

Basi dell'efficacia clinica del D-mannosio e dell'estratto di melagrana nelle infezioni urinarie

Patologie ad elevata incidenza nella popolazione femminile sono gravate da alti tassi di recidiva.

La disponibilità di combinazioni nutraceutiche può rappresentare una valida alternativa sia per la terapia che per la profilassi delle infezioni urinarie

Antonello E. Rigamonti

*Dipartimento di Scienze Cliniche e Comunità
Università di Milano, Milano*

Sebbene normalmente sia un commensale della microflora intestinale di molti mammiferi, *Escherichia coli* è anche frequentemente associato a numerose malattie infettive, tra cui le infezioni del tratto urinario (UTI). Questi ceppi batterici sono definiti uropatogeni (UPEC) e posseggono una moltitudine di fattori di virulenza come fimbrie, flagelli, tossine, rivestimento polisaccaridico, siderofori e altre proprietà capaci di contrastare, a livello del tratto urinario, la risposta innata e acquisita del sistema immunitario dell'ospite (Hooton e Stamm, 1997; Svanborg e Godaly, 1997).

Le UTI hanno un'elevata incidenza nella popolazione femminile, interessando quasi una donna su due almeno una volta nella vita. Le infezioni spesso recidivano nei mesi successivi, nonostante l'uso appropriato di antibiotici.

Le UTI compaiono quando un ceppo UPEC colonizza la mucosa periuretrale e ascende attraverso l'uretra alla vescica e, in alcuni casi, attraverso l'uretere al rene. A differenza della cistite, la pielonefrite è un evento raro nelle donne con cistite non trattata e nelle donne e negli uomini con batteriuria asintomatica non trattata.

La cistite acuta (non complicata) è considerata una condizione benigna con rapida risoluzione della sintomatologia anche senza trattamento (Christiaens et al., 2002; Ferry et al., 2007). Tuttavia, a causa dei sintomi urologici invalidanti, come disuria, pollachiuria, urgenza minzionale e dolorabilità pelvica, la terapia antimicrobica è spesso

prescritta (Gupta et al., 2011).

La scelta del regime antibiotico sta diventando sempre più difficile per la crescente resistenza antimicrobica dei ceppi UPEC in diverse aree geografiche: mentre la resistenza ad amoxicillina e trimetoprim-sulfametossazolo ha raggiunto il 20% in molte regioni del mondo, inclusa l'Italia, quella a fluorochinoloni, cefalosporine orali e amoxicillina-clavulanato è generalmente limitata, non superando il 10%. L'esteso uso dei fluorochinoloni ha comportato un aumento di ceppi UPEC resistenti; tuttavia, la resistenza a nitrofurantoina, fosfomicina e mecillinam è estremamente bassa, ma il quadro microbiologico potrebbe cambiare rapidamente nei prossimi anni (Meier et al., 2011; Nicolle, 2011).

Ogni medico, nell'atto di prescrivere un antibiotico per una UTI, dovrebbe considerare le potenziali implicazioni ecomicrobiologiche (cioè la selezione di batteri multiresistenti) e il quadro epidemiologico delle resistenze antimicrobiche nella regione geografica di appartenenza (Foxman e Frerichs, 1985; Gupta et al., 2011).

Il problema diventa ancor più urgente quando si considerano le UTI ricorrenti (definite come 2 infezioni in 6 mesi o 3 o più infezioni in 1 anno), per le quali è tuttora controversa l'adozione di una profilassi antibiotica a lungo termine o anche solo post-coitale, essendo poco efficaci le norme comportamentali e non trascurabili gli effetti collaterali e i costi della terapia farmacologica (Hooton, 2012).

Si comprende quindi la necessità di terapie alternative, eventualmente nutraceutiche.

► Efficacia farmacologica, microbiologica e clinica del D-mannosio

Come la maggior parte dei patogeni Gram negativi, *E. coli* è dotato di numerose strutture adesive (Remaut e Waksman, 2004), che permettono a questi microrganismi di riconoscere e colonizzare specifiche nicchie nell'ospite. Le fimbrie di tipo 1 (fim) e i pili associati alla pielonefrite (pap) rappresentano le adesine che caratterizzano i ceppi UPEC (Schilling et al., 2001; Mulvey, 2002; Berglund e Knight, 2003). Gli stessi ceppi UPEC spesso esprimono i geni per entrambe le adesine (fim e pap), che possono essere attivati o inibiti in risposta alle condizioni ambientali attraverso un raffinato meccanismo di regolazione genica attuato dagli operoni fim e pap (Xia et al., 2000).

La specificità di legame dei ceppi UPEC all'uroepitelio è assicurata dall'adesione fimbriale a distinti recettori presenti sulla superficie cellulare. Più precisamente, i pili di tipo 1, espressi dai ceppi di *E. coli* che causano UTI, come le cistiti (Langermann et al., 1997; Ronald et al., 2001), si legano a una glicoproteina ricca di residui di mannosio, detta uroplachina Ia (Old, 1972; Firon et al., 1982; 1984; Wu et al., 1996; Zhou et al., 2001). Nelle UTI ascendenti i ceppi UPEC usano i P-pili per legarsi ai recettori glicolipidici contenenti residui di galabiosio nei reni e causare pielonefrite (Kallenius et al., 1980; Leffler e Svanborg-Eden, 1980; Lund et al., 1987; Dodson et al., 2001).

I ceppi UPEC possono invadere le cellule uroepiteliali con un meccanismo pilo-dipendente. Raggiunto lo spazio intracellulare, i batteri formano le co-

siddette colonie batteriche intracellulari (IBC), che costituiscono il substrato microbiologico del biofilm, che riveste la parete vescicale, creando un ambiente protetto dagli antibiotici e dal sistema immunitario dell'ospite (Justice et al., 2004). I batteri che fanno parte delle IBC esprimono i componenti molecolari del pilo di tipo 1. Alcuni batteri possono abbandonare la cellula infettata e invadere altre cellule uroepiteliali vicine, stabilendosi in un quiescente *reservoir*, che può essere la fonte microbiologica per la ricorrenza delle UTI (o della batteriuria asintomatica) (Mulvey et al., 1998) (figura 1).

