

Kap. 21 – MENNESKE-MIROBE INTERAKSJONER

Fokuset er her rettet mot det faktum at mikroorganismer er å finne på og i menneskekroppen – er en del av den normale bakteriefloraen, og da i stort antall (2-3 kg; derfor: Støtt bakterier – de er ofte den eneste ”kulturen” enkelte har 😊!

Tarmen kan sees på som en ”kolbe” der bakteriekulturer er i konstant vekst – det indre av mage-tarm inneholder bakterier som er viktige både for fordøyelse av mat, velvære og god helse.

Mange mikroorganismer prøver like fullt å innvadere kroppen for å forårsake sykdom, infeksjoner og skader.

Menneske-mikrobe interaksjoner – oversikt

□ Normal flora

- vokser i eller på menneskekroppen
- de fleste, men ikke alle, er ”vennlighsinnede” og viktige for velværen

□ Patogener

- organismer som vokser på/i en vertsorganisme og forårsaker skade kalles **parasitter** – mikrobielle parasitter kalles **patogener**
- resultater av vert-parasitt forholdet avhenger av
 - patogeniteten til parasitten – dvs. dens evne til å skade verten; angis som **virulens**: det celletallet som medfører en patogen respons på verten innenfor et gitt tidsramme
 - resistensen/mottageligheten til verten ovenfor parasitten

□ Infeksjon og sykdom

- infeksjon – en situasjon der mikroorganismer etablerer seg og vokser i en vert uavhengig om de skader verten eller ei
- sykdom – forårsaker skade på verten som svekker dennes funksjon

Menneske-mikrobe interaksjoner – oversikt

□ Vert-parasitt interaksjon

- kroppen er fordelaktig for vekstorganismer iht. næringstilgang, jevn temperatur og pH samt trykk, men den er ikke et enhetlig miljø da det er variasjon fra område til område og organ til organ:

- huden er relativt tørr ⇒ favoriserer vekst av f.eks. *Staphylococcus aureus* og andre G⁺ arter
- lungene har rik tilgang på O₂ ⇒ velegnet for *Mycobacterium tuberculosis*
- tykktarmen er anaerob ⇒ fremmer vekst av obligate anaerobe arter som *Clostridium*

□ Infeksjoner starter ofte i slimhinner (munnen, svelget, spiserøret, urinveiene, lungene og tarmen) – her finnes et epitellag og bakterier vil enten sitte løst assosiert eller inngå interaksjon med verten; sistnevnte prosess kan medføre infeksjon dersom slimhinnen brytes ⇒ bakterien vil kunne invadere videre inn i vevet

□ Tilstedeværelse av bakterier utenfor områdene eksponert til det eksterne miljøet (blodet, organer, lymfene) indikerer alvorlig infeksjon

Normal flora på huden

□ Den gjennomsnittlige voksen har ca. 2 m² hud med varierende sammensetning og fuktighet – overflaten er ikke velegnet for vekst

□ De fleste hud organismer finnes nær/i apokrine kjertler – disse aktiveres under puberteten og bakteriefloraen er høy imt. på huden

□ Huden har enten ”transient” (forbigående) eller ”resident” (faste) populasjoner; eks. på sistnevnte er:

- G⁺ arter som *Staphylococcus* og *Propionibacterium acnes*
- G⁻ arter som *Acinetobacter*
- sopp som *Candida* og *Pityrosporum ovalis*

□ Bakteriefloraen er hovedsakelig konstant, men påvirkes av:

- værforhold (varm & fuktighet ⇒ økt bakterie tetthet)
- alder (unge har større variasjon i floraen enn eldre)
- personlig hygiene

