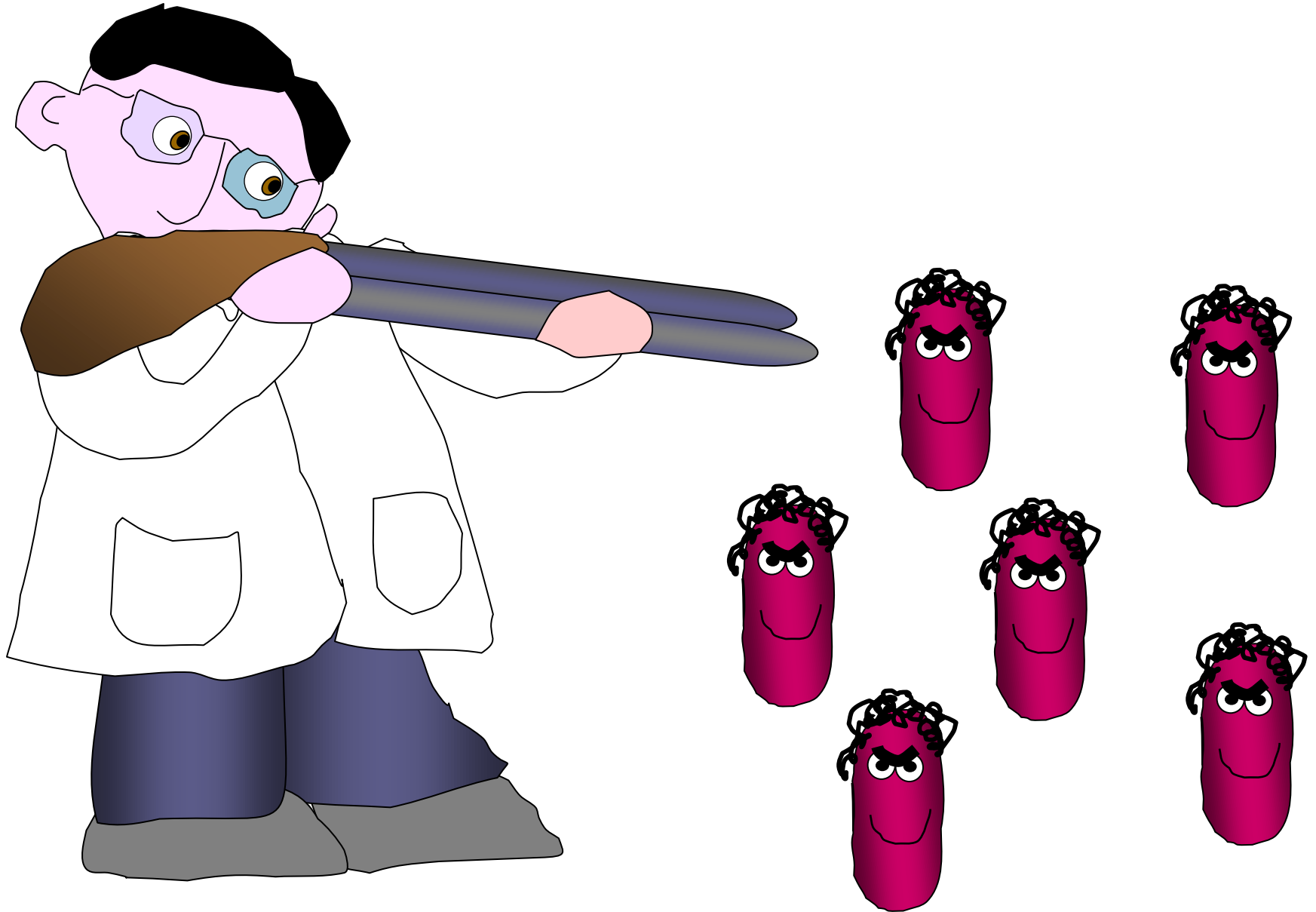
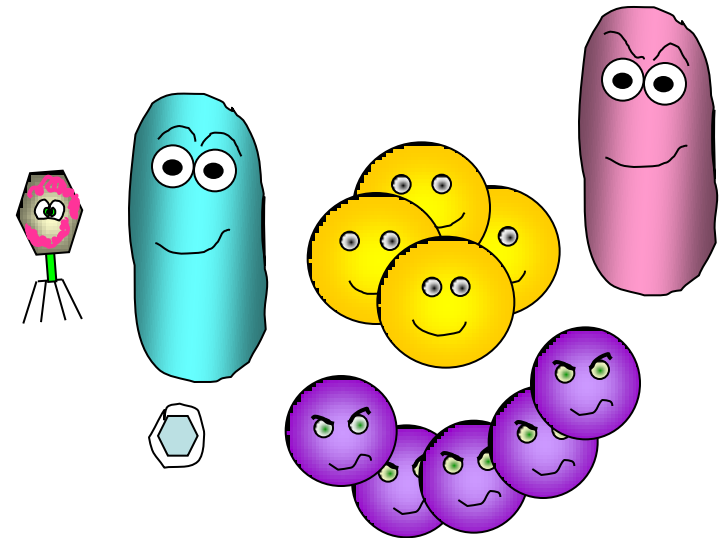
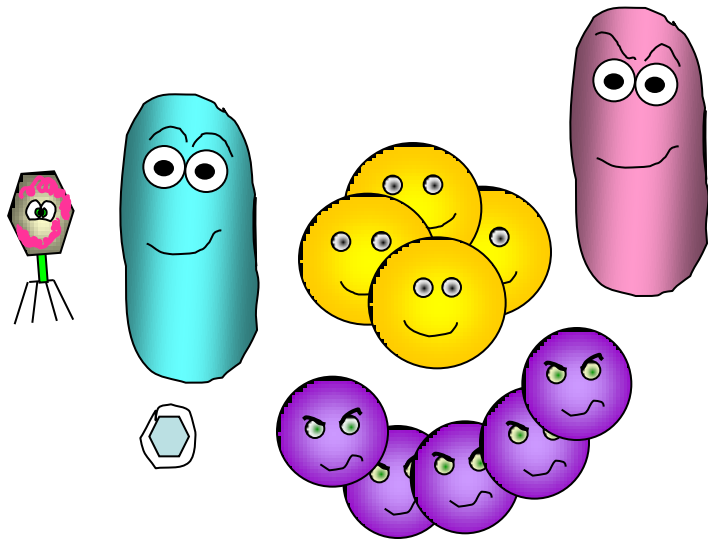