Delle varie adesine espresse dai ceppi UPEC, i pili di tipo 1 sono quelle più prevalenti (Brinton, 1959; Buchanan et al., 1985; Hultgren et al., 1985; Langermann et al., 1997; Bahrani-Mougeot et al., 2002), essendo espresse da un elevato numero di ceppi patogeni e commensali nell'ambiente e usati in laboratorio per gli studi di microbiologia (Fukiya et al., 2004).

Il pilo di tipo 1 consiste in una struttura lineare di subunità (FimA), non covalentemente legate, che si ripetono secondo un andamento destro-elicooidale, che termina in una breve estremità, formata dalle subunità FimF e FimG, che fungono da adattatore, e FimH, che è l'adesina propriamente detta (Thanassi et al., 1998; Knight et al., 2000; Sauer et al., 2000; Choudhury et al., 1999; Sauer et al., 1999; 2000; Zavalov et al., 2003). FimH, una proteina a due domini, è responsabile dell'adesione batterica mannosio-sensibile. Il dominio lectinico amino-terminale (residui 1-158) è legato al dominio pilinico carbossi-terminale (residui 159-279), che connette l'adesina al resto del pilo (Schembri et al., 2000; Dodson et al., 2001; Buts et al., 2003).

Come precedentemente riferito, il principale recettore per FimH nel tratto urinario è l'uroplachina Ia (Zhou et

al., 2001; Min et al., 2002), che è abbondantemente presente sulle cellule uroepiteliali. Tuttavia, FimH riconosce un'ampia varietà di glicoproteine che portano una o più strutture glicidiche N-legate, ricche di mannosio. FimH lega anche i mannani presenti nella parete cellulare dei lieviti e media l'agglutinazione delle cellule fungine.

L'aumento dell'incidenza di resistenza batterica agli antibiotici ha rinnovato l'interesse per i meccanismi molecolari alla base dell'adesione mediata da FimH e lo sviluppo di terapie complementari o alternative per le UTI.

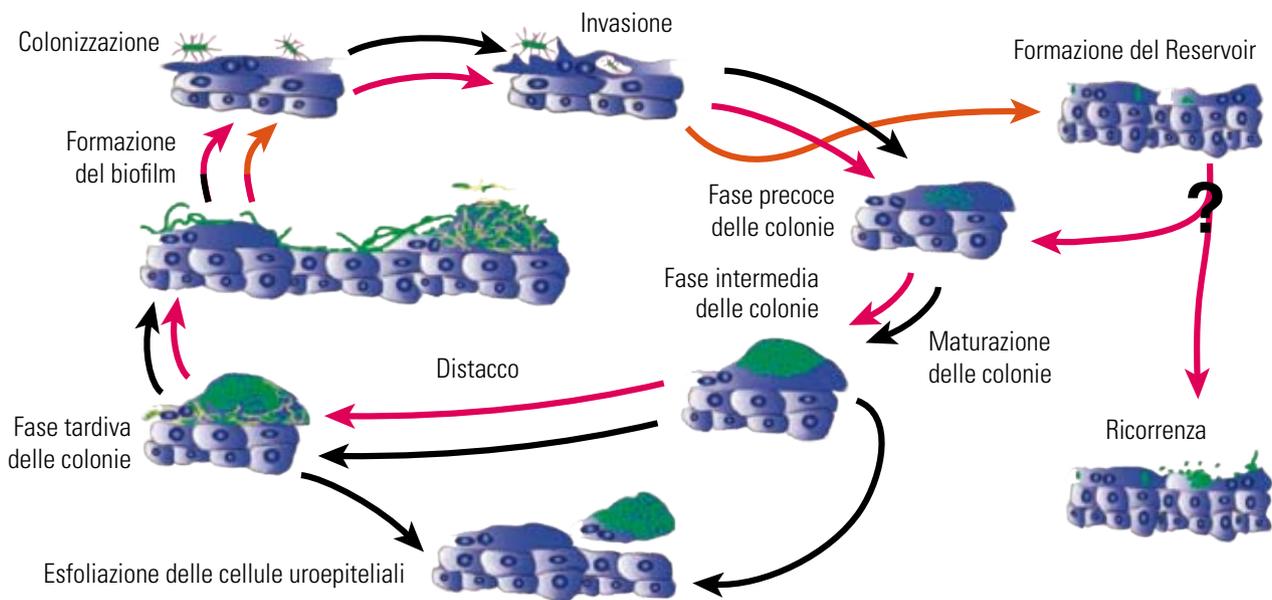
L'adesione batterica mediata da FimH è inibita dal D-mannosio (Old, 1972; Hung et al., 2002) e da una varietà di saccaridi naturali e sintetici, contenenti residui terminali di mannosio (Firon et al., 1982; 1983; 1984; 1987; Neeser et al., 1986; Lindhorst et al., 1998; Nagahori et al., 2002).

Solo recentemente, Bouckaert et al. (2005) hanno identificato a livello molecolare il sito di legame del D-mannosio presente nel dominio lectinico di FimH e quantificato l'inibizione di noti bloccanti dell'adesione batterica come D-mannosio (Bouckaert et al., 2005), oligomannosidi (Firon et al., 1982; 1983; 1984; Neeser et al., 1986; Lindhorst et al., 1998) o mannosidi aglicone-sostituiti (Firon et al., 1984; 1987; Nagahori et al., 2002).

Il blocco dell'interazione tra FimH e recettore si è dimostrato efficace nel prevenire l'adesione batterica all'uroepitelio e, conseguentemente, l'infezione (Langermann et al., 1997; 2000; Thankavel et al., 1997; Langermann e Ballou, 2003).