Normal flora i munnen

- Spytt er lite næringsrikt og inneholder antimikrobielle stoffer som **lysozym** og **laktoperoksidase** – likefullt er munnen et velegnet sted for mikrobiell vekst pga. døde celler og matpartikler
- I ung alder består munnfloraen hovedsakelig av aerotolerante anaerobe streptokokker og laktobasiller – når tennene dukker opp ⇒ ”sceneskifte” der anaerobe arter vokser på overflaten av tanna (en tynn filmhinne dannes pga. glykoproteiner fra spyttet) og rundt roten:
 - forskjellige arter av *Streptococcus* vokser på tannoverflaten, blant de dominante finnes *S. mutans* og *S. mitis*
 - framvekst av streptokokker ⇒ plakk-dannelse som fremmer levevilkår for *Fusobacterium* (filamentøs bakt.) og siden spirocheter som *Borrelia* samt G⁺ staver og G⁻ kokker – tilslutt vil *Actinomyces* arter dominere
 - akkumulering av plakk ⇒ hull i tennene som følge av syredannelse fra sukrose nedbrytning, forårsakes av *S. mutans* (fester seg ved dannelse av dextran matrix) og *S. sobrinus* (fester seg vha. glykoprotein hinnen)
 - andre arter forårsaker sykdommer i munnen: *Bacillus* (tannkjøtt betennelse = periodontitt), *Capnocytophaga* og *Rothia*

Normal flora i mage-tarm

- Magesekken er vanligvis bakterieløs pga. dens lave pH – men *Helicobacter pylori* kan kolonisere slimhinnen og forårsake magesår
- Tarmen er inndelt i forskjellige deler:
 - tolvfinger tarmen er som magen – bakterieløs (pH = ≤ 2)
 - tynntarmen er befolket med enterokokker og laktobasiller (pH = 4–5), og i nedre del har bakterietallet økt til 10⁵–10⁷ per gram materiale
 - i tykktarmen er antallet bakterier enorm, og denne kan betraktes som en type fermentor – finner mange forskjellige arter der de viktigste er å finne blant arter av *Streptococcus*, *Lactobacillus* og *Ruminococcus* samt klostridier, *Enterococcus faecalis* og enkelte G⁻ arter (f.eks. *E. coli*); (pH ≈ 7) bakterietallet har økt til 10¹⁰–10¹¹ per gram materiale!
 - floraen kan endres iht. diet og ved sykdommer; floraen vil endres kraftig f.eks. ved bruk av antibiotika ⇒ kolonisering av opportunistiske arter som *Staphylococcus*, *Proteus* og t.o.m. *Candida albicans* ⇒ store endringer i fordøyelsen med påfølgende sykdom
 - fermentative og metanogene mikroorganismer produserer gass i tarmene (**flatus**) – førstnevnte danner H₂ og CO₂, som omdannes til CH₄ fra sistnevnte; N₂ som svelges ”unnslipper” også

Normal flora andre steder

□ Spesialiserte mikroorganismer vokser på de forskjellige slimhinner, og er del av den naturlige floraen ⇒ patogene arter vil vanligvis ikke kolonisere disse områdene

□ Luftveiene:

- øvre luftveier – neserommet, munnhulen & svelget
 - resident mikroorganismer vokser i slimete områder – stafylokokker, streptokokker, difteroide basiller og G⁻ kokker
 - transient arter forblir hovedsakelig i neseområdet og ”skylles” ut derfra
 - noen er bærere av *Staphylococcus aureus* & *Streptococcus pneumoniae* uten å ta skade av dette; veksten av disse inhiberes pga. andre bakterier og sekreter fra slimhinnene
- nedre luftveier – luftrørene, lungene & bronkiene
 - disse områdene er hovedsakelig sterile
 - potensielle skadelige organismer og støv virvles opp igjen vha. *cilier*

Normal flora andre steder

□ kjønnsorganene og urinveiene (urinrøret & blæren)

