



Anaerob baktériumok; szerepük az élővilág kialakulásának kezdetén és a szolid tumorok mélyén

Dr. Nagy Erzsébet

SZTE, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet, Szeged

Budapest, 2012 március 8

What is an Anaerobe?

OBLIGATE AEROBE

O_2 STRICT ANAEROBE

SAPROPHILE
 CO_2

H_2 MICROAEROPHILE

MODERATE ANAEROBE

FACULTATIVE ANAEROBE

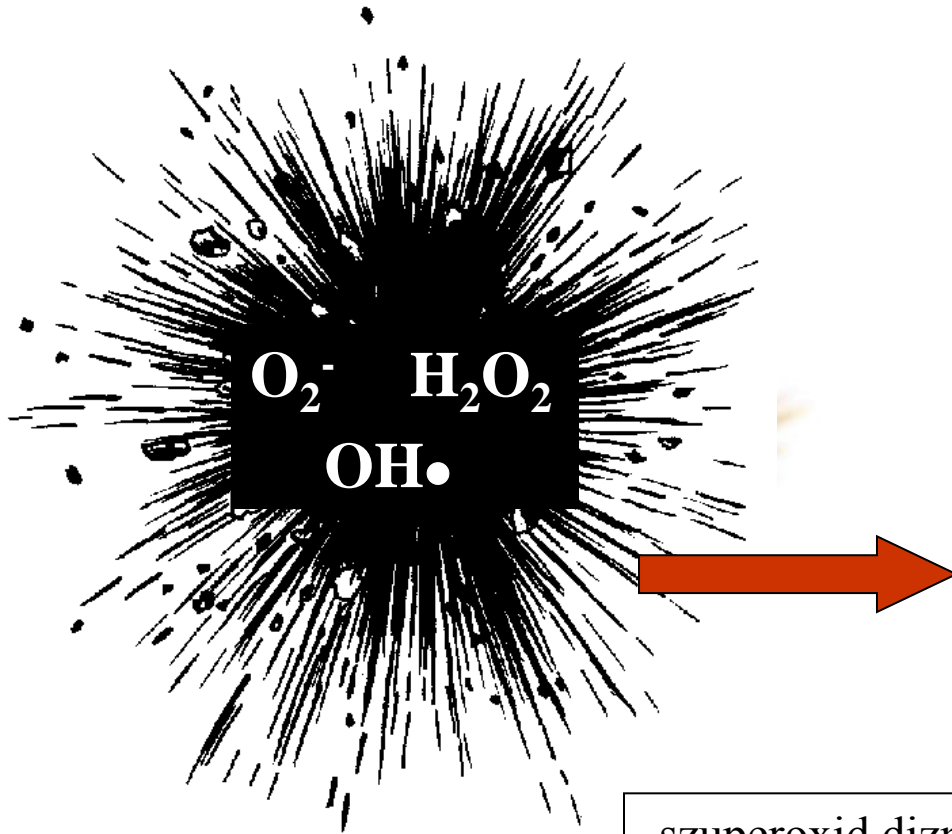
AEROTOLERANT

N_2

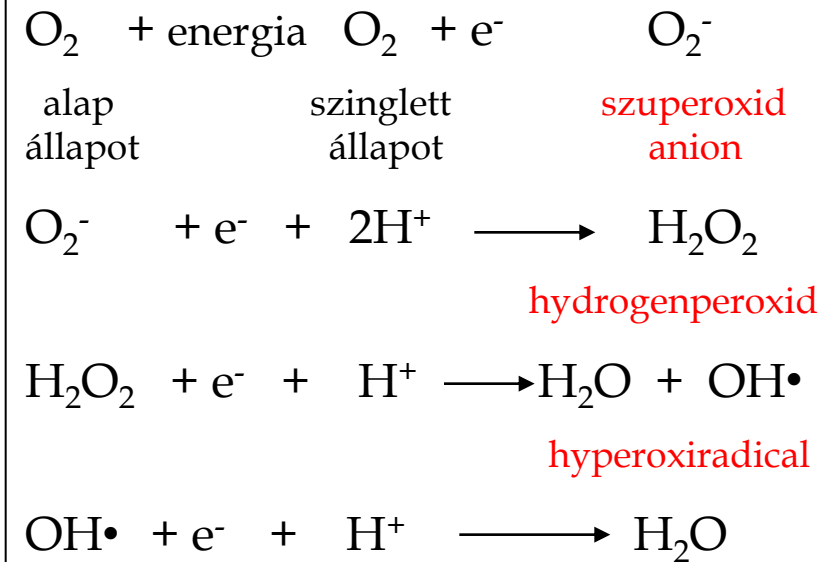
OBLIGATE ANAEROBE



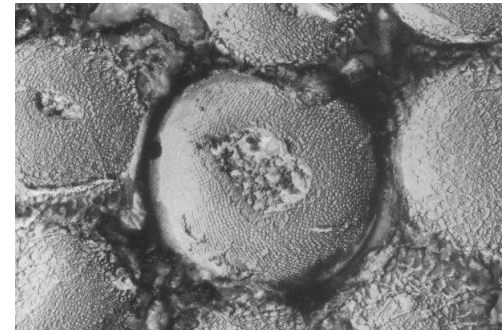
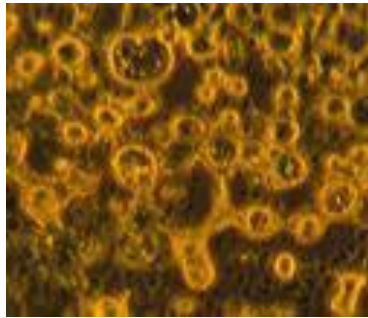
Miért toxikus az oxigén az anaerob baktériumokra?



A redukció során különböző toxikus termékek keletkeznek



szuperoxid dizmutáz
kataláz
peroxidáz



A Föld, a geológusok szerint, ~4.5 billió évvel ezelőtt keletkezett

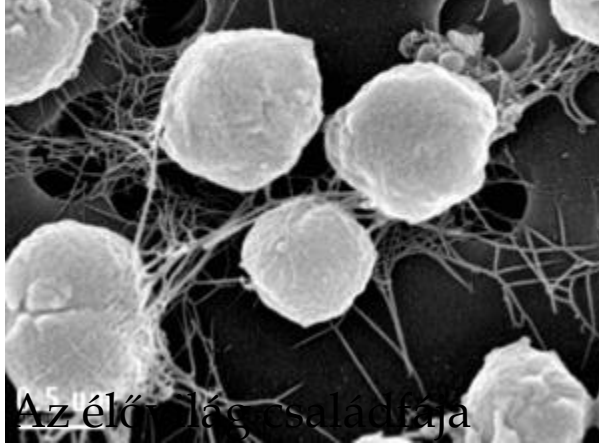
~3.8 billió éve jelenhettek meg olyan primitív sejtek, melyek utánozták az élő szervezetek membrán struktúráját („proto-cell”)

Ezt követhette olyan baktériumok (archeak) megjelenése, melyek anaerob körülmények között képesen voltak

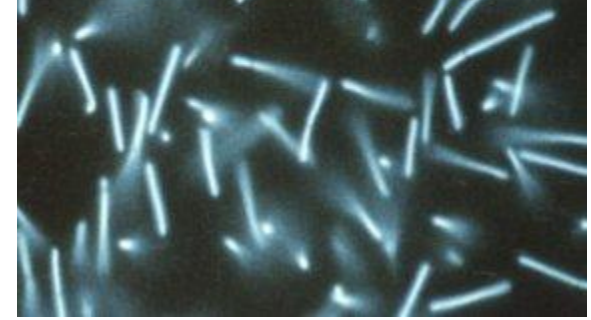
- szulfát redukcióra \longrightarrow H_2S
- széntartalmú anyagokból \longrightarrow CO_2 és alkohol termelésre
- $\text{CO}_2 + \text{H}_2 \longrightarrow$ metán termelésre