Già trent'anni fa era stato dimostrato che, tra diversi monosaccaridi a 5 e 6 atomi di carbonio, il D-mannosio è il più potente ad inibire l'adesione di *E. coli* su cellule uroepiteliali esfoliate nelle urine di donne sane, indicando quindi la potenziale utilità clinica di

Figura 1



La grande maggioranza delle UTI ricorrenti nella popolazione femminile, due terzi delle quali sono causati dallo stesso ceppo batterico dell'infezione iniziale, è considerata una reinfezione. I ceppi uropatogeni possono persistere nella flora intestinale per anni dopo l'eliminazione dal tratto urinario e causare UTI ricorrenti. Studi di microbiologia in modelli sperimentali animali hanno dimostrato che l'inoculazione di ceppi di E. coli è seguita dall'invasione batterica dell'uroepitelio. I batteri resistono alla clearance degli agenti antimicrobici e sviluppano colonie batteriche intracellulari e un reservoir quiescente, che costituisce il substrato microbiologico delle batteriurie asintomatiche e delle UTI ricorrenti. Fattori di virulenza, come l'espressione di fimbrie e flagelli sulla parete batterica, svolgono un ruolo preminente. Vi è l'evidenza indiretta che un simile fenomeno avvenga anche nell'uomo, come suggerito dalla presenza di biofilm sulle cellule uroepiteliali esfoliate nelle urine di donne con cistite. Modificato da Mulvey et al., 1998.

questo composto nutraceutico contro le UTI (Schaeffer et al., 1980; 1984) (tabella 1). A differenza di altri approcci terapeutici come l'immunizzazione attiva e passiva contro FimH (Langermann et al., 1997; 2000; Thankavel et al., 1997; Langermann e Ballou, 2003), il D-mannosio, antagonista recettoriale di FimH, può essere facilmente assunto per via orale, è assorbito dal tratto gastroenterico come gli altri monosaccaridi ed è eliminato nelle urine, dove esplica la sua azione terapeutica. Il D-mannosio riduce la batteriuria in alcuni modelli sperimentali (Michaels et al., 1983) e da decenni è utilizzato per il trattamento delle UTI in campo veterinario (King et al., 2000). Nonostante la pubblicazione di numerosi studi di microbiologia clinica, la dimostrazione dell'efficacia clinico-urologica del D-mannosio nelle UTI ricor-

renti è recente (Kranjčec et al., 2014). Precisamente, in un studio clinico, randomizzato e placebo-controllato, sono state arruolate oltre 300 donne con una diagnosi di UTI acuta alla presentazione clinica e una storia di UTI ricorrenti. Nello studio sono state escluse le donne che avevano anomalie anatomiche al tratto urinario, cistite interstiziale o diabete mellito o che erano in gravidanza, in terapia ormonale sostitutiva o trattate con contraccettivi orali. L'obiettivo primario dello studio era la riduzione del numero delle UTI microbiologicamente confermate nelle donne trattate con D-mannosio. Dopo un iniziale trattamento dell'UTI acuta con ciprofloxacina 500 mg due volte al giorno per una settimana, le pazienti erano allocate, secondo uno schema randomizzato, a uno dei seguenti gruppi sperimentali:

- 1) profilassi con D-mannosio alla dose di 2 g al giorno per 6 mesi;
- 2) profilassi con nitrofurantoina alla dose di 50 mg al giorno per 6 mesi;
- 3) nessuna profilassi (gruppo di controllo).

Durante i 6 mesi di trattamento, il 32% delle pazienti ebbe una UTI ricorrente. La percentuale di UTI ricorrenti era significativamente maggiore nel gruppo che non riceveva alcuna profilassi (60%) rispetto alle pazienti in trattamento con D-mannosio (15%) e nitrofurantoina (20%). Non si osservava alcuna differenza tra i due gruppi sottoposti a profilassi attiva, indicando quindi una comparabilità di efficacia tra il prodotto nutraceutico e l'antibiotico (figura 2). Il rischio di UTI ricorrenti era significativamente maggiore nelle donne che non ricevevano alcuna profilassi rispetto ai gruppi in profilassi attiva (rischio

Tabella 1

Inibizione dell'aderenza di *E.coli* alle cellule uroepiteliali da parte di carboidrati o ConA

Composto	Concentrazione richiesta per l'inibizione al 50% (mM)
6 atomi di carbonio	
• D-mannosio	27.8
• D-mannitolo	27.4
• α -metil-D-mannoside	77.0
• D-fruttosio	83.0
5 atomi di carbonio	
• D-arabinosio	166.0
• D-lixosio	166.0
3 atomi di carbonio	
• L-gliceraldeide	350.0
■ Mannano di lievito	0.05%*
■ ConA	0.0093

* Peso molecolare non determinato

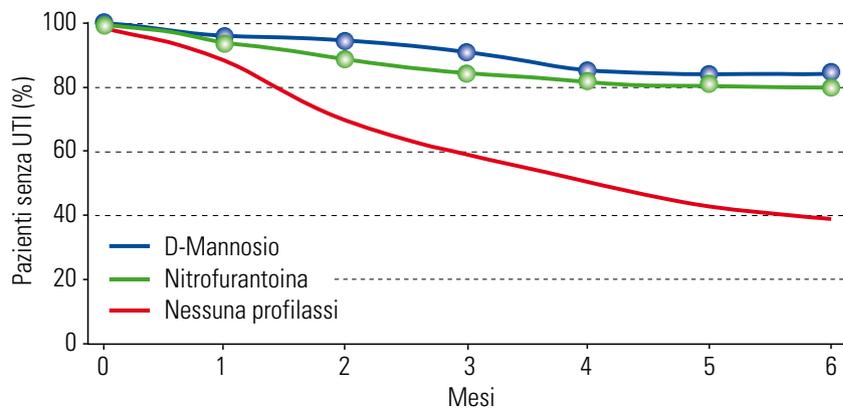
Inibizione dell'adesione di E. coli a cellule uroepiteliali trattate con diversi monosaccaridi a 5 e 6 atomi di carbonio. Si noti che il D-mannosio è il monosaccaride più potente. Modificato da Shaeffer et al., 1980, 1984

relativo: 0.24 con profilassi e 0.34 senza profilassi). Il tempo prima della ricorrenza di una UTI era, seppur non statisticamente significativo, maggiore nelle pazienti trattate con D-mannosio che nitrofurantoina. Le pazienti trattate con D-mannosio avevano anche un minor rischio di effetti collaterali rispetto al gruppo in terapia con nitrofurantoina. L'aderenza terapeutica (*compliance*), valutata registrando l'assunzione giornaliera dell'agente profilattico, era molto elevata, senza alcuna differenza tra le donne in terapia con D-mannosio o nitrofurantoina.