- hos begge kjønn er blæren hovedsakelig sterile, men epitellaget i urinrør kan ”befolkes” av G⁻ staver og kokker, f.eks. *E. coli*, *Proteus mirabilis* mm. – disse kan bli patogene ved miljøendringer ⇒ urinveis infeksjoner
- floraen i vagina varierer iht. alder
 - hos produktive kvinner inneholder området mye glykogen – *Lact. acidophilus* danner syre fra dette ⇒ svakt surt område; finner også ≠ gjærsopp (f.eks. *Candida*), streptokokker og *E. coli*
 - før puberteten og i menopausen er vagina basisk og produserer ikke glykogen ⇒ floraen består hovedsakelig av stafylokokker, streptokokker, difteroide bakterier og *E. coli*

SKADELIGE MIKROBIELLE INTERAKSJONER

- Mange mikrobe-menneske interaksjoner er skadelige for verten
- Patogenitet – evnen en mikroorganisme har til å forårsake sykdom; forløp:
 - mikroorganismen starter med å skaffe seg ”adgang” inn i verten
 - denne assosierer så til vertsceller, og etterfølges av
 - kolonisering og vekst med den hensikt å skade verten
- Sykdomsfremkallende mikroorganismer anvender flere strategier for å etablere **virulens**

Opptak av patogener i verten

- Patogene mikroorganismer må penetrere områder som normalt er barrierer slik som huden, slimhinner eller tarm epitellaget
- De fleste infeksjoner begynner med sår/rift i hud eller slimhinner i luftveiene, tarmsystemet eller kjønnsorganer
- Bakterier/virus som kan initiere sykdom vil ofte assosiere spesifikt til vertens epitelceller via protein-protein interaksjoner, f.eks. *Neisseria gonorrhoeae*:
 - assosierer sterkt kun til epitellaget i kjønnsorganer enn celler annetsteds
 - danner et overflateprotein til dette formålet, **Opa**, som binder spesifikt til et protein hos verten kalt **CD66**
- Generelt er assosieringen vertsspesifikk

Opptak av patogener i verten

- Ikke alle proteiner som brukes til assosiering er kovalent bundet til bakterier – vanligvis dannes polysakkarider
- En polymerstruktur bestående av tette veldefinerte lag som omgir bakteriecellen kalles en **kapsel** – f.eks. hos *Streptococcus pneumoniae*
- Et løst nettverk av polymere fibre som strekker seg ut fra en bakterie kalles en **glycocalyx** – f.eks. hos *E. coli*
- En diffus masse av polymere fibre som omgir en hvilken som helst celletype kalles et **slimlag** – disse er viktige for assosiasjon til både vertsceller og mellom forskjellige bakterier (jfr. tannplakk)
- Andre overflate strukturer som er viktige for bakterie assosiering:
 - **fimbrier** – viktige for Enterobakterier, finnes jevnt fordelt på cellen
 - **pili** – lange protein strukturer som er viktige for *N. gonorrhoeae* slik at denne fester seg til vertsceller, få slike på celleoverflaten
- Invadering – oppstår når patogene bakterier har brutt epitellaget ⇒ påfølgende vekst og spredning samt ”nedkjemping” av normalfloraen

Kolonisering og vekst

- Får en patogen organisme tilgang til vev ⇒ vekst og kolonisering, men dette avhenger av tilgang på næring og vekstbetingelsene (pH, temp. og redoks potensial):
 - *Brucella abortus* – vokser dårlig i de fleste vevstyper i kveg, men trives godt i morkaken ⇒ hurtig vekst pga. erythriol med tap av foster (abort)
- Sporelementer er vanligvis lite tilgjengelige i verten, f.eks. er jern bundet opp i spesifikke proteiner som **transferrin** og **lactoferrin** – det er likevel mulig for bakterier å få tak i jernet vha. sideroforer:
 - *E. coli* – visse stammer produserer **aerobactin**, et jern-chelaterende stoff (plasmid bundet gen) ⇒ stjeler lett jern fra transferrin
- Etter ankomst forblir organismen lokalt og forårsaker blemmer, kviser o.l. – f.eks. infeksjoner i huden fra
- Organismer kan også skaffe seg adgang til lymfesystemet og forbli der, eller havne i blodbanen og bli fraktet rundt – dersom celleantallet blir stort i sistnevnte tilfelle kalles tilstanden **bacteremia**