Yellowstone park, USA

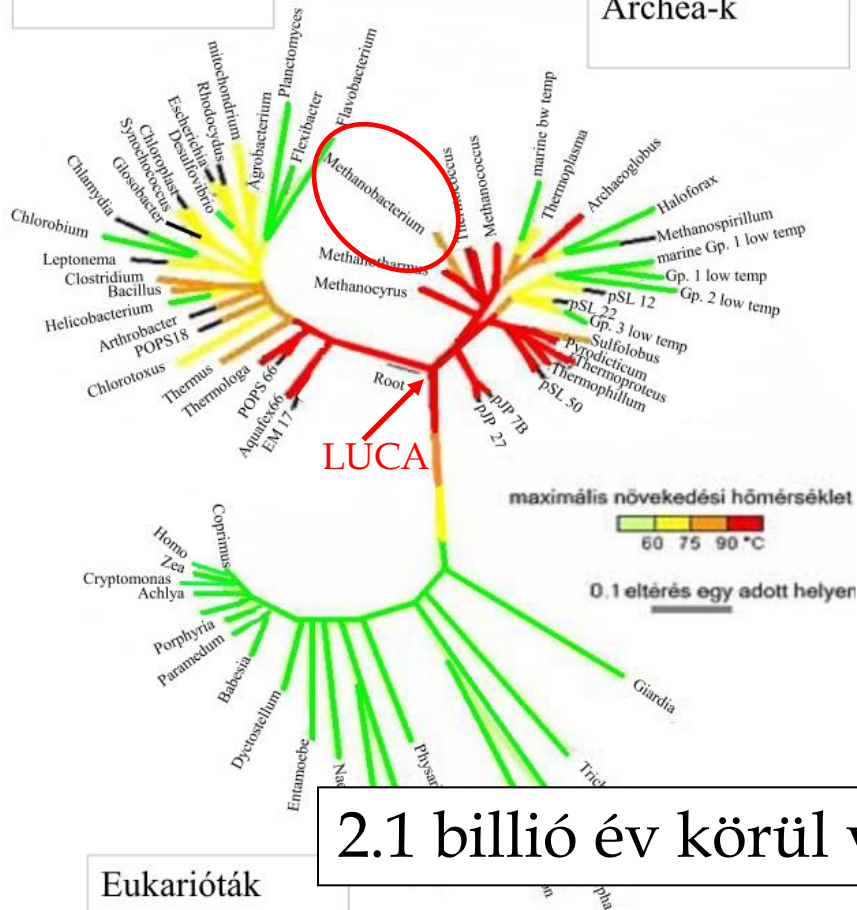


Az élő hús salátája



Baktériumok

Archea-k



- Legtöbbet kutatott anaerob archeak a methanobacteriumok
- Több mint 50 species (coccid és pálca alak) nincs peptidoglycan csak egy fehérje kristályokból felépülő S-layer
- Oxigén nyomai is elpusztítják !!!
- Megtalálhatók a környezetben, kérődzők gyomrában, emberek bélcsatornájában
- Extrém körülmények között is szaporodnak (350 °C és magas nyomás mellett anaerob körülmények között)

2.1 billió év körül volt a „Great Oxygenation Event”

Eukarióták

● ● ●

Anaerob baktériumok hiányában nem élvezhetnénk



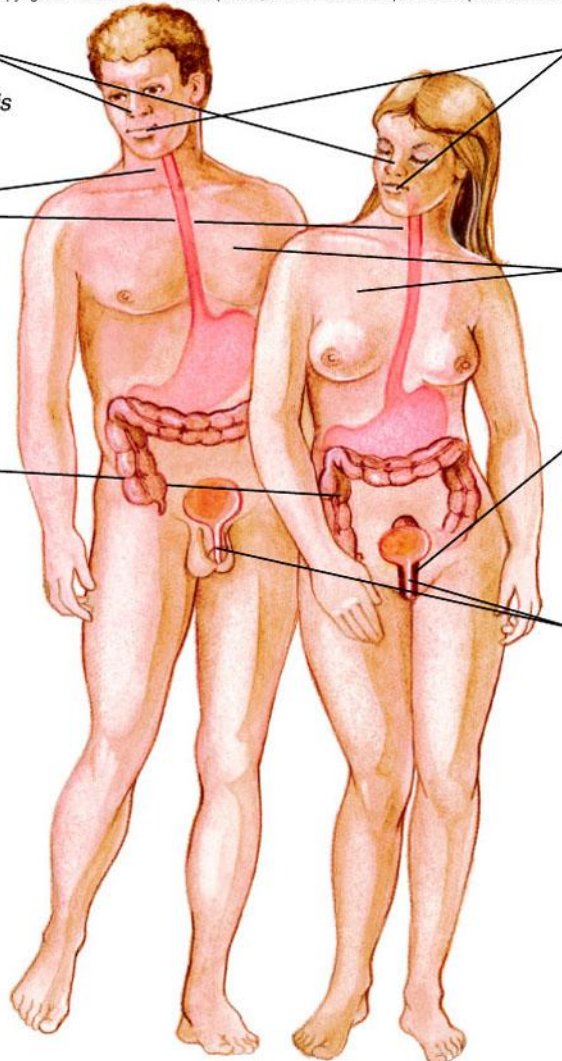
Anaerob baktériumok mint a normál flóra tagjai

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or distribution.

Nose
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Corynebacterium species

Throat
Streptococcus species
Branhamella catarrhalis
Corynebacterium species
Haemophilus species
Neisseria species
Mycoplasma species

Large intestine
Bacteroides fragilis
Escherichia coli
Proteus mirabilis
Klebsiella species
Lactobacillus species
Streptococcus species
Candida albicans
Clostridium species
Pseudomonas species
Enterococcus species



- 10 x több baktérium sejt van a bélflórában mint testi sejt
- Ennek 99% anaerob baktérium !!!
- Korábbi becslések:
 - 500-1000 faj
- Mai molekuláris módszerek:
 - 10-40 000 faj
- 100 x több a bakteriális gének száma mint az emberi gének száma

(Human Microbiom Project)