IL CONTROLLO DEI MICRORGANISMI



STERILIZZARE significa....

Eliminare TUTTI i microrganismi
(virus inclusi)



DISINFETTARE significa....

Eliminare i microrganismi patogeni
presenti nell'ambiente

Ci sono molti modi di sterilizzare

Filtrazione
(Liquidi)



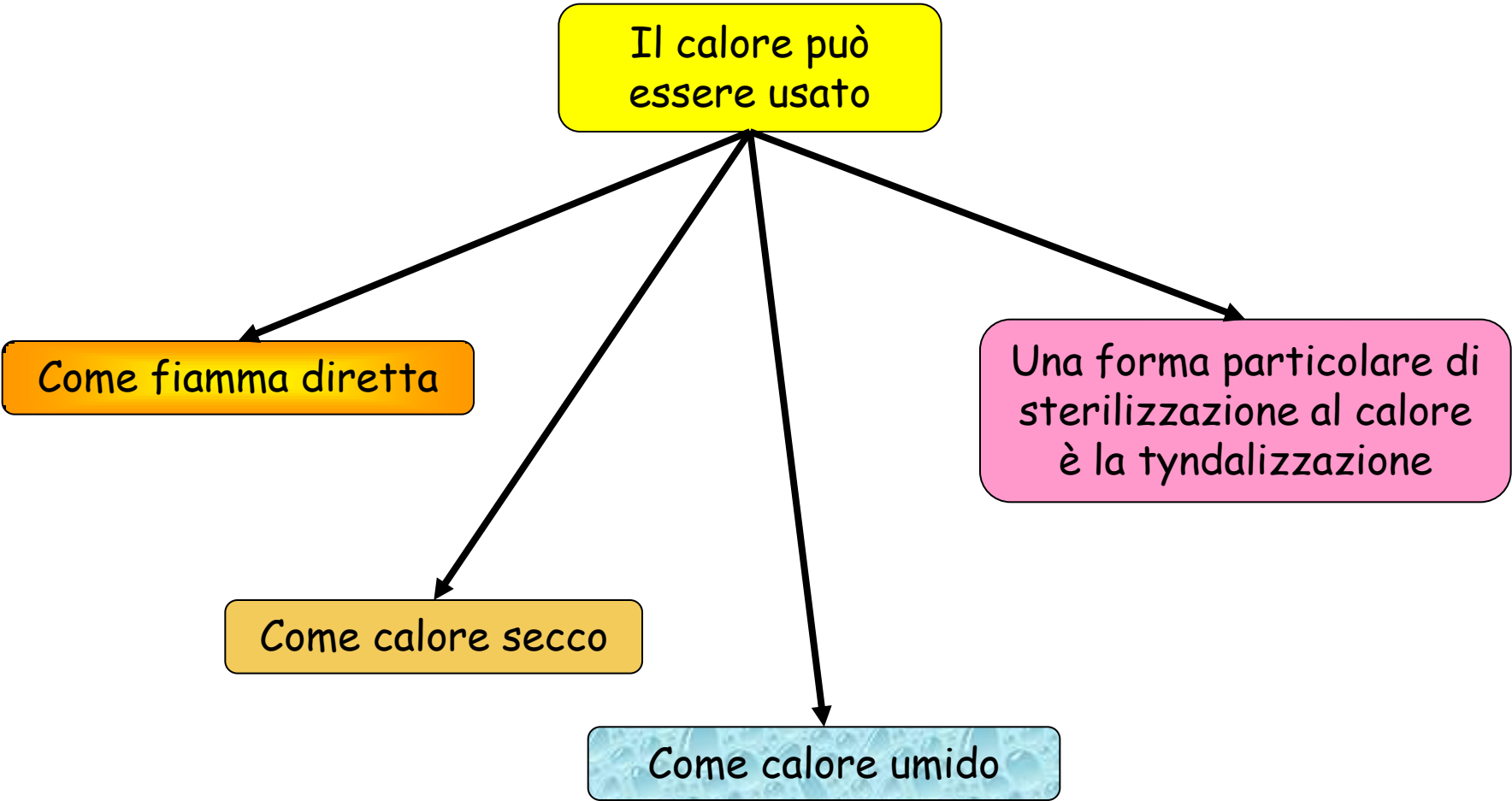
Radiazioni
gamma, ionizzanti
(Plastiche)



