerebrale)

FORMAZIONE E RUOLO DEL BIOFILM

Polysaccharide dependent



- Protection from immune and shear stress
- Protection from desiccation?

Patogenicità = biofilm altamente strutturati e complessi su superfici artificiali come protesi e cateteri

Operone *icaADBC* → codifica per **PIA** (*Polysaccharide Intracellular Adhesin*)

→ potenziale determinante associato agli isolati di *S. epidermidis* invasivi rispetto a quelli commensali

- Costituito da residui ripetuti di N-acetilglucosamina
- Produzione collegata alla protezione del biofilm maturo dal sistema immunitario, da antibiotici o stress meccanici; intrappola l'acqua e protegge le cellule batteriche dall'essiccazione sulla superficie della pelle (da indagare)

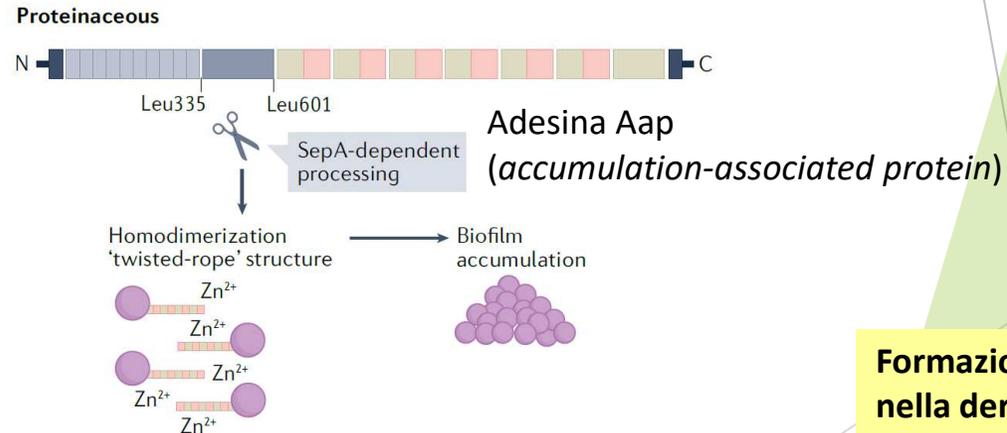
Formazione di BIOFILM PROTEICI attraverso interazione di proteine associate alla superficie (Aap: ne media adesione e accumulo)

Dominio A di Aap: media adesione iniziale alle superfici

1. Taglio enzimatico del dominio A mediato da **SepA** per esporre il dominio B

2. Omodimerizzazione del dominio B in modo Zn dipendente

formazione di biofilm



Sep A taglia il dominio A di Aap a livello degli aa Leu335 e Leu601

Formazione e ruolo del biofilm nella dermatite atopica:

I biofilm di *S. epidermidis* nelle lesioni occludono i dotti sudoripari ed esacerbano la malattia attraverso l'induzione del prurito

PREVALENZA CLINICA

- Ceppi ST2 → nosocomiali e resistenti ai farmaci, considerati forti produttori di biofilm e altamente invasivi
- Ceppi HA-ST23 → profili di acidi teicoici di parete alterati (WTA) che aumentano la patogenesi in un modello di sepsi murina. Consentono un'efficiente trasduzione fagica di materiale genetico tra ceppi di *S. epidermidis* e *S. aureus* meticillino-resistenti, MRSE e MRSA (principali agenti patogeni in ambito nosocomiale)

HA-ST23 = minaccia importante a livello globale per la salute dei pazienti

RESISTENZA AI FARMACI

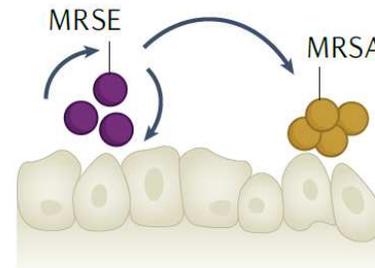
I ceppi di *S. epidermidis* codificano vari geni di resistenza agli antibiotici spesso su elementi genetici mobili. La resistenza alla meticillina negli isolati nosocomiali di *S. epidermidis* è stata riportata al 70% o superiore; è frequentemente correlata con la resistenza ad altre classi di antibiotici e la capacità di sviluppare resistenza a tutte le classi di antibiotici è segnalata in *S. epidermidis*.

MRSE sono frequenti anche nella flora normale cutanea di individui sani.

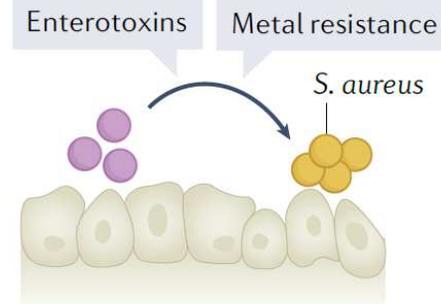
Gli alti livelli di resistenza agli antibiotici e i numerosi geni di virulenza condivisi tra MRSA e MRSE rappresentano una continua minaccia per la cura del paziente e per gli esiti delle infezioni.