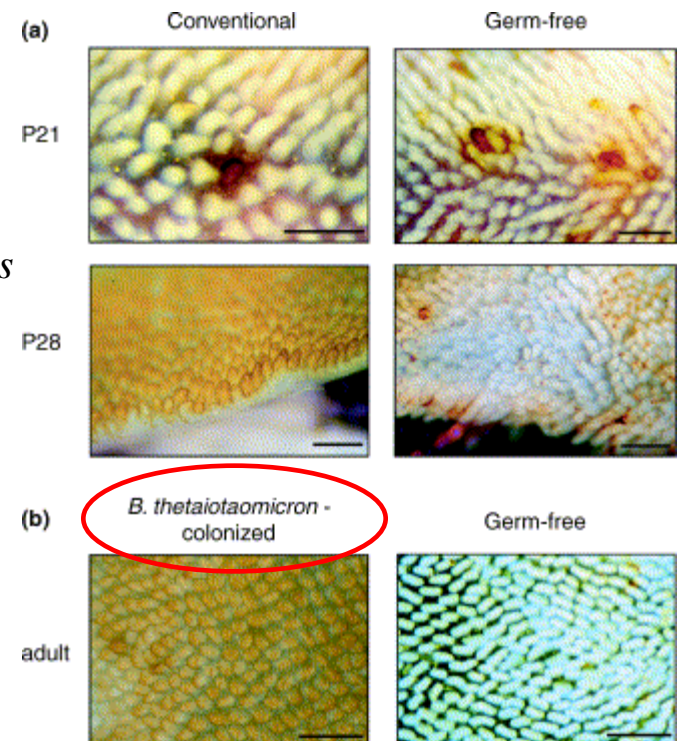
Bacteroides	Prevotella	Original name	Present taxonomic place
<i>B. caccae</i>	<i>P. corporis</i>		
<i>B. fragilis</i>	<i>P. denticola</i>	<i>P. anaerobius</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>B. vulgatus</i>	<i>P. intermedia</i>		
<i>B. eggerthii</i>	<i>P. loescheii</i>	<i>P. asaccharolyticus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>B. ovatus</i>	<i>P. melaninogenica</i>	<i>P. barnesae</i>	<i>Gallicola barnesae</i>
<i>B. stercoris</i>	<i>P. nigrescens</i>		
<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>P. pallens</i>	<i>P. harei</i>	<i>Peptoniphilus harei</i>
<i>B. uniformis</i>	<i>P. tannerae</i>		
<i>B. nordii</i> (2004)	<i>P. buccae</i>	<i>P. hydrogenalis</i>	<i>Anaerococcus hydrogenalis</i>
<i>B. salyersiae</i> (2004)	<i>P. dentalis</i>	<i>P. indolicus</i>	<i>Peptoniphilus indolicus</i>
<i>B. massiliensis</i> (2005)	<i>P. heparinolytica</i>		
<i>B. plebeius</i> (2005)	<i>P. oris</i>	<i>P. ivorii</i>	<i>Peptoniphilus ivorii</i>
<i>B. coprocola</i> (2005)	<i>P. zooglyphiformans</i>	<i>P. lacrimalis</i>	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>
<i>B. dorei</i> (2006)	<i>P. buccalis</i>		
<i>B. finegoldii</i> (2006)	<i>P. enoeca</i>	<i>P. lactolyticus</i>	<i>Anaerococcus lactolyticus</i>
<i>B. intestinalis</i> (2006)	<i>P. veroralis</i>		
<i>B. cellulolyticus</i> (2007)	<i>P. bivia</i>	<i>P. magnus</i>	<i>Finegoldia magna</i>
<i>B. coprophilus</i> (2007)	<i>P. disiens</i>	<i>P. micros</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>B. xylanisolvens</i> (2008)	<i>P. shahii</i> (2004)		
<i>B. clarus</i> (2009)	<i>P. salivae</i> (2004)	<i>P. octavius</i>	<i>Anaerococcus octavius</i>
<i>B. oleiciplenus</i> (2009)	<i>P. multiformis</i> (2005)	<i>P. prevotii</i>	<i>Anaerococcus prevotii</i>
<i>B. fluxus</i> (2009)	<i>P. marshii</i> (2005)		
<i>B. faecis</i> (2010)	<i>P. baroniae</i> (2005)	<i>P. productus</i>	<i>Blautia producta</i>
	<i>P. multisaccharivorax</i> (2005)		
	<i>P. massiliensis</i> (2005)	<i>P. tetradius</i>	<i>Anaerococcus tetradius</i>
	<i>P. timonensis</i> (2007)		
	<i>P. bergensis</i> (2006)	<i>P. vaginalis</i>	<i>Anaerococcus vaginalis</i>
	<i>P. copri</i> (2007)	<i>Peptococcus niger</i>	<i>Peptococcus niger</i>
	<i>P. stercorea</i> (2007)		<i>Peptostreptococcus stomatis</i> (2006)
	<i>P. maculosa</i> (2007)		<i>Anaerococcus murdochii</i> (2007)
	<i>P. pleuritidis</i> (2007)		<i>Peptoniphilus gorbachii</i> (2007)
	<i>P. nanceiensis</i> (2007)		<i>Peptoniphilus olsenii</i> (2007)
	<i>P. amnii</i> (2008)		
	<i>P. histicola</i> (2008)		
	<i>P. aurantiaca</i> (2010)		
	<i>P. micans</i> (2009)		
	<i>P. saccharolytica</i> (2009)		<i>Murdochiella asaccharolytica</i> (2010)

Legalább 80
Clostridium spp

Az anerobok a szervezetünk szolgálatában

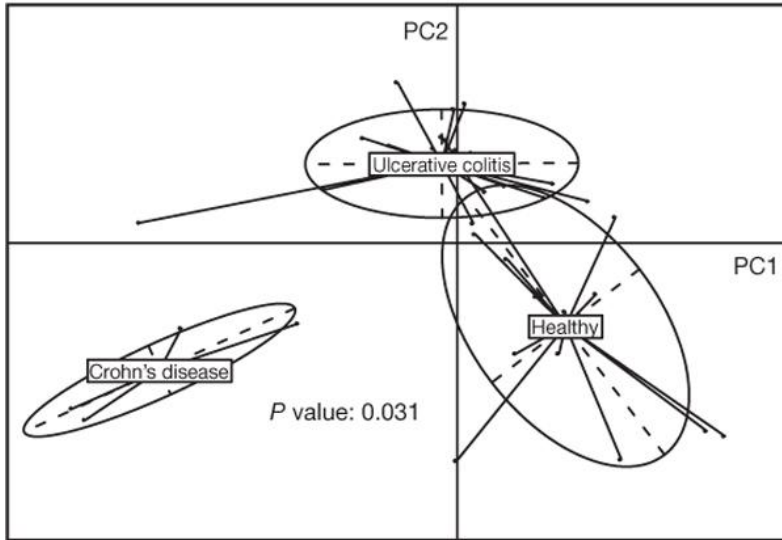
- Korábban feltárt általánosan ismert szimbióta kölcsönhatások
 - Vitaminok termelése
 - Epesavak konjugációja
 - Rövid szénláncú zsírsavak termelése
 - Xylan-bontó baktérium mint új species *B. xylanisolves* (2004)
 - Pathogének kizárása
- Fontos szerep a bélfejlődésben
 - Sziálsav → (születés után 14-21 nap) fukóz
 - *B. thetaiotaomicron* indukálja és használja a fukóz oldalláncokat (*Trends in Microbiol* 2004)
- ... és más szerverendszerek fejlődésére való kihatás
 - “Bacterial content of gut can modulate brain development” (*Bioessays* 2011)
 - “modulation of immune homeostasis by commensal bacteria” (*Curr Opin Microbiol* 2011)

Egér modell a bél nyálkahártya fejlődésre

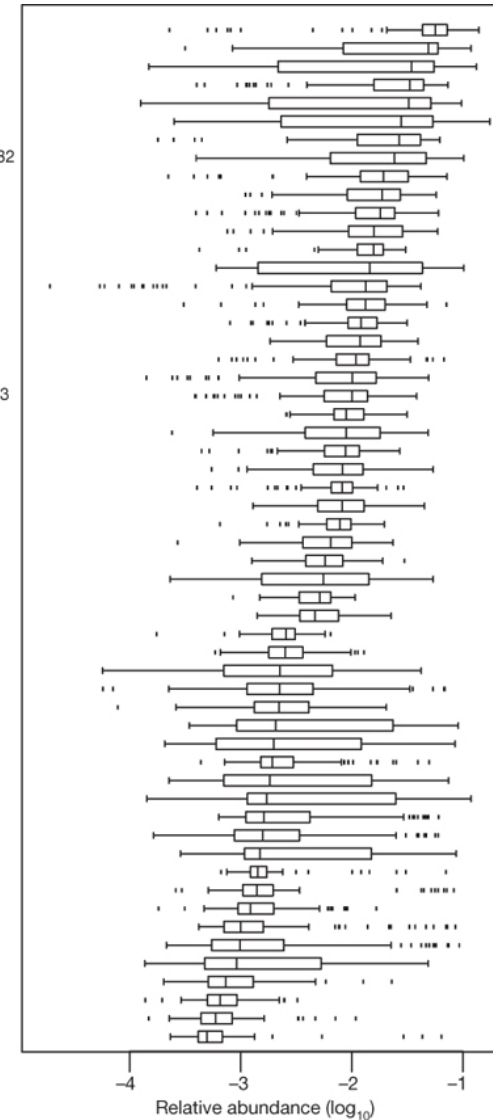


Anaerob bélflóra jelentősége

- A bél microbiota összetétele
 - egészségesekben
 - gyulladásos bélbetegségekben