I risultati del presente studio suggeriscono che il D-mannosio può essere un efficace intervento terapeutico per la profilassi delle UTI ricorrenti. L'ottima tollerabilità consente la somministrazione di questo composto nutraceutico a lungo termine.

Figura 2

Pazienti senza UTI dopo profilassi



Percentuali delle pazienti che non sviluppano UTI durante i 6 mesi di profilassi con D-mannosio, nitrofurantoina o placebo (curve di Kaplan-Meier). Come illustrato dalla figura, non si osserva alcuna differenza tra i due gruppi sperimentali in profilassi attiva (D-mannosio o nitrofurantoina); al contrario, le pazienti senza profilassi sviluppano un maggior numero di UTI nel tempo. Modificato da Kranjčec et al., 2014.

► Efficacia farmacologica, microbiologica e clinica degli estratti di melagrana

Punica granatum, appartenente alla famiglia delle *Punicaceae*, è il nome scientifico della melagrana, un frutto noto dall'antichità per le molteplici proprietà medicamentose, essendo stato utilizzato per la cura di una varietà di patologie infettive (Jurenka, 2008; Bachoual et al., 2011).

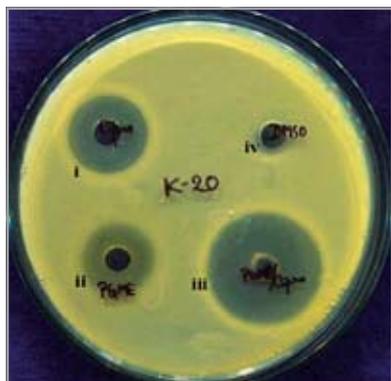
Sono stati condotti diversi studi con l'obiettivo di identificare i componenti "terapeutici" della melagrana (Braga et al., 2005; Jurenka, 2008). Tra i potenziali composti figurano i flavonoidi come l'acido ellaginic e l'acido punicico, le antocianidine e le antocianine (Jurenka, 2008), ai quali sono state attribuite proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e antimicrobiche (Jurenka, 2008; McCarrell et al., 2008; Gould et al., 2009).

Negli ultimi anni, la ricerca farmacologica si è focalizzata sui componenti attivi della melagrana dotati di proprietà elettivamente antimicrobiche (Al-Zoreky, 2009; Glazer et al., 2012; Neurath et al., 2004; Dell'Agli et al.,

2009). In particolare, è stato dimostrato che diversi estratti di melagrana (PGE) possiedono una spiccata attività antimicrobica contro *Staphylococcus aureus* (Braga et al., 2005; Gould et al., 2009), *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Duman et al., 2009) e *Proteus mirabilis* (McCarrell et al., 2008).

In uno studio di microbiologia clinica, PGE si è dimostrato capace di potenziare l'attività antimicrobica di ciprofloxacina contro ceppi di *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* produttori di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL-positivi) e di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di metallo-beta-lattamasi (MBL-positivi), che erano stati selezionati per il profilo di resistenza contro i fluorochinoloni (Dey et al., 2012) (figura 3). Secondo gli Autori, l'effetto farmacologico di PGE, presumibilmente la componente polifenolica, sarebbe attribuibile all'inibizione della pompa di efflusso, che, espressa sulla parete batterica, estrude, con meccanismo attivo, molti xenobiotici, tra cui la ciprofloxacina, che all'interno della cellula può raggiungere il suo bersaglio farmacologico (cioè la topoisomerasi

Figura 3



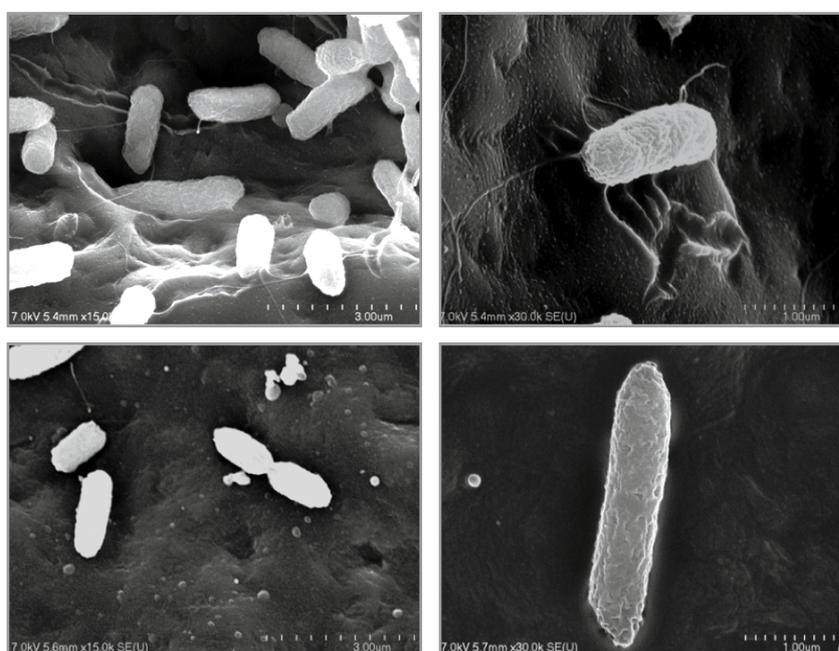
Attività antibatterica di (i) ciprofloxacina (12.8 23 µg/pozzetto), (ii) PGE (512 µg/pozzetto), (iii) combinazione di ciprofloxacina e PGE (12.8/512 µg/pozzetto) contro un ceppo di *K. pneumoniae* ESBL-positivo (K20). (iv) DMSO (100 µl/pozzetto) usato come controllo. Si osservi l'effetto sinergico della combinazione di ciprofloxacina e PGE. Per concessione da Dey et al., 2012.

di tipo 2) ed esercitare il proprio effetto antimicrobico (Hooper et al., 2001). Da tempo è noto il ruolo preminente della motilità batterica mediata dal flagello nell'ascesa dei ceppi UPEC nel tratto urinario, nella disseminazione nel torrente circolatorio e nella persistenza o ricorrenza dell'infezione (Lane et al., 2005, 2007b; Wright et al., 2005).