Virulens

- Den relative evnen en parasitt har til å forårsake sykdom
- Måles som LD₅₀ (**L**ethal **D**ose₅₀) – dvs. den doseringen av et stoff (her: bakterier) som dreper 50% av objektene i et forsøk
- Ofte er det ingen forskjeller mellom antallet patogene organismer som trengs for å drepe 100% sml. med 50% av objektene:
 - *Streptococcus pneumoniae* – noen få celler er nok for å oppnå 100%
 - *Salmonella typhimurium* – virulensen øker med økende antall celler
- Når organismer holdes i laboratorier lenge nok kan egenskaper gå tapt – kalles attenuering, og kan skyldes at ikke-virulents mutanter vokser fortere enn WT og at vekstbetingelsene ikke er optimale
- **Toksisitet** er evnen en organisme har til å forårsake sykdom pga. toksin produksjon som inhiberer eller dreper vertsceller – f.eks. selv om *Clostridium tetani* vokser ved og dårlig i et sår vil eksotoksinet den danner virke i fjerne deler av kroppen ⇒ spasmer & død

Virulens

- **Invaderbarheten** er evnen en organisme har til å vokse i slike antall at vertsfunksjonene inhiberes – f.eks. hindrer polysakkaridkapselen til *S. pneumoniae* fagocytose av den
- Bekjempelse av vertens forsvarsmekanismer er viktig for å overleve
- De fleste organismer bruker en kombinasjon av toksiner mm. samt invaderingsevnen for å forårsake sykdom, f.eks. *Salmonella* spp.:
 - Flere toksiner bidrar til patogeniteten
 - enterotoksin – inhiberer protein syntese og lyserer celler
 - endotoksin – lipid A, er toksisk for verten og en del av LPS
 - cytotoxin – inhiberer protein syntese & forårsaker væsketap i tarmceller
 - Flere virulensfaktorer er involvert i invaderingen
 - O-antigenet – inhiberer fagocytose
 - Flagellar H-antigenet – inhiberer fagocytose og er viktig for feste
 - *inv* gene – koder for ≠ 10 assosiasjonsproteiner
 - Andre egenskaper: OxyR nøytraliserer toksiske oksidative produkter i makrofager mens PhoP + PhoQ nøytraliserer makrofag defensiner

VIRULENSFAKTOER OG TOKSINER

□ Disse fremmer en organismes patogenitet, og et bredt utvalg av slike produserer av mange ≠ organismer – men mange har likhetstrekk i både struktur og virkemåte

□ Virulensfaktorer

- ekstracellulære proteiner som assisterer i å etablere og opprettholde en sykdom
- er viktig for vekst & kolonisering, f.eks. **hyaluronase** som dannes av stafylokokker, streptokokker og visse klostridier – bryter ned hyaluronsyre
- streptokokker og stafylokokker produserer i tillegg et stort utvalg av enzymer som assisterer ved infeksjoner: nukleaser, proteaser, lipaser
- klostridier produserer **κ-toksin** som bryter ned kollagenet ⇒ spredningen
- levringer ved sår o.l. har til hensikt å isolere organismer lokalt, men noen bakterier bruker slike steder for videre invaderinger – *S. pyogenes* danner et slikt stoff kalt **streptokinase**
- enzymet **koagulase** produserer av *Staphylococcus aureus* ⇒ beskytter disse mot angrep fra vertsceller

VIRULENSFAKTOER OG TOKSINER

□ Toksiner

- substanser som kan forårsake skade hos vertsceller
- eksotoksiner
 - proteiner som frigjøres ekstracellulært mens organismen vokser
 - de fleste tilhører en av 3 kategorier:
 - cytolytiske toksiner – virker på cellevegg komponenter ⇒ lyses cellen
 - A-B toksiner – består av 2 kovalent bundne subenheter
 - superantigen toksiner – stimulerer immunresponsen ⇒ inflammasjon