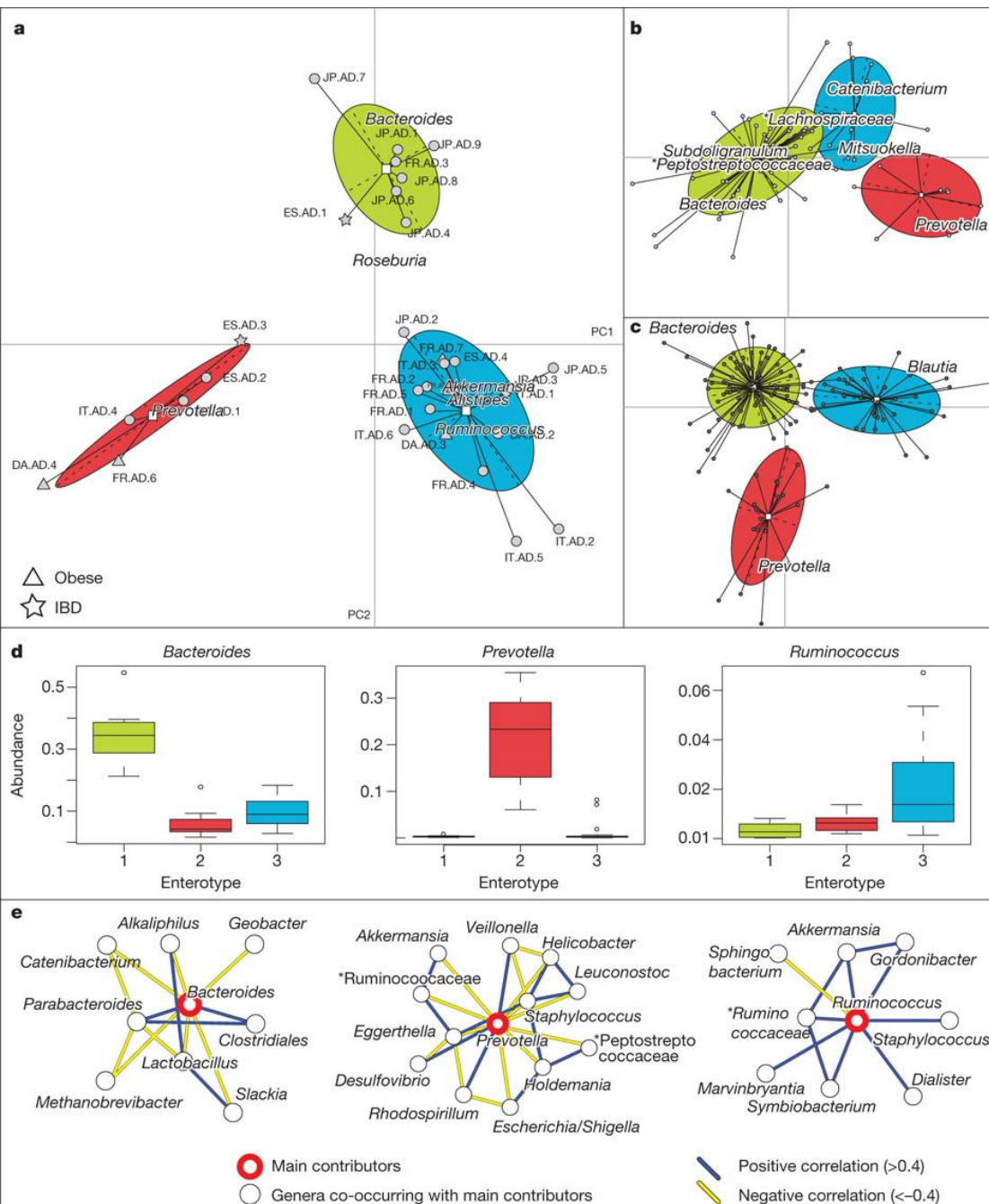


Bacteroides uniformis
Alistipes putredinis
Parabacteroides merdae
Dorea longicatena
Ruminococcus bromii L2-63
Bacteroides caccae
Clostridium sp. SS2-1
Bacteroides thetaiotaomicron VPI-5482
Eubacterium hallii
Ruminococcus torques L2-14
Unknown sp. SS3 4
Ruminococcus sp. SR1 5
Faecalibacterium prausnitzii SL3 3
Ruminococcus lactaris
Collinsella aerofaciens
Dorea formicigenerans
Bacteroides vulgatus ATCC 8482
Roseburia intestinalis M50 1
Bacteroides sp. 2_1_7
Eubacterium siraeum 70 3
Parabacteroides distasonis ATCC 8503
Bacteroides sp. 9_1_42FAA
Bacteroides ovatus
Bacteroides sp. 4_3_47FAA
Bacteroides sp. 2_2_4
Eubacterium rectale M104 1
Bacteroides xylanisolvens XB1A
Coprococcus comes SL7 1
Bacteroides sp. D1
Bacteroides sp. D4
Eubacterium ventriosum
Bacteroides dorei
Ruminococcus obeum A2-162
Subdoligranulum variabile
Bacteroides capillosus
Streptococcus thermophilus LMD-9
Clostridium leptum
Holdemania filiformis
Bacteroides stercoris
Coprococcus eutactus
Clostridium sp. M62 1
Bacteroides eggerthii
Butyrivibrio crossotus
Bacteroides finegoldii
Parabacteroides johnsonii
Clostridium sp. L2-50
Clostridium nexile
Bacteroides pectinophilus
Anaerotruncus colihominis
Ruminococcus gnavus
Bacteroides intestinalis
Bacteroides fragilis 3_1_12
Clostridium asparagiforme
Enterococcus faecalis TX0104
Clostridium scindens
Blautia hansenii



Enterotypes of the human gut microbiome

39 egyén (európai, japán amerikai) székletének microbiom vizsgálata pyrosequenálással



Arumugam M et al: Nature 473: 174-180 2011



(Anaerob) széklet flóra változás következményei

- Toxin termelő *C. difficile* elszaporodás a bélcsatornában és ennek következményei
- „Kontaminált vékonybél szindróma” során vegyes anaerob flóra dominálja az egyébként csíraszegény vékonybelet
- **Autizmus** → van-e összefüggés a bélflóra összetételével?
- **Obezitás** → lehet hogy nem túl sokat eszünk csak a bélflóránk más mint azoké, akik nem híznak el??

Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children

Sydney M. Finegold^{a,b,c,*}, Scot E. Dowd^{d,e}, Viktoria Gontcharova^d, Chengxu Liu^a, Kathleen E. Henley^f, Randall D. Wolcott^e, Eunseog Youn^g, Paula H. Summanen^a, Doreen Granpeesheh^h, Dennis Dixon^h, Mingsun Liu^a, Denise R. Molitoris^a, John A. Green III^f

Anaerobe 2010

Desulfovibrio species are potentially important in regressive autism

Sydney M. Finegold^{*}

Med Hypotheses 2011

Microbiology of regressive autism

Sydney M. Finegold^{a,c,d,*}, Julia Downes^b, Paula H. Summanen^b

Anaerobe 2012

Table 1

Number of OTU (operational taxonomic units) present.