gas

Quelli più comunemente impiegati
usano il calore

Il calore può
essere usato



```
graph TD; A[Il calore può essere usato] --> B[Come fiamma diretta]; A --> C[Come calore secco]; A --> D[Come calore umido]; A --> E[Una forma particolare di sterilizzazione al calore è la tyndalizzazione];
```

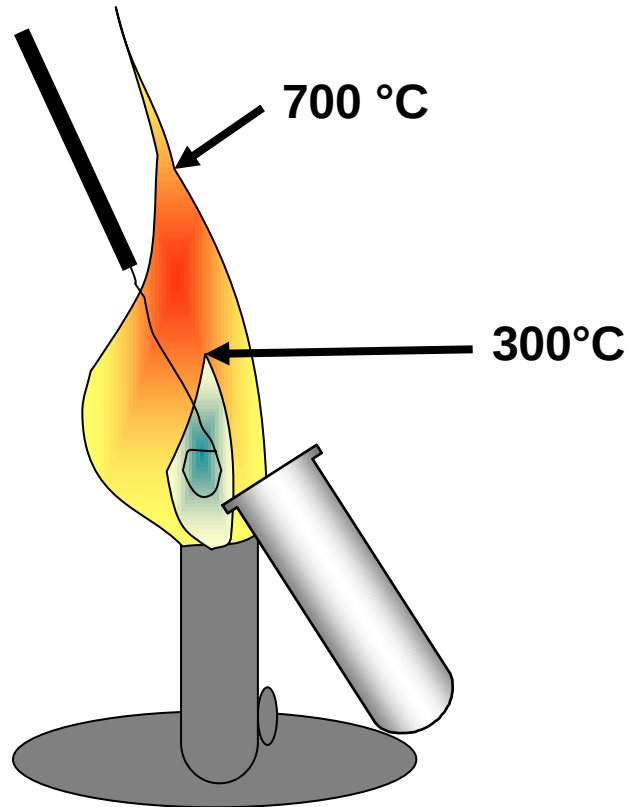
Come fiamma diretta

Come calore secco

Come calore umido

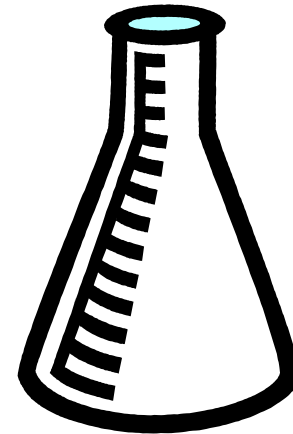
Una forma particolare di
sterilizzazione al calore
è la tyndalizzazione

fiamma diretta: l'uso del "Becco Bunsen" per sterilizzare la vetreria e le anse strumentazione



L'ansa va sempre posta prima
nel cono freddo

Calore secco
FORNO PASTEUR (160°C-3h)



Il calore uccide facilmente i microrganismi

le forme vegetative più resistenti possono sopportare una temperatura di 65°C per circa 1h

la possibile presenza di spore però richiede

temperature
superiori ai 100°C

+

tempi di trattamento
sicuramente efficaci

Questo effetto si può ottenere aumentando la pressione

Calore umido sotto pressione:
AUTOCLAVE



1,1 Kg/cm²
+ 1 atm
121°C
15'