Il flagello batterico è composto da un motore, un aggancio e un filamento (Berg e Anderson, 1973). Alcune specie batteriche sono in grado di muoversi ruotando la parte filamentosa del flagello, che è un polimero di uguali subunità, rappresentate dalla flagellina, codificata dal gene *fliC* (Macnab, 1992; Chilcott e Hughes, 2000; Berg, 2003). Mutazioni nel gene *fliC* comportano la perdita del flagello e quindi della motilità batterica (Macnab, 1992).

Recentemente, è stato dimostrato che la motilità di un ceppo UPEC, precisamente *E. coli* CFT073, in ambienti liquidi (*swimming*) o viscosi (*swarming*) è compromessa in presenza di PGE (Asadishad et al., 2012). Questo effetto

Figura 4



Immagini di microscopia elettronica che mostrano i batteri (ceppo *E. coli* CFT073) esposti al veicolo (sopra) e all'estratto di melagrana (sotto). La melagrana contiene un composto di 1000-3000 KDa che inibisce l'espressione genica e proteica della flagellina con perdita dei flagelli e quindi della motilità batterica (*swimming* e *swarming*). Modificato da Asadishad et al., 2012.

è mediato dall'inibizione del gene *fliC* e dalla riduzione dei livelli proteici della flagellina. Come dimostrato dalle immagini di microscopia elettronica, l'esposizione a PGE riduce il numero e la lunghezza dei flagelli presenti sulla singola cellula batterica (figura 4). La motilità per *swarming* risulta più compromessa di quella per *swimming*, essendo la prima mediata dall'azione coordinata di più flagelli, mentre la seconda dalla propulsione anche di un singolo flagello (Kearns, 2010). Poiché non si è osservata alcuna variazione delle curve di crescita batterica in presenza di PGE, gli effetti inibitori sull'espressione genica e proteica della flagellina e sulla motilità batterica non sono di tipo tossico, ma verosimilmente farmacologico (Asadishad et al., 2012).

Seppur non chimicamente caratterizzato, la frazione di PGE a cui è riconducibile la specifica azione inibitoria

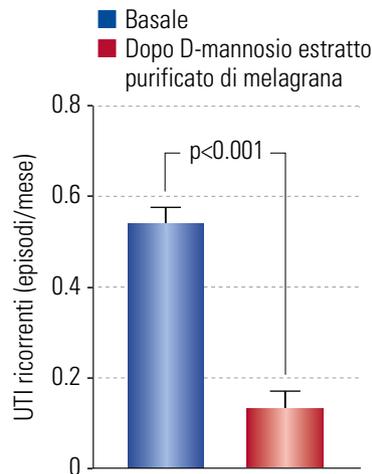
sull'espressione genica di *fliC* avrebbe un peso molecolare compreso tra 1000 e 3000 KDa (Asadishad et al., 2012).

Poiché la motilità batterica mediata dal flagello favorisce la disseminazione dei ceppi UPEC nel tratto urinario (Lane et al., 2007a, b), considerando il crescente aumento della resistenza batterica agli antibiotici, gli effetti di PGE, che è disponibile come preparato nutraceutico, sul genotipo/fenotipo uropatogeno di *E. coli* sono di rilevanza clinica nel trattamento acuto e nella profilassi delle UTI ricorrenti.

Recentemente, sono stati presentati i promettenti risultati di uno studio clinico pilota, condotto in 16 pazienti con UTI ricorrenti (asintomatiche), sottoposti a un trattamento antimicrobico acuto (acido pipemidico, 400 mg due volte al giorno per 10 giorni) associato a una combinazione nutraceutica contenente, oltre a D-mannosio, PGE. Una terapia di

Figura 5

Ridotta incidenza di UTI



La somministrazione profilattica di una combinazione nutraceutica commercialmente disponibile, costituita da D-mannosio ed estratto purificato di melagrana, riduce l'incidenza di UTI asintomatiche in pazienti affetti da diverse patologie urologiche con storia progressa di UTI recidivanti. Modificato da Tosto et al., 2013.

► Conclusioni

mantenimento con la combinazione nutraceutica è stata successivamente somministrata ai pazienti *responder* ($CFU < 10^5/ml$) (Tosto et al., 2013).

L'incidenza di UTI ricorrenti in questo gruppo di pazienti, calcolata sulla base di un numero totale di 43 urinocolture riscontrate nei mesi precedenti, era di 0.5 ± 0.2 episodi/mese. Come atteso, il microrganismo più frequentemente isolato in queste urinocolture era *E. coli* (72.1%), che si confermava essere l'agente eziologico prevalente anche nelle UTI riscontrate prima dell'arruolamento allo studio (68.8%). Sulla base dell'antibiogramma standard il 31.3% dei pazienti presentava ceppi multiresistenti. La combinazione della terapia antibiotica con il preparato nutraceutico induceva un'eradicazione microbiologicamente confermata dell'UTI nel 75% dei casi ($CFU < 10^3/ml$). Il risultato più interessante dello studio era che, al termine della terapia profilattica con la combinazione nutraceutica, somministrata ai *responder* al precedente trattamento, non si osservava alcuna UTI nel 50% dei pazienti e l'incidenza delle UTI ricorrenti si era significativamente ridotta a 0.1 ± 0.2 episodi/mese (figura 5). Non si registrava alcun effetto collaterale durante la terapia antimicrobica acuta e la profilassi.