	Severe autism (11)	Controls (8)	P value
Strains	2135	1092	0.000
Species	1052	530	0.000
Genera	546	300	0.001

Table 2

Percent of total flora.

Phylum	Severe autism (11)	Control (8)	P value
Firmicutes	38	64	0.001
Bacteroidetes	51	30	0.001
Actinobacteria	0.5	2	0.012
Proteobacteria	3	0.5	0.011

Table 3

Genera and species of possible importance in contributing to autism.

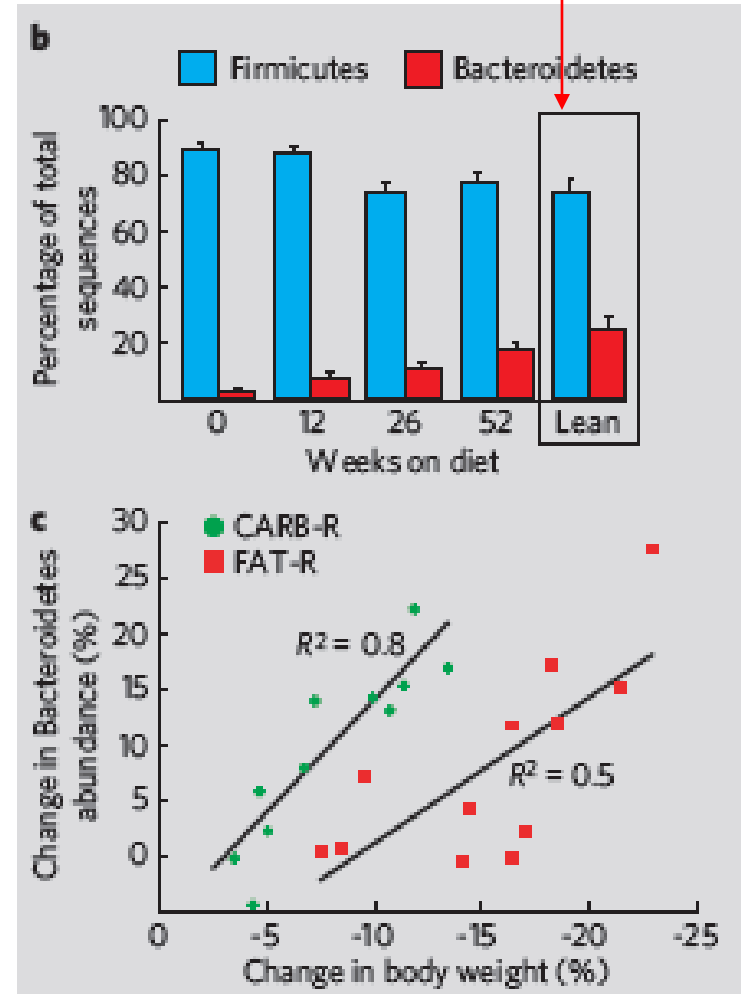
	% of total flora		
	Severe autism (11)	Control (8)	P value
<i>Desulfovibrio</i> genus	0.28	0.03	0.010
<i>Desulfovibrio piger</i>	0.11	0.006	0.032
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	0.28	0	0.035
<i>Desulfovibrio intestinalis</i>	0.10	0.03	0.045
<i>Bacteroides vulgatus</i>	12.13	3.63	0.045

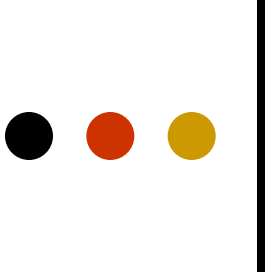
Obezitás és az (anaerob) bélflóra

Human gut microbes associated with obesity (*Ley et al.: Nature 2006*)

- Két meghatározó baktérium csoport a bélben: *Bacteroidetes* és *Firmicutes*
- Egér modellben a genetikailag elhízott egér bélflórájában 50%-al kevesebb a *Bacteroidetes* csoportba tartozó törzsek mennyisége
- 12 elhízott ember széklet flóráját vizsgálták diéta során
 - zsír megvonás: FAT-R
 - szénhidrát megvonás (CARB-R)

Sovány kontroll

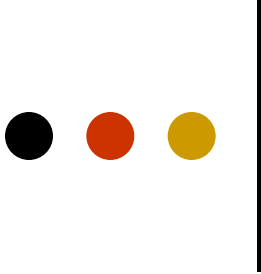




Anaerob baktériumok szerepe kórképekben (1)

- Diabéteszes láb szindróma
 - Vegyes anaerob flóra
- Bakteriémia
 - *Bacteroides, Fusobacterium*, stb.
- Krónikus prostatitisek
 - *Propionibacterium* II típus)
- Izületi protézis infekciók
 - *F. magna, Propionibacterium* spp.
- Acut és krónikus endophtalmitis
 - *Propionibacterium acnes*
- Egyoldali pharyngitis
 - Gyanús *F. necrophorum* infekcióra

és még sok más



Anaerob baktériumok szerepe kórképekben (2)

OPEN ACCESS Freely available online

2011

 PLOS one

Culture Enriched Molecular Profiling of the Cystic Fibrosis Airway Microbiome

Christopher D. Sibley¹, Margot E. Grinwis¹, Tyler R. Field¹, Christina S. Eshaghurshan¹, Monica M. Faria¹, Scot E. Dowd^{4,5}, Michael D. Parkins^{1,2,3}, Harvey R. Rabin^{1,2,3}, Michael G. Surette^{1,6*}

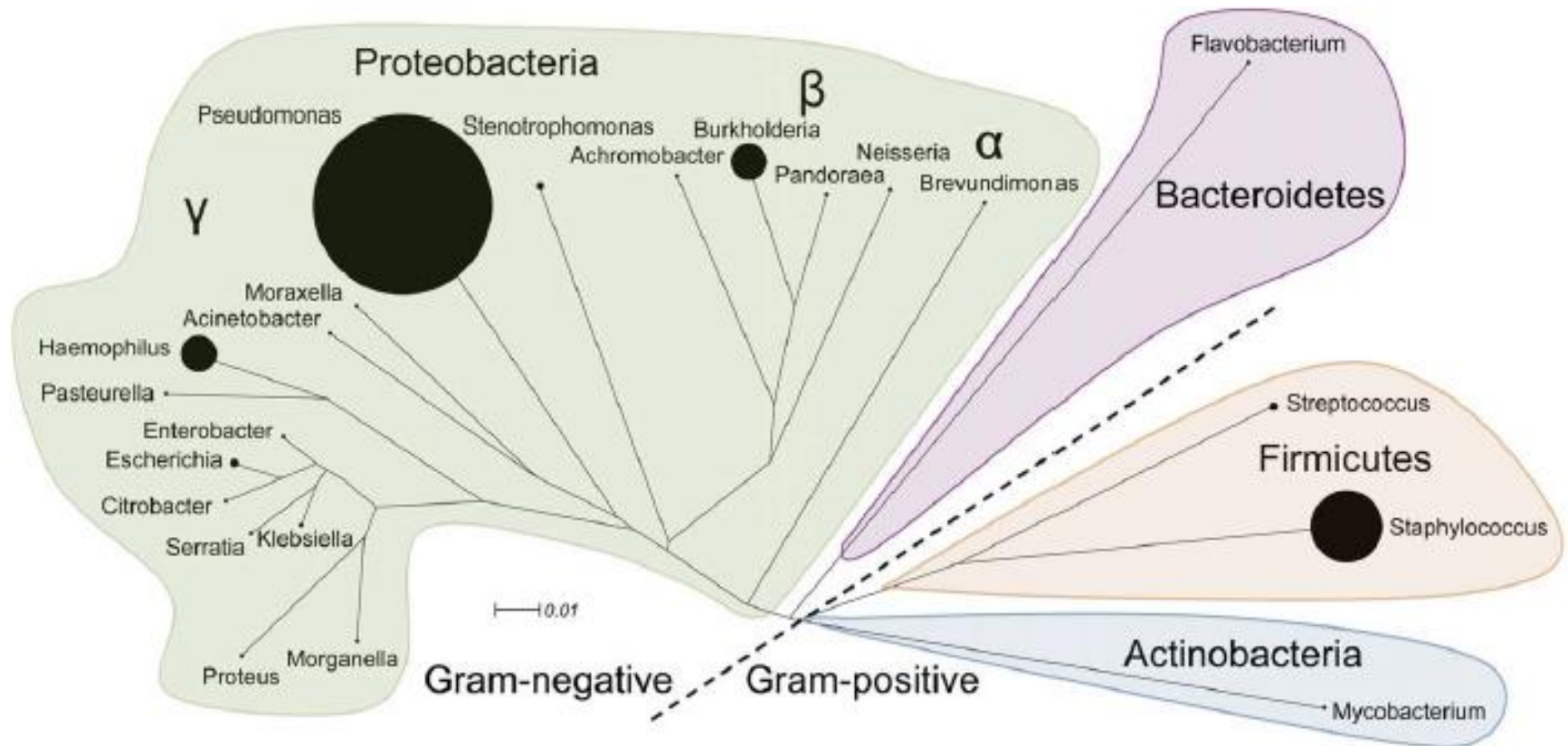
AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY AND CRITICAL CARE MEDICINE VOL 177 2008