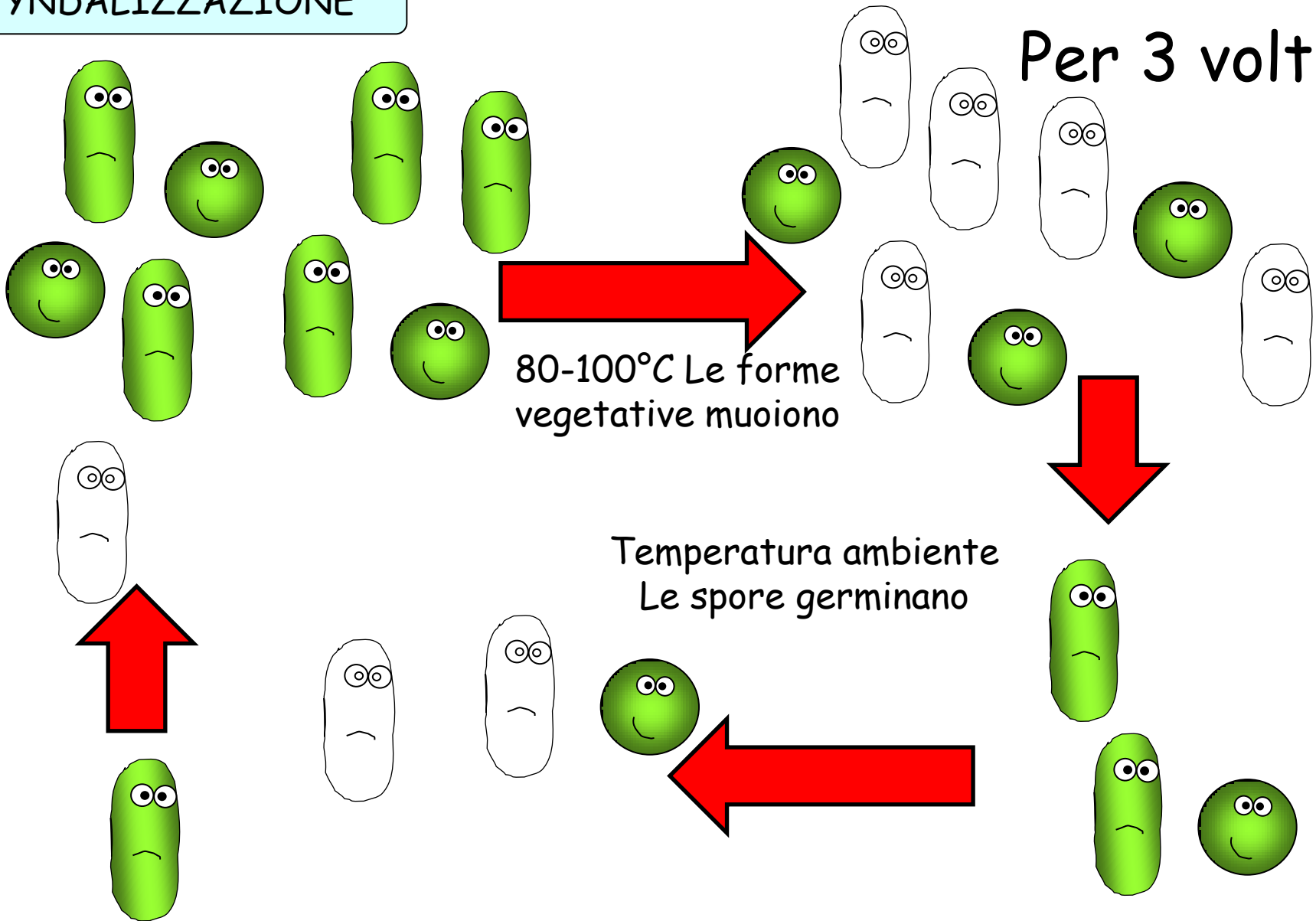
Controllo della sterilizzazione



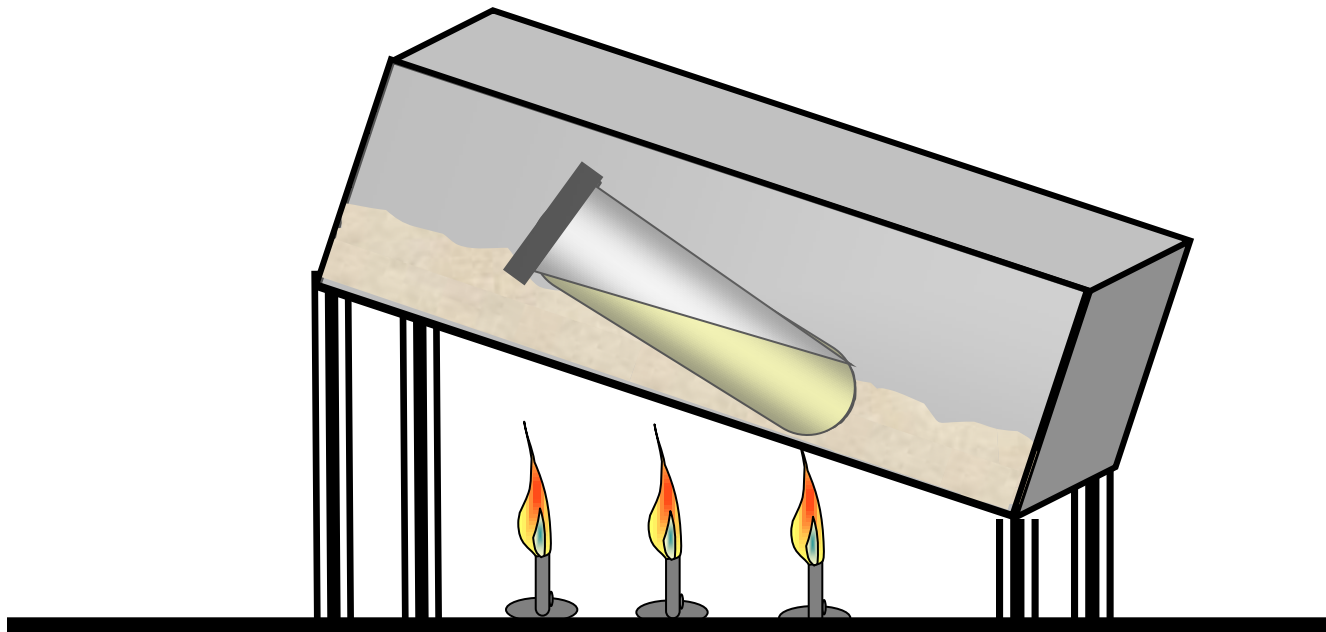
Sospensione di spore di
Bacillus stearothermophilus