Il presente studio clinico, condotto in pazienti con differenti patologie urologiche, come ipertrofia prostatica benigna, vescica neurogena, ritenzione urinaria acuta e sindrome da dolore pelvico cronico, indicherebbe che la somministrazione di una combinazione nutraceutica, contenente PGE e D-mannosio, può essere utile in associazione con una terapia antimicrobica acuta e nella profilassi a lungo termine per l'eradicazione delle UTI ricorrenti multiresistenti. Attualmente, è in corso uno studio multicentrico su un largo numero di pazienti per confermare questi promettenti risultati.

Considerando la crescente diffusione della resistenza antimicrobica dei ceppi UPEC in molte aree geografiche e le controversie sulla profilassi antibiotica delle UTI ricorrenti (classe di antibiotici, dose e durata), a cui si associa il problema dei costi e degli effetti collaterali, la disponibilità di combinazioni nutraceutiche, come D-mannosio ed estratti purificati di melagrana, può rappresentare una valida alternativa terapeutica per il potenziamento del regime antibiotico somministrato nella fase acuta dell'UTI (causate anche da ceppi resistenti) e per la profilassi delle UTI. Studi microbiologici e clinici dimostrano l'efficacia dei due componenti nutraceutici contro i ceppi UPEC, i principali agenti eziologici delle UTI, con particolare

riferimento alle cistiti (non complicate) nella popolazione femminile.

Negli ultimi anni alcuni studi farmacologici hanno anche caratterizzato il bersaglio molecolare a cui questi composti si legano e i meccanismi biologici alla base dell'effetto microbiologico e quindi clinico. Precisamente, il D-mannosio è un bloccante del FimH, la principale adesina dei ceppi UPEC, mentre PGE, che possiede anche un'attività antimicrobica, inibisce l'espressione genica e proteica della flagellina, costituente del flagello batterico. L'adesione e la motilità ascensionale dei ceppi UPEC sarebbero compromesse, con successiva eradicazione del *reservoir* delle IBC e quindi delle UTI ricorrenti.

Da un punto di vista ecomicrobiologico i benefici derivanti dall'uso (esteso e prolungato) di D-mannosio sono notevoli perché è difficile ipotizzare una mutazione al gene FimH, che rappresenta un fattore di virulenza dei ceppi UPEC. Inoltre, la combinazione di D-mannosio ed estratto di melagrana potrebbe essere sinergica, riducendo ulteriormente il rischio di resistenza, agendo i due ingredienti su differenti bersagli farmacologici.

Infine, negli ultimi anni si assiste a un crescente interesse per la *green pharmacology* e per l'ecosostenibilità dei processi produttivi dell'industria farmaceutica. La nutraceutica, che offre composti "naturali" provvisti di proprietà terapeutiche, rappresenta una valida soluzione.



Attraverso il presente QR-Code è possibile visualizzare con tablet/smartphone un video di approfondimento sull'argomento