Detection of Anaerobic Bacteria in High Numbers in Sputum from Patients with **Cystic Fibrosis**

Michael M. Tunney¹, Tyler R. Field¹, Thomas F. Moriarty¹, Sheila Patrick², Gerd Doering³, Marianne S. Muhlebach⁴, Matthew C. Wolfgang^{5,6}, Richard Boucher^{6,7}, Deirdre F. Gilpin¹, Andrew McDowell², and J. Stuart Elborn²

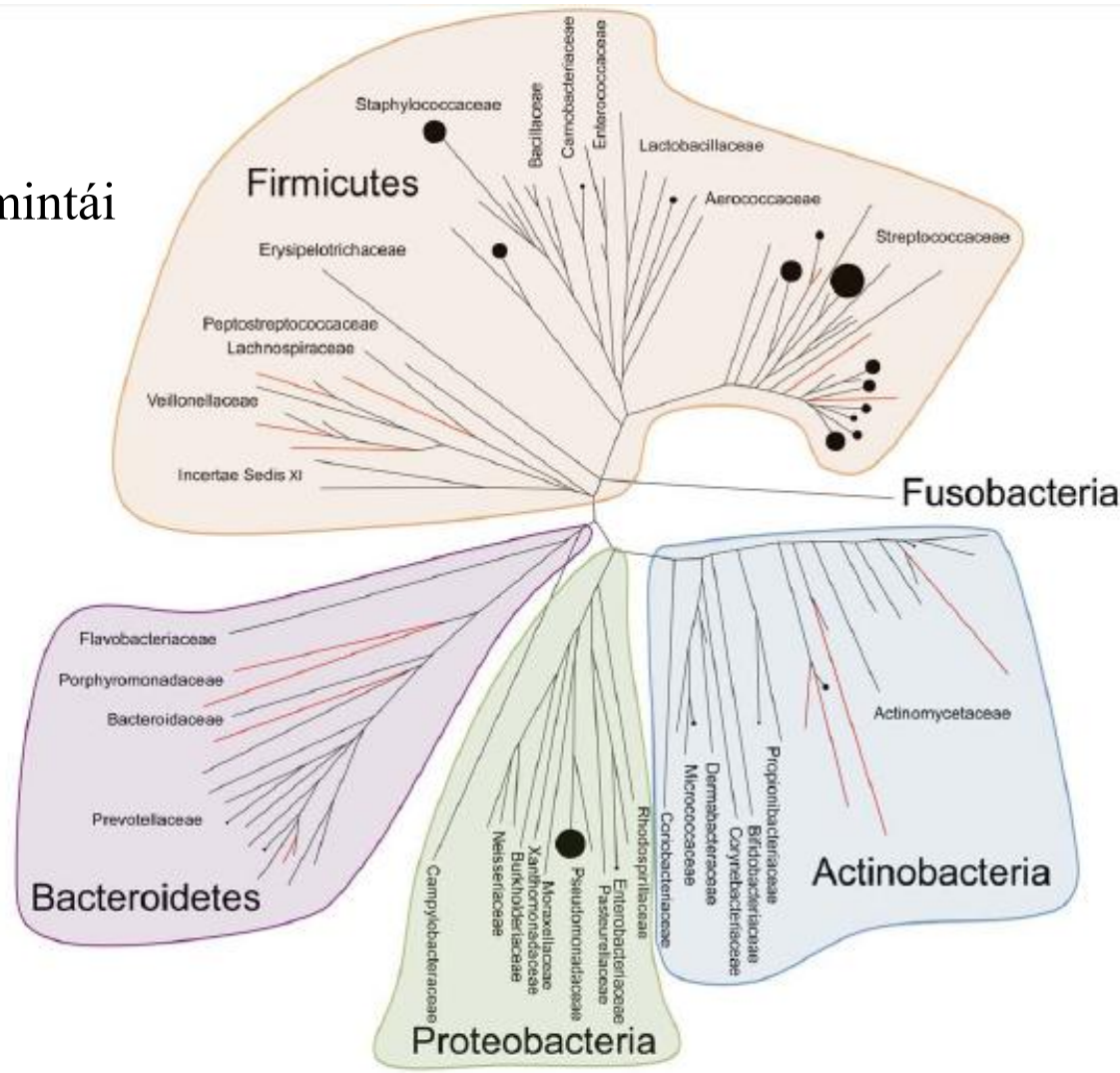
10 CF-es gyereknél megnézték a BAL mintát is !!

● ● ● CF-es betegek köpetéből **tenyésztéssel** kimutatott baktérium genusok megoszlása (19 250 törzs)