EKSOTOKSINER

□ Cytolytiske toksiner

- virker på celleveggen og produseres av mange patogene mikrober
- lettest å detektere vba. røde blodceller – indikasjon på hemolysin; disse kalles ofte også for phospholipaser/lecithinaser
 - α -toksinet fra *Clostridium perfringens* – er en lecithinase som bryter med lipidene i membranen
 - Streptolysin O fra streptokokker – er ikke en phospholipase, men virker inn på steroler i cytoplasma membranen
 - Leukocidiner fra stafylokokker – lyseser hvite blodlegemer

EKSOTOKSINER

□ Difteritoksin

- virker patogenfaktor i utviklingen av difteri – produseres av *Corynebacterium diphtheriae*
- rotter og mus er resistente, men ikke mennesker, kanin, eller fugler
- er en A-B toksin
 - B fragmentet fremmer binding til reseptorer hos vertscellen, mens A-fragmentet translokateres over membranen og inn i cytosol
 - A-fragmentet er den aktive delen av toksinet, og hemmer protein syntese ved å blokkere EF-2
 - produseres kun når celler er infisert av β -bakteriofag som bærer på *tox* genet som koder for toksinet
 - produksjon fremmes av lav jernkons. – høy kons. \Rightarrow binding av en regulator som hemmer genekspresjonen av *tox* genet

EKSOTOKSINER

□ Tetanus og botulisme toksinene

- A-B toksiner som produseres av obligate anaerobe klostridier
 - *C. tetani* – danner tetanus toksinet
 - formerer seg i kroppen etter dype stikkskader
 - invaderer ikke dypere inn i vev, men toksinet fraktes rundt til nerveceller
 - toksinet blokkere frigjørelse av glycine i neuroner ⇒ disse skrur ikke av og acetylcholin frigjøres i store mengder ⇒ neuronene er i ”on” modus hele tiden ⇒ spasmer/krampetrekninger – kan være dødelig
 - *C. botulinium* – danner botulisme toksinet
 - formerer seg sjelden i kroppen, men trives utmerket i dårlig lagret mat
 - toksinet består av en serie av 7 lignende toksiner
 - 1 mg kan drepe 1 million marsvin – blant de giftigste kjente toksinene
 - blokkerer frigjørelse av acetylcholin ⇒ paralysering av muskler og død

ENTEROTOKSINER

- Er eksotoksiner som påvirker tynntarmen ⇒ utsondring av store væskemengder ⇒ oppkast & diaré; produseres av
 - Mat-patogene organismer
 - *Staphylococcus aureus* – enterotoksin (superantigen)
 - *Clostridium perfringens* - cytotoksin
 - *Bacillus cereus* - enterotoksin
 - Tarm-patogene organismer
 - *Vibrio cholerae*
 - *E. coli* - enterotoksin
 - *Salmonella enteritidis*

ENTEROTOKSINER

□ Kolera toksinet

- Produseres av *V. cholerae*, og er det best studerte enterotoksinet
- Er et A-B toksin kodet for av genene *ctxAB*, som reguleres av *toxR* – denne er også involvert i kontroll av andre virulensfaktorer som ytre membranproteiner og pili dannelse
 - én A subenhet (MW = 27.2 kDa), og 5 B subenheter (MW á 11.6 kDa)
 - Sistnevnte binder spesifikk til gangliosidet GM1 (glykoprotein) i tarm epitellaget, mens A subenheten aktiverer adenylate cyclase ⇒ [cAMP] ↑
 - cAMP nivået påvirkes av hormoner
 - cAMP er involvert i immunrespons og inflammatoriske reaksjoner
 - A subenheten aktiveres av et cellulært enzym ⇒ endring i kons. av Cl⁻ og bikarbonat ⇒ utsondring av store væskemengder
 - Kan være dødelig, men forhåndsbehandling med B-subenheten hindrer virkningen av toksinet (en type vaksine)