Bibliografia

- Al-Zoreky NS. (2009) Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Int J Food Microbiol.* 134: 244-248.
- Asadishad B, Hidalgo G, Tufenkji N. (2012) Pomegranate materials inhibit flagellin gene expression and flagellar-propelled motility of uropathogenic *Escherichia coli* strain CFT073. *FEMS Microbiol Lett.* 334: 87-94.
- Bachoual R, Talmoudi W, Boussetta T, et al. (2011) An aqueous pomegranate peel extract inhibits neutrophil myeloperoxidase in vitro and attenuates lung inflammation in mice. *Food Chem. Toxicol.* 49: 1224-1228.
- Bahrani-Mougeot FK, Buckles EL, Lockatell CV, et al. (2002) Type 1 fimbriae and extracellular polysaccharides are preeminent uropathogenic *Escherichia coli* virulence determinants in the murine urinary tract. *Mol Microbiol.* 45: 1079-1093.
- Berg HC. (2003) The rotary motor of bacterial flagella. *Annu Rev Biochem.* 72: 19-54.
- Berg HC, Anderson RA. (1973) Bacteria swim by rotating their flagellar filaments. *Nature* 245: 380-82a
- Berglund J, Knight SD. (2003) Structural basis for bacterial adhesion in the urinary tract. *Glycobiol Med.* 535: 33-52.
- Bouckaert J, Berglund J, Schembri M, et al. (2005) Receptor binding studies disclose a novel class of high-affinity inhibitors of the *Escherichia coli* FimH adhesin. *Mol Microbiol.* 55: 441-455.
- Braga L, Leite A, Xavier K, et al. (2005) Synergic interaction between pomegranate extract and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Can J Microbiol.* 51: 541-547.
- Brinton CC. (1959) Non-flagellar appendages of bacteria. *Nature.* 183: 782-786.
- Buchanan K, Falkow S, Hull RA, Hull SI. (1985) Frequency among Enterobacteriaceae of the DNA-sequences encoding type-1 pili. *J Bacteriol.* 162: 799-803.
- Buts L, Bouckaert J, De Genst E, et al. (2003) The fimbrial adhesin F17-G of enterotoxigenic *Escherichia coli* has an immunoglobulin-like lectin domain that binds N-acetylglucosamine. *Mol Microbiol.* 49: 705-715.
- Chilcott GS, Hughes KT. (2000) Coupling of flagellar gene expression to flagellar assembly in *Salmonella enterica*, serovar Typhimurium and *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64: 694-708.
- Choudhury D, Thompson A, Stojanoff V, et al. (1999) X-ray structure of the FimC-FimH chaperone-adhesin complex from uropathogenic *Escherichia coli*. *Science.* 285: 1061-1066.
- Christiaens TC, De Meyere M, Verschaegen G, et al. (2002) Randomised controlled trial of nitrofurantoin versus placebo in the treatment of uncomplicated urinary tract infection in adult women. *Br J Gen Pract.* 52: 729-734.
- Dell'Agli M, Galli GV, Corbett Y, et al. (2009) Antiplasmodial activity of *Punica granatum* L. fruit rind. *J Ethnopharmacol* 125: 279-285.
- Dey D, Debnath S, Hazra S, et al. (2012) Pomegranate pericarp extract enhances the antibacterial activity of ciprofloxacin against extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and metallo- β -lactamase (MBL) producing Gram-negative bacilli. *Food Chem Toxicol.* 50: 4302-4309.
- Dodson KW, Pinkner JS, Rose T, et al. (2001) Structural basis of the interaction of the pylonephritic *Escherichia coli* adhesin to its human kidney receptor. *Cell.* 105: 733-743.
- Duman A, Ozgen M, Davisyolu K, et al. (2009) Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules.* 14: 1808-1817.
- Ferry SA, Holm SE, Stenlund H, et al. (2007) Clinical and bacteriological outcome of different doses and duration of pivmecillinam compared with placebo therapy of uncomplicated lower urinary tract infection in women: the LUTIW project. *Scand J Prim Health Care.* 25: 49-57.
- Firon N, Ashkenazi S, Mirelman D, et al. (1987) Aromatic α -glycosides of mannose are powerful inhibitors of the adherence of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to yeast and intestinal cells. *Infect Immun.* 55: 472-476.
- Firon N, Ofek I, Sharon N. (1982) Interaction of mannose-containing oligosaccharides with the fimbrial lectin of *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun.* 105: 1426-1432.
- Firon N, Ofek I, Sharon N. (1983) Carbohydrate specificity of the surface lectins of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella typhimurium*. *Carbohydr Res.* 120: 235-249.
- Firon N, Ofek I, Sharon N. (1984) Carbohydrate-binding sites of the mannose-specific fimbrial lectins of *Enterobacteria*. *Infect Immun.* 43: 1088-1090.
- Firon N, Ashkenazi S, Mirelman, et al. (1987) Aromatic α -glycosides of mannose are powerful inhibitors of the adherence of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to yeast and intestinal epithelial cells. *Infect Immun.* 55: 472-76.
- Foxman B, Frencher RR. (1985) Epidemiology of urinary tract infection: I. Diaphragm use and sexual intercourse. *Am J Public Health.* 75: 1308-1313.
- Fukuya S, Mizoguchi H, Tobe T, Mori H. (2004) Extensive genomic diversity in pathogenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains revealed by comparative genomic hybridization microarray. *J Bacteriol.* 186: 3911-3921.
- Gould S, Fielder M, Kelly A, Naughton D. (2009) Anti-microbial activities of pomegranate rind extracts: enhancement by cupric sulphate against clinical isolates of *S. aureus*, MRSA and PVL positive CA-MSSA. *BMC Complement Altern Med.* 9: 23.
- Glazer I, Masaphy S, Marciano P, et al. (2012) Partial identification of antifungal compounds from *Punica granatum* peel extracts. *J Agric Food Chem.* 60: 4841-4848.
- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, et al.; Infectious Diseases Society of America; European Society for Microbiology and Infectious Diseases. (2011) International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis.* 52: e103-e120.
- Hooton TM, Stamm WE. (1997) Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am.* 11: 551-581.
- Hooper DC. (2001). Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg. Infect Dis.* 7: 337-341.
- Hooton TM. (2012) Clinical practice. Uncomplicated urinary tract infection. *N Engl J Med.* 366: 1028-1037.
- Hultgren SJ, Porter TN, Schaeffer AJ, Duncan, JL. (1985) Role of type 1 pili and effects of phase variation on lower urinary tract infections produced by *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 50: 370-377.
- Hung CS, Bouckaert J, Hung D, et al. (2002) Structural basis of tropism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection. *Mol Microbiol.* 44: 903-915.
- Jurenska J. (2008) Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. *Altern Med Rev.* 13: 128-144.
- Justice SS, Hung CS, Theriot JA, et al. (2004) Differentiation and developmental pathways of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101: 1333-1338.
- Kallenius G, Mollby R, Svenson SB, et al. (1980) The Pk antigen as receptor for the haemagglutinin of pyelonephritogenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett.* 8: 297-302.
- Keams DB. (2010) A field guide to bacterial swarming motility. *Nat Rev Microbiol.* 8: 634-644.
- Knight SD, Berglund J, Choudhury D. (2000) Bacterial adhesins: structural studies reveal chaperone function and pilus biogenesis. *Curr Opin Chem Biol.* 4: 653-660.