c Inter-species genetic transfer

SCCmec



Virulence factors



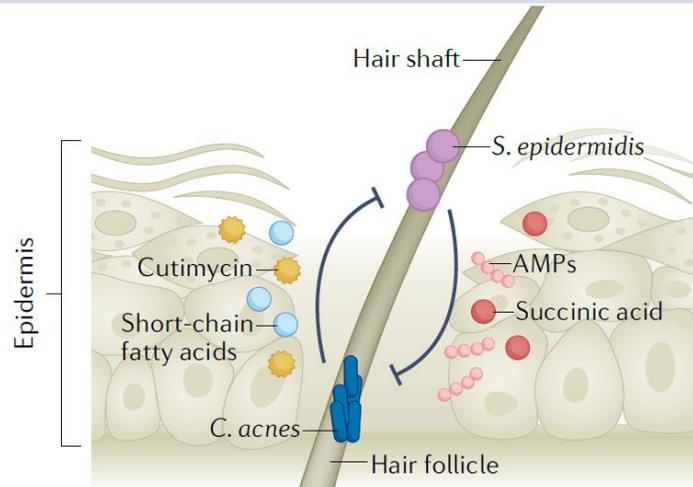
COMPETIZIONE MICROBICA

S. epidermidis compete con patogeni opportunisti e membri endogeni della normale flora cutanea per il dominio di nicchia



Competizione con *Cutibacterium acnes*: colonizzatore dominante del follicolo pilifero; espansione correlata alla progressione di acne vulgaris (comune malattia della pelle). Incontra e compete con *S. epidermidis* nel follicolo attraverso la produzione di cutimicina. Inibisce la formazione del biofilm di *S. epidermidis* e sensibilizza quest'ultimo all'azione di antibiotici attraverso la produzione di diversi acidi grassi a catena corta.

S. epidermidis contrasta questa competizione attraverso la produzione di AMP e la fermentazione del glicerolo disponibile nei follicoli in molteplici acidi grassi a catena corta (in particolare acido succinico) per sopprimere la crescita eccessiva di *C. acnes*.



Competizione con *S. aureus* nella cavità nasale: colonizza asintomaticamente le narici anteriori. Viene escluso attivamente da *S. epidermidis* dall'ambiente nasale: alcuni isolati di *S. epidermidis* secernono Esp che degrada i biofilm di *S. aureus*. Alcuni ceppi di *S. epidermidis* possono anche competere con *S. aureus* per i siti di legame sulle cellule epiteliali nasali desquamate. Molti ceppi di *S. epidermidis* inducono anche l'espressione degli AMP LL-37 e dell'hBd3 umano nei cheratinociti nasali per uccidere *S. aureus*.



<https://www.microbiologiaitalia.it/batteriologia/staphylococcus-epidermidis/>

APPLICAZIONI TERAPEUTICHE

Bioterapeutico:
attributi benefici sfruttati per trattare
disturbi cutanei disbiotici (dermatite
atopica e la psoriasi)

S. epidermidis liofilizzato sul viso di
volontari umani ha aumentato
significativamente la concentrazione dei
lipidi facciali e la ritenzione di umidità
rispetto ai controlli. L'applicazione
probiotica di un ceppo di *S. epidermidis*
produttore di proteasi Esp potrebbe
rappresentare una valida alternativa al
trattamento standard con mupirocina per
eliminare *S. aureus* dalle narici

Un ceppo ingegnerizzato si è
recentemente mostrato promettente per
l'uso come bioterapeutico in cui la
crescita batterica e i livelli di
colonizzazione potrebbero essere
modulati senza la necessità di inserimento
di marcatori antibiotici o applicazione di
antibiotici

Batterioterapia combinata:
miscela in crema di *S. epidermidis* e *S.*
hominis con attività antimicrobica riduce
significativamente la crescita di *S. aureus*
sulla pelle di cinque pazienti con
dermatite atopica dopo 24h

Terapia combinata con *S. epidermidis* +
ceppo commensale cutaneo di *S. cohnii*
riduce significativamente «l'indice di
attività di malattia» nei topi germ-free
infettati localmente con *S. aureus*

Ceppo commensale di *Lactobacillus brevis*
ha promosso la ricolonizzazione di *S.*
epidermidis e ha migliorato la funzione di
barriera in un gruppo di pazienti con
forme gravi di secchezza cutanea

CONCLUSIONI

- *S. epidermidis* è un colonizzatore cutaneo complesso che stabilisce interazioni positive e negative con l'ospite. Dato l'aumento delle infezioni resistenti agli antibiotici, il legame tra molte malattie della pelle e la disbiosi microbica, c'è un intenso interesse nello sfruttare i commensali e i loro prodotti metabolici per le batterioterapie, per il trattamento di condizioni come l'acne, la dermatite atopica e la psoriasi.
- *S. epidermidis* è facile da isolare, spesso stimola risposte immunitarie positive e produce vari nuovi antimicrobici; conserva un notevole potenziale di patogenicità grazie alla sua flessibilità genetica, e la produzione di una serie di fattori di virulenza che possono concorrere in patologie cutanee, come la dermatite atopica e la sindrome di Netherton.
- **E' tempo di sviluppare nuove terapie o probiotici, ma si deve procedere con cautela per evitare conseguenze indesiderate che potrebbero derivare dalla manipolazione di microrganismi come *S. epidermidis* sebbene ci si aspetti che si comportino in modo prevedibile.**