□ Andre enterotoksiner – lignende virkemåter som koleratoksinet

ENDOTOKSINER

- Er cellebundne – f.eks. lipopolysakkarider, som er del av den ytre membranen hos G⁻ bakterier
- Har hovedsakelig blitt studert blant Enterobakterier som *Shigella*, *Escherichia* og *Salmonella*
- Forårsaker ≠ fysiologiske effekter :
 - feber – toksinene stimulerer vertsceller slik at endogene pyrogener frigjøres ⇒ påvirker hjernens temp. kontroll
 - diaré pga. utsondring av store væskemengder i tarm og betennelser
 - nedsatt dannelse av lymfocytter, leukocytter og blodplater
- Er mye mindre toksiske enn enterotoksiner:
 - LD₅₀ er 200 – 400 µg, mens kun 25 pg botulismetoksin trengs for å drepe en mus! (106 fortrens feber – toksinene stimulerer vertsceller)
- *Limulus* assay – celler fra hesteskokrabben *Limulus polyphemus* anvendes til å sjekke for mikromengder (så lite som 10 pg/ml) av endotoksiner i serum

GENERELLE FORSVARMEKANISMER

□ To typer finnes:

- uspesifikke – er rettet mot et bredt spekter av patogene organismer
- spesifikke – er rettet mot individuelle arter/patogene organismer

□ Uspesifikke forsvarmekanismer

- Naturlig resistens – hvor mottagelig er en art for en patogen; dette varierer sterkt fra art til art og selv hos individer av samme art
 - rabies – vaskebjørner og stinkdyr er veldig mottagelige, mens pungdyr nesten aldri rammes
 - miltbrann – forårsaker ≠ symptomer hos mammaler (fra verkfylte blemmer til blodforgiftning og død), mens fugler er resistente
- Alder, stress og diet
 - infeksjoner rammer lettest de helt unge og de gamle
 - diaré forekommer hos småbarn pga. patogene *E. coli* og *P. aeruginosa*
 - folk > 65 år rammes ofte av respiratoriske sykdommer, særlig influensa
 - forskjellige typer stress fører til f.eks. at mengden kortison øker slik at inflammasjonsnivået senkes ⇒ en av de normale forsvarmekanismene er skrudd av ⇒ høyere mottagelighet av sykdommer
 - endres matvaner ⇒ endring i tarmfloraen slik at potensielle patogener kan formere seg og forårsake sykdom (jfr. opptak av antibiotika)

GENERELLE FORSVARMEKANISMER

□ Uspesifikke forsvarmekanismer

- Fysiske og kjemiske forsvarmekanismer
 - huden og slimhinner representerer en barriere for potensielle ”inntrengere” – patogene bakterier må kunne feste til slike steder og vokse der før videre invadering & evt kolonisering, men møter et hva av forsvarmekanismer fra lav pH til enzymer og peptider med antimikrobielle egenskaper
 - i nese og lunger finnes cilier som benyttes til å vifte bort ”uønskedt” gjester
 - lav pH i magen pga. syre og et stort antall faste innvånerne i tarmen ⇒ stor konkurranse blant de evt. innkomne patogene bakterier
 - nyrene og øynene produserer store mengder lysozym som er effektive mot mange mikroorganismer
 - i blodet finnes β -lysiner som binder til og ødelegger CM hos bakterier
 - de fleste patogene organismer MÅ havne på rett sted for å formere seg og evt. klargjøre seg for videre invadering med påfølgende kolonisering mm.
 - *C. tetani* uskadeliggjøres i magen, mens den i et sår formerer seg raskt
 - *Salmonella* og *Shigella* trives derimot i tarmen og ikke på huden eller i sår
 - feber er et tegn på infeksjon (skyldes frigjørelse av pyrogen), og vanligvis vil temp. økninger føre til at økt fagocytose av bakterier og antistoff dannelse
 - inflammasjon oppstår pga. cytokiner som produseres av leukocytter – ved utgangsstedet for denne responsen størkner blodet ⇒ lokalisering av patogener