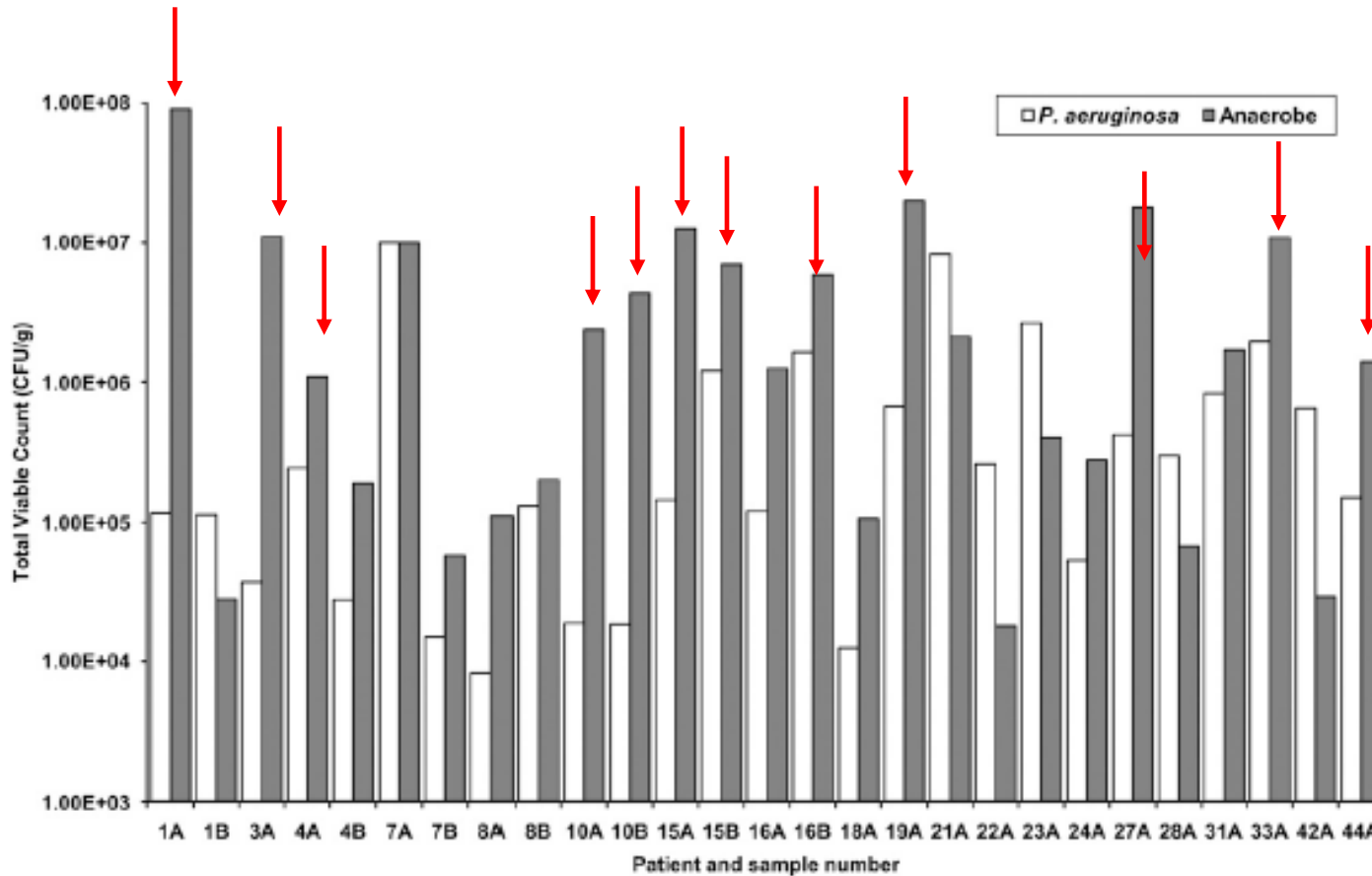


● ● ● | Ha tenyésztés mellett 16S rRNS gén szekvenálás is történik: szignifikánsan több genus és variábilisabb a kép

CF-es betegek mintái
(318 köpet)



Összefoglaló ábra kvantitatív PCR és szekvenálást követően (CF-es betegek)



- A *P. aeruginosa* + minták 69%-ában anaerobok is.
- 78%-ban az anaerobok magasabb csíraszámban

Sibely CD, et al. 2011

Hiperbárikus kamra, ahol oxigén túlnyomással gyógyítanak idült anaerob infekciókat

- Gázgangréna súlyos formája
- Idült diabeteszes láb infekció
- Operációval nem megoldható mélyben zajló infekciók

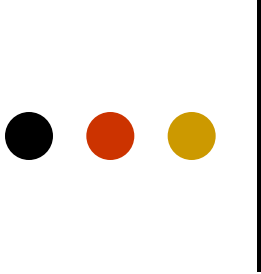
Műtők és intenzív osztály befogadására képes kamra is létezik





Szolid tumorok és anaerob baktériumok

- Szolid tumorok mélyén hypoxia van
 - Ez gátolja a tumor ellenes kemoterápiás szerek odajutását,
 - de kedvez anaerob baktériumok megtelepedésének és tumor roncsoló hatásának



U. Nurver: Could be considered the isolation of anaerobic bacteria from chronic breast abscesses as an indicator for breast cancer? (esetismertetés, nem publikált)

- 33 éves nőbeteg bal mellében többéve fennálló tályok
- Változatos antibiotikum terápia mellett spontán ürülés
- Jelen esetben amoxi/clav terápia indult és drenálták a tályogot
- Mikrobiológiai vizsgálat:
 - Aerob tenyésztés: MRSE (kis csíraszám)
 - Anaerob tenyésztés: *Bacteroides fragilis* (nagy csíraszám)
Propionibacterium granulosum (nagy csíraszám)
- Metronidazollal kiegészítik a terápiát. A beteg állapota nem javul.
- MRI csak a tályogot detektálja. Antib. váltás clindamycin+rifampicin
- Újabb MRI: felmerül tumor gyanúja. Mintavétel: adenocarcinoma. Mastectomia, kemotherápia és radioterápia
- Válasz a kérdésre: solid tumorok mélyén ideális anaerob körülmények lehetnek

Targeting solid tumors with non-pathogenic obligate anaerobic bacteria

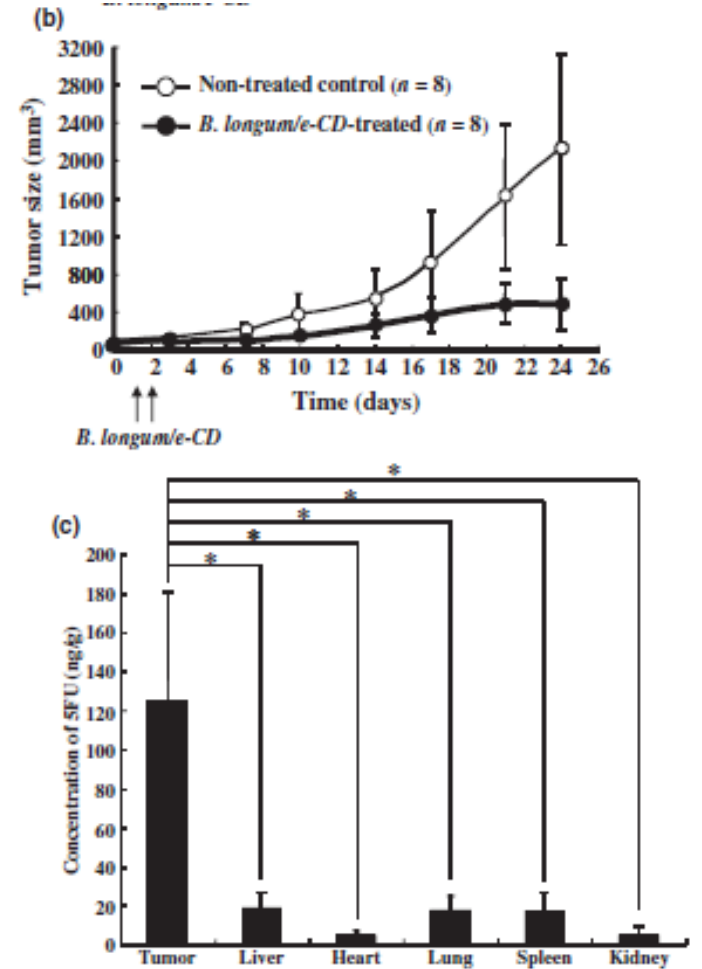
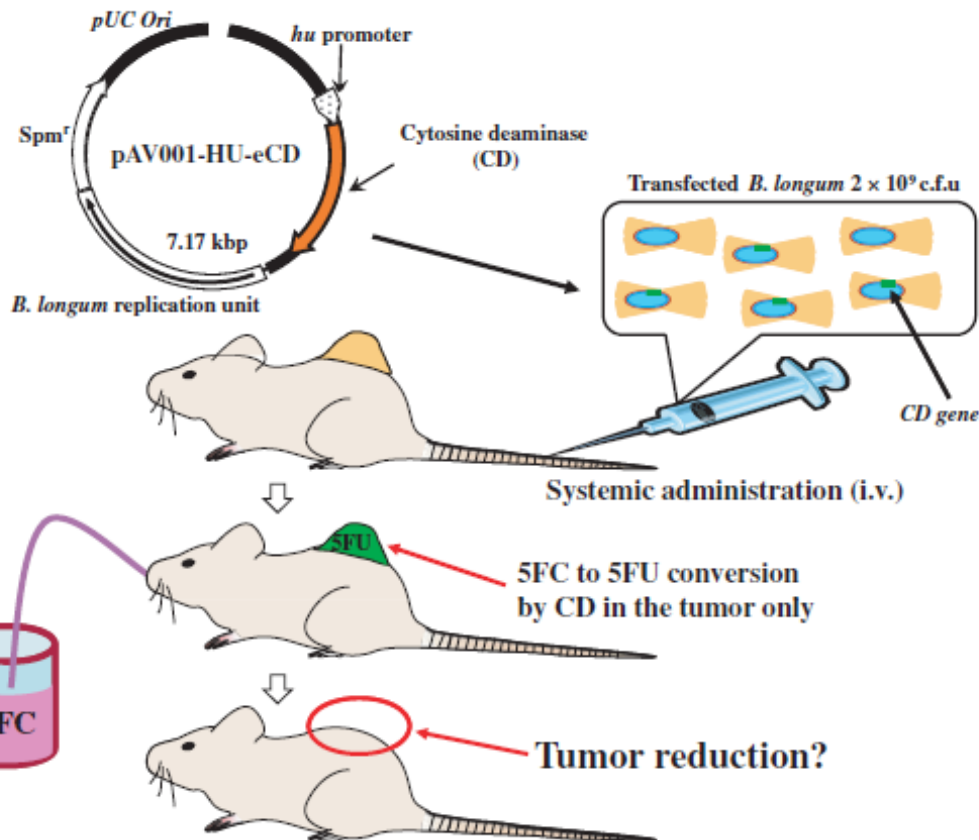
Shun'ichiro Taniguchi,^{1,2,6} Minoru Fujimori,^{2,3} Takayuki Sasaki,² Hiroko Tsutsui,⁴ Yuko Shimatani,² Keiichi Seki² and Jun Amano⁵