- King SS, Young DA, Nequin LG, Carnevale EM. (2000) Use of specific sugars to inhibit bacterial adherence to equine endometrium in vitro. *Am J Vet Res.* 61: 446-449.
- Kranjčec B, Papeš D, Altarac S. (2014) D-mannose powder for prophylaxis of recurrent urinary tract infections in women: a randomized clinical trial. *World J Urol.* 32: 79-84.
- Lane MC, Alteri CJ, Smith SN, Mobley HLT. (2007b) Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. *P Natl Acad Sci USA.* 104: 16669-16674.
- Lane MC, Lockatell V, Monterosso G, et al. (2005) Role of motility in the colonization of uropathogenic *Escherichia coli* in the urinary tract. *Infect Immun.* 73: 7644-7656.
- Lane MC, Simms AN, Mobley HLT. (2007a) Complex interplay between type 1 fimbrial expression and flagellum-mediated motility of uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 189: 5523-5533.
- Langemann S, Ballou WR. (2003) Development of a recombinant FimCH vaccine for urinary tract infections. *Adv Exp Med Biol.* 539: 635-653.
- Langemann S, Möllby R, Burlein JE, et al. (2000) Vaccination with FimH adhesin protects cynomolgus monkeys from colonization and infection by uropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis.* 181: 774-778.
- Langemann S, Palaszynski S, Barnhart M, et al. (1997) Prevention of mucosal *Escherichia coli* infection by FimH-adhesin-based systemic vaccination. *Science.* 276: 607-611.
- Leffler H, Svanborg-Eden C. (1980) Chemical identification of a glycosphingolipid receptor for *Escherichia coli* attaching to human urinary tract epithelial cells and agglutinating human erythrocytes. *FEMS Microbiol Lett.* 8: 127-134.
- Lindhorst TK, Kieburg C, Krallmann-Wenzel U. (1998) Inhibition of the type 1 fimbriae-mediated adhesion of *Escherichia coli* to erythrocytes by multiantennary alpha-mannosyl clusters: the effect of multivalency. *Glycoconj J.* 15: 605-613.
- Lund B, Lindberg F, Marklund BJ, Normark S. (1987) The PapG protein is the α -D-galactopyranosyl-(1-4)- β -D-galactopyranose-binding adhesin of uropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 84: 5898-5902.
- Macnab RM. (1992) Genetics and biogenesis of bacterial flagella. *Annu Rev Genet.* 26: 131-158.
- McCarrell E, Gould S, Fielder M, et al. (2008) Antimicrobial activities of pomegranate rind extracts: enhancement by addition of metal salts and vitamin C. *BMC Complement Altern Med.* 8: 64.
- Meier S, Weeber R, Zbinden R, et al. (2011) Extended-spectrum β -lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Infection.* 39: 333-340.
- Michaels EK, Chmiel JS, Plotkin BJ, Schaeffer AJ. (1983) Effect of D-mannose and D-glucose on *Escherichia coli* bacteriuria in rats. *Urol Res.* 11: 97-102.
- Min G, Stolz M, Zhou G, et al. (2002) Localization of uroplakin Ia, the urothelial receptor for bacterial adhesin FimH, on the six inner domains of the 16 nm urothelial plaque particle. *J Mol Biol.* 317: 697-706.
- Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL, et al. (1998) Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science.* 282: 1494-1497.
- Mulvey MA. (2002) Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol.* 4: 257-271.
- Nagahori N, Lee, RT, Nishimura S, et al. (2002) Inhibition of adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to highly mannosylated ligands. *Chembiochem.* 3: 836-844.
- Neeser JR, Koellreutter B, Wuersch P. (1986) Oligomannoside-type glycopeptides inhibiting adhesion of *Escherichia coli* strains mediated by type 1 pili: preparation of potent inhibitors from plant glycoproteins. *Infect Immun.* 52: 428-436.
- Neurath AR, Strick N, Li YY, Debnath AK. (2004) *Punica granatum* (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infect Dis* 4: 41.
- Nicolle LE. (2011) Update in adult urinary tract infection. *Curr Infect Dis Rep.* 13: 552-60.
- Old DC. (1972) Inhibition of the interaction between fimbrial hemagglutinins and erythrocytes by D-mannose and other carbohydrates. *J Gen Microbiol.* 71: 149-157.
- Remaut H, Waksman G. (2004) Structural biology of bacterial pathogenesis. *Curr Opin Struct Biol.* 14: 161-170.
- Ronald AR, Nicolle LE, Stamm E, et al. (2001) Urinary tract infection in adults: research priorities and strategies. *Int J Antimicrob Agents.* 17: 343-348.
- Sauer FG, Futterer K, Pinkner JS, et al. (1999) Structural basis of chaperone function and pilus biogenesis. *Science.* 285: 1058-1061.
- Sauer FG, Knight SD, Waksman GW, Hultgren SJ. (2000) PapD-like chaperones and pilus biogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 11: 27-34.
- Schaeffer AJ, Amundsen SK, Jones JM. (1980) Effect of carbohydrates on adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. *Infect Immun.* 30: 531-537.
- Schaeffer AJ, Chmiel JS, Duncan JL, Falkowski WS. (1984) Mannose-sensitive adherence of *Escherichia coli* to epithelial cells from women with recurrent urinary tract infections. *J Urol.* 131: 906-910.
- Schembri MA, Hasman H, Klemm, P. (2000) Expression and purification of the mannose recognition domain of the FimH adhesin. *FEMS Microbiol Lett.* 188: 147-151.
- Schilling JD, Mulvey MA, Vincent CD, et al. (2001) Bacterial invasion augments epithelial cytokine responses to *Escherichia coli* through a lipopolysaccharide-dependent mechanism. *J Immunol.* 166: 1148-1155.
- Svanborg C, Godaly G. (1997) Bacterial virulence in urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am.* 11: 513-529.
- Thanassi DG, Saulino ET, Hultgren SJ. (1998) The chaperone/usher pathway: a major terminal branch of the general secretory pathway. *Curr Opin Struct Biol.* 1: 223-231.
- Thankavel K, Madison B, Ikeda T, et al. (1997) Localization of a domain in the FimH adhesin of *Escherichia coli* type 1 fimbriae capable of receptor recognition and use of a domain-specific antibody to confer protection against experimental urinary tract infection. *J Clin Invest.* 100: 1123-1126.
- Tosto A, Milanesi M, Mantella A, Rigamonti AE. (2013) Effectiveness and safety of a nutraceutical combination of Pomegranate extracts and D-mannose in the acute antimicrobial therapy and the prophylaxis of multidrug-resistant recurrent urinary tract infections. XXXVII National Congress of SIUD, Latina, Italy. Abstract.
- Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ. (2005) Uropathogenic *Escherichia coli* flagella aid in efficient urinary tract colonization. *Infect Immun.* 73: 7657-7668.
- Wu XR, Sun TT, Medina JJ. (1996) In vitro binding of type 1-fimbriated *Escherichia coli* to uroplakins Ia and Ib: relation to urinary tract infections. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93: 9630-9635.
- Xia Y, Gally D, Forsman-Semb K, Uhlin BE. (2000) Regulatory cross-talk between adhesin operons in *Escherichia coli*: inhibition of type 1 fimbriae expression by the PapB promoter. *EMBO J.* 19: 1450-1457.
- Zavialov AV, Berglund J, Pudney AF, et al. (2003) Structure and biogenesis of the capsular F1 antigen from *Yersinia pestis*: preserved folding energy drives fiber formation. *Cell.* 113: 587-596.
- Zhou G, Mo WJ, Sebbel P, et al. (2001) Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from in vitro FimH binding. *J Cell Sci.* 114: 4095-4103.