TYNDALIZZAZIONE

Per 3 volte..

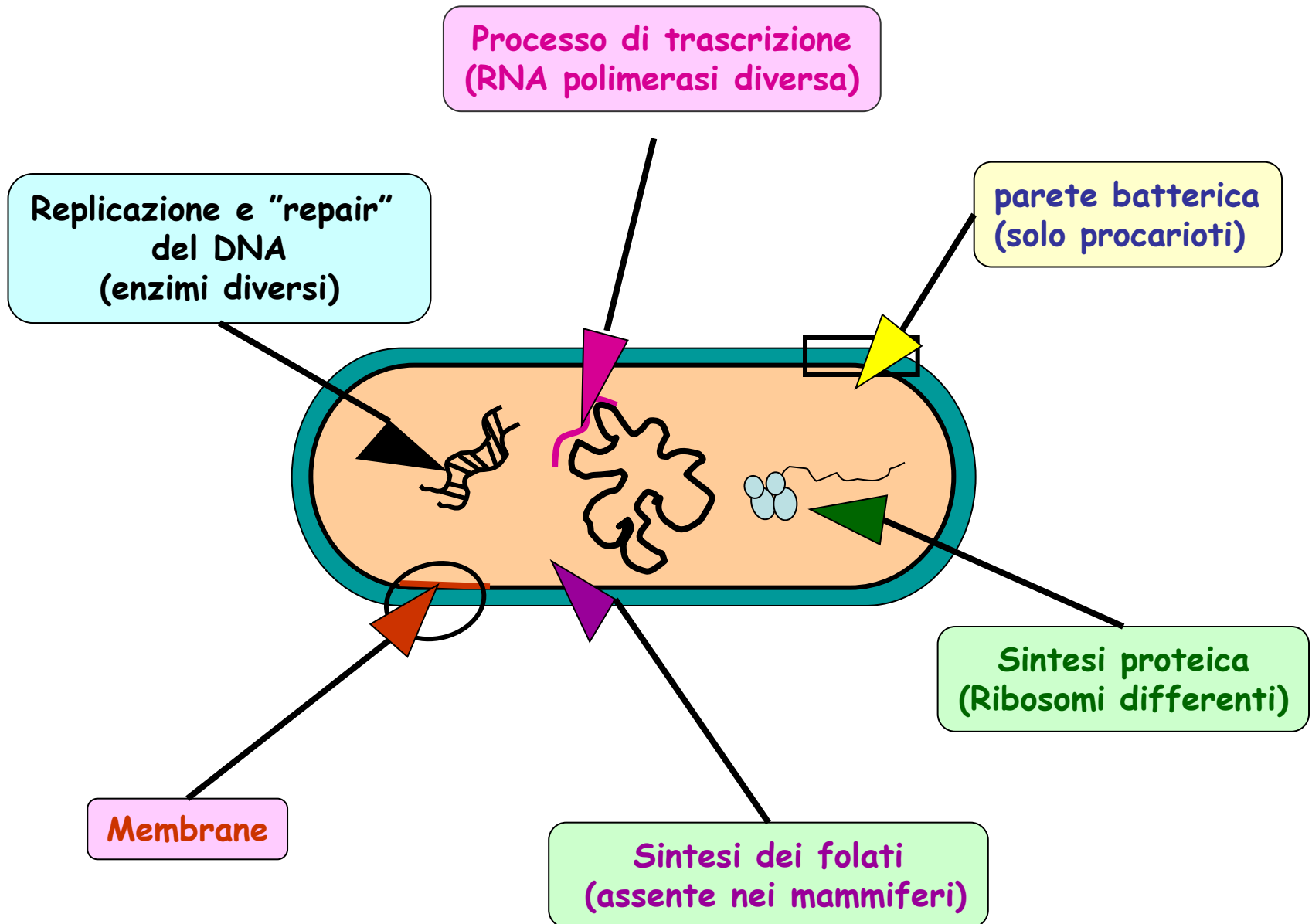


Una forma di tyndalizzazione particolare

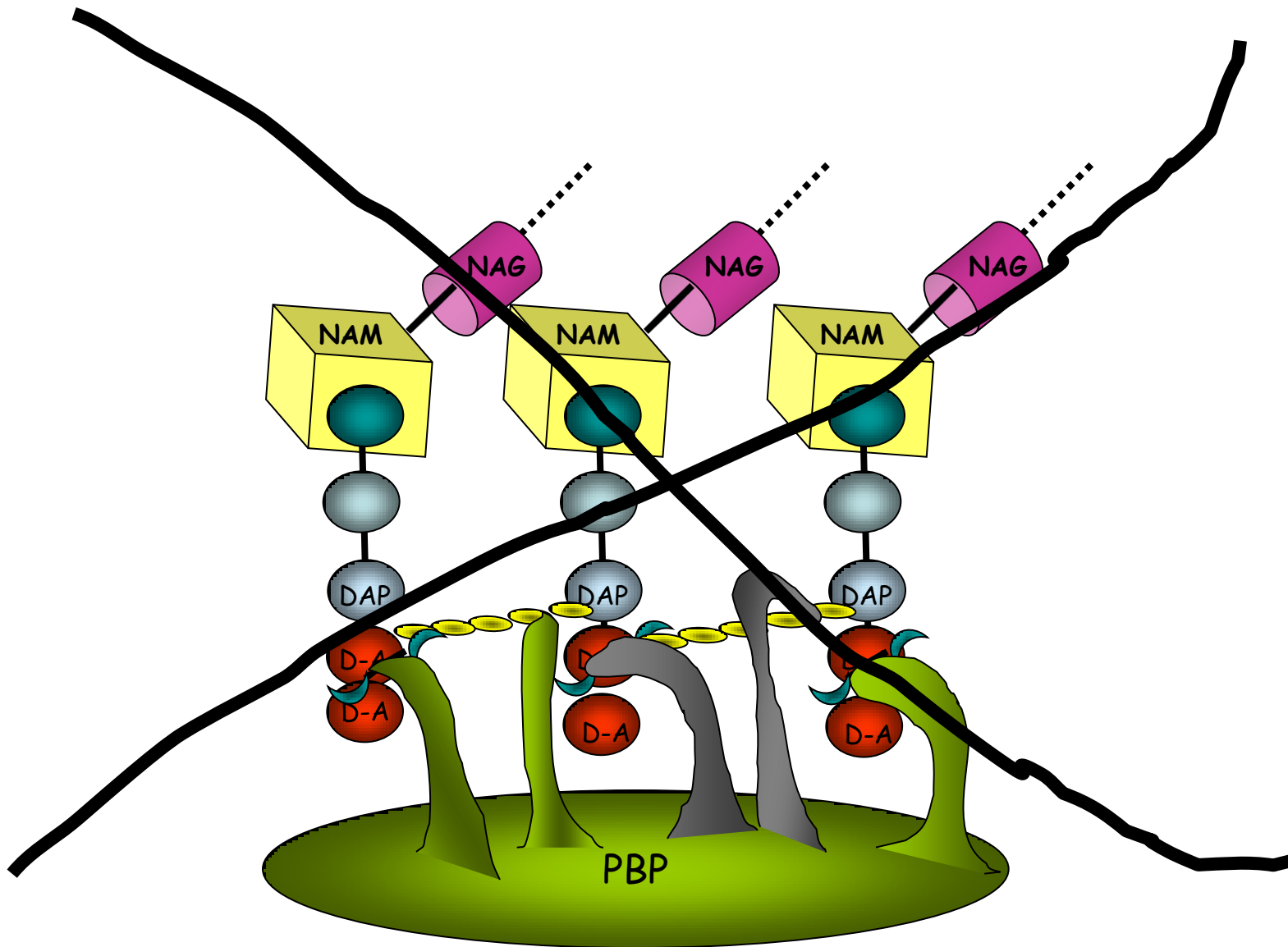


GELATINIZZATORE di KOCH: sterilità e solidificazione
Per terreni a base di siero o uova

STRUTTURE O PROCESSI CARATTERISTICI DEI PROCARIOTI, RAPPRESENTANO BUONI BERSAGLI PER GLI ANTIBIOTICI

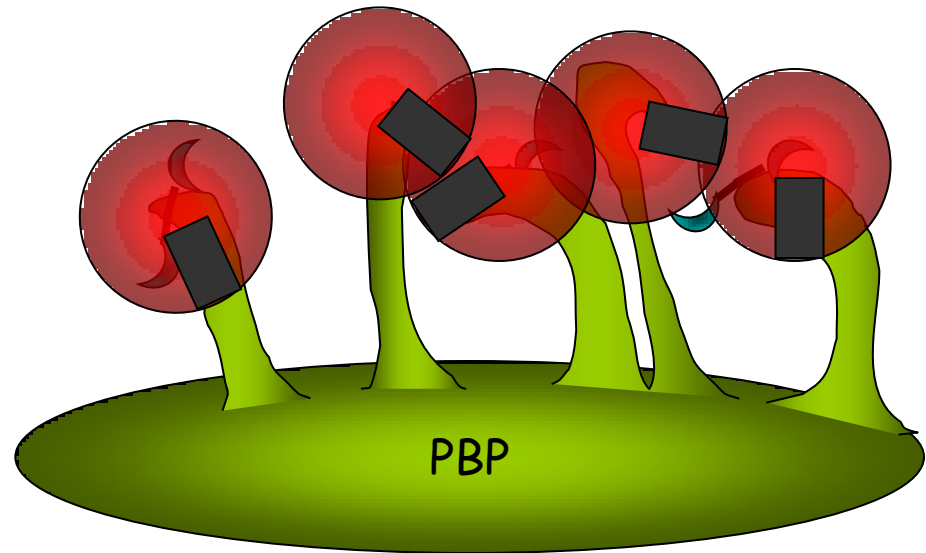
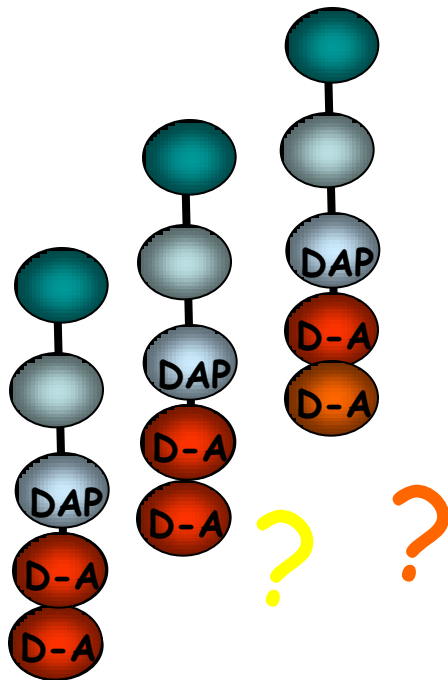


The diagram illustrates the structure of a peptidoglycan layer. A thick black line represents the peptidoglycan backbone. Yellow cubes labeled 'NAM' (N-acetylmuramic acid) are attached to the backbone. Purple cylinders labeled 'NAG' (N-acetylglucosamine) are also attached. Below the backbone, a lipid bilayer is shown with green and grey phospholipids. A grey enzyme, labeled 'PBP' (penicillin-binding protein), is embedded in the lipid bilayer. The enzyme is shown interacting with the peptidoglycan layer, specifically with the NAM and NAG units. The enzyme is also shown interacting with the lipid bilayer, specifically with the green and grey phospholipids. The diagram shows the enzyme's role in the synthesis and cross-linking of the peptidoglycan layer.



ANTIBIOTICI BETA-LATTAMICI: IL BERSAGLIO E' L'ENZIMA

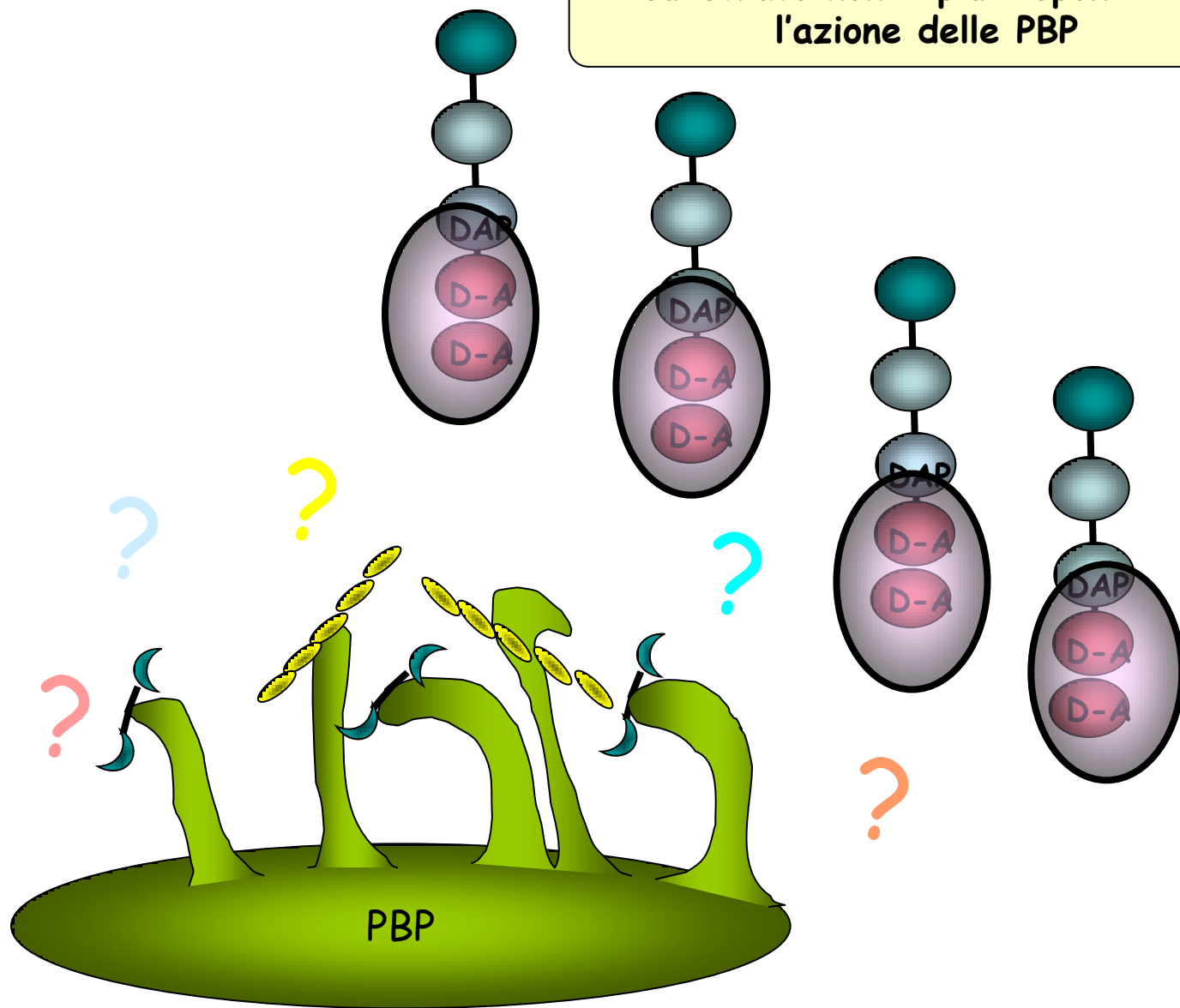
Agiscono come pseudosubstrato per le PBP a cui si legano covalentemente acilandone il sito attivo



Le PBPs si deacilano con estrema lentezza e risultano quindi inattivate

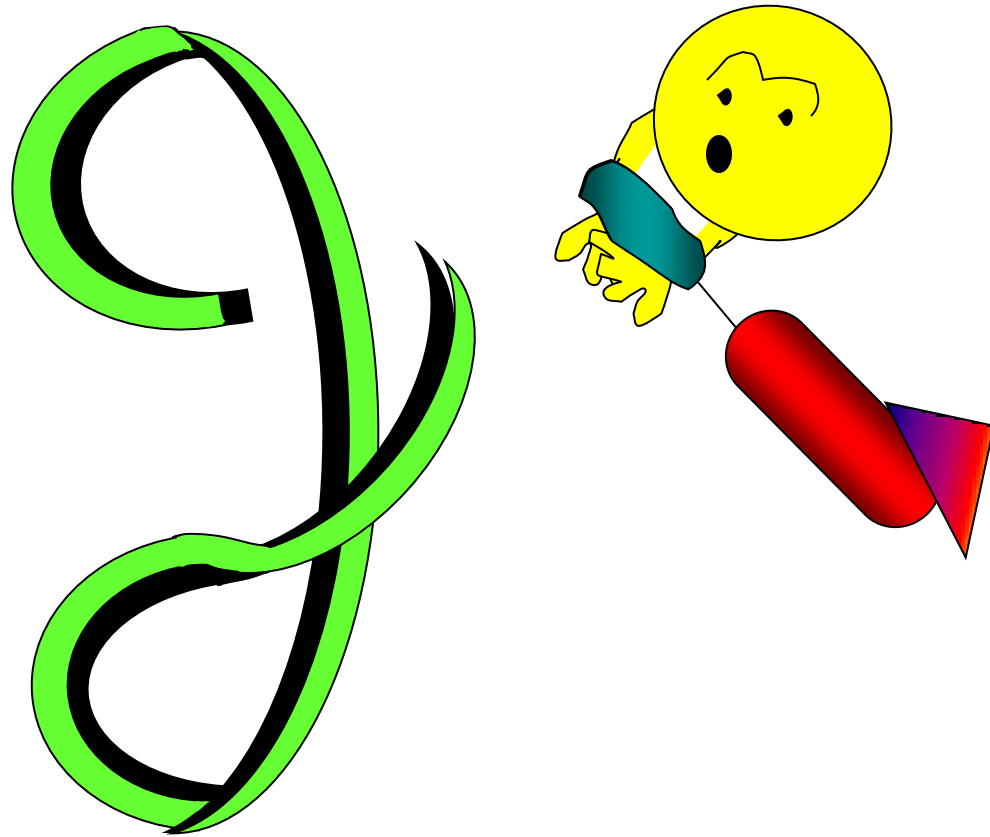
ANTIBIOTICI GLICOPEPTIDICI: IL BERSAGLIO E' IL SUBSTRATO

Il substrato non è più disponibile per
l'azione delle PBP