Tumour microenvironment creates an ideal condition for the growth of anaerobic and some facultative anaerobic bacteria

Bifidobacterium spp.
Clostridium spp
(genetikai manipulálás)

Targeting solid tumors with non-pathogenic obligate anaerobic bacteria

Shun'ichiro Taniguchi,^{1,2,6} Minoru Fujimori,^{2,3} Takayuki Sasaki,² Hiroko Tsutsui,⁴ Yuko Shimatani,² Keiichi Seki² and Jun Amano⁵



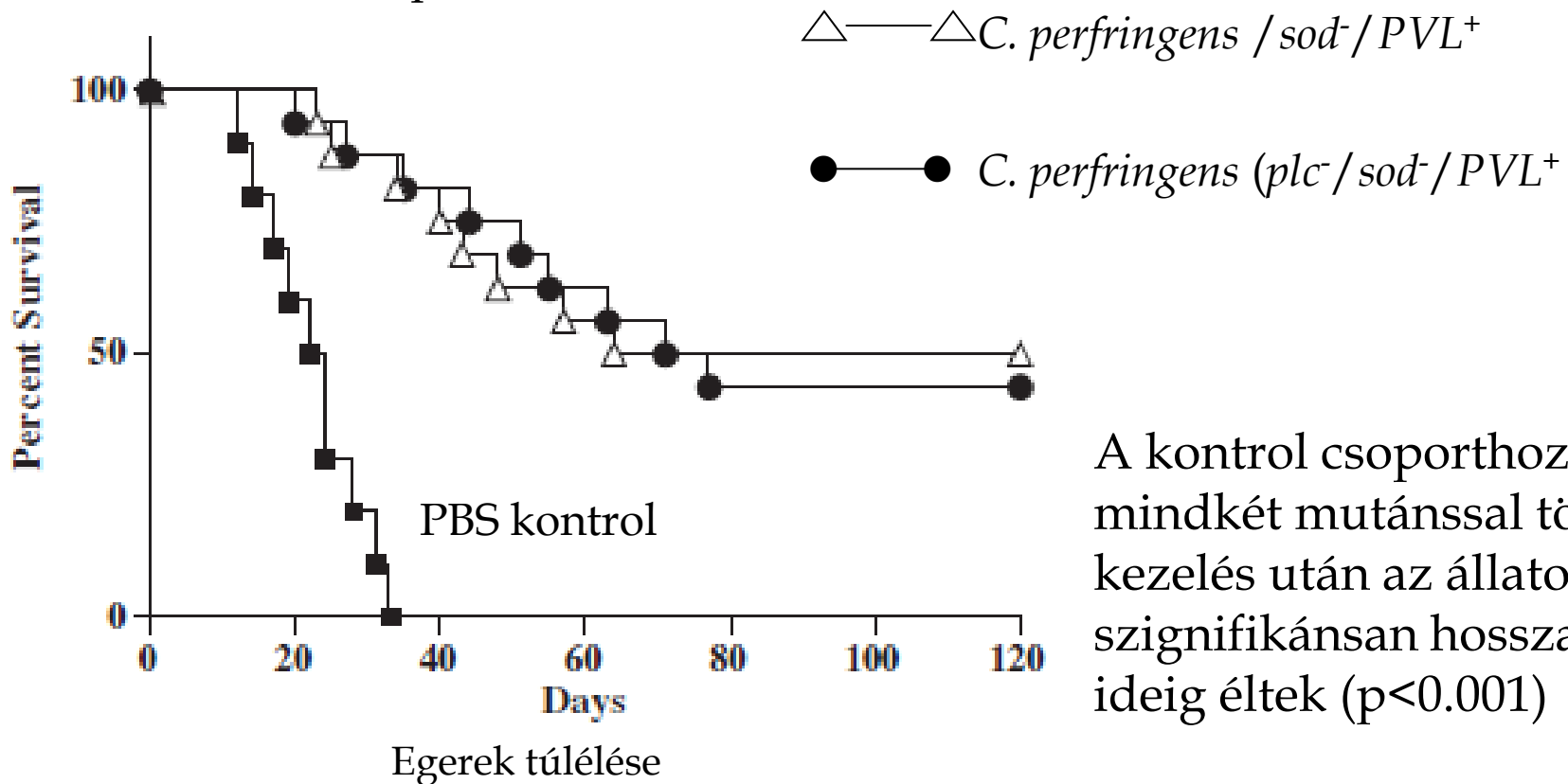


Li Z. *et al.*: The oncopathic potency of *C. perfringens* is independent of its toxin gene (Hum. Gene Ther., 2009)

- *C. perfringens* genetikai módosítása:
 - Szuperoxid dizmutáz (*sod*) és foszfolipáz C (*plc*) génjét eltávolítják,
 - viszont Panton-Valentin leukocidin (*PLV*) gént (*S. aureus*) beviszik
- A genetikailag módosított *C. perfringens* tumor ölő hatását pankreász tumort hordozó C57/BL6 egérben vizsgálták
- Szignifikáns különbség volt a *C. perfringens* (*sod*⁻/*plc*⁻/*PLV*⁺) i.v. kezelt tumoros egerek túlélése és a vad típusú törzzsel kezelt egerek túlélése között (45-120 nap *versus* 23-36 nap)

● ● ● | Li Z. *et al.*: The oncopathic potency of *C. perfringens* is independent of its toxin gene (Hum. Gene Ther., 2009)

Kezelés: i.v. 10^7 spórával



A kontrol csoporthoz képest mindkét mutánsal történt kezelés után az állatok szignifikánsan hosszabb ideig éltek ($p < 0.001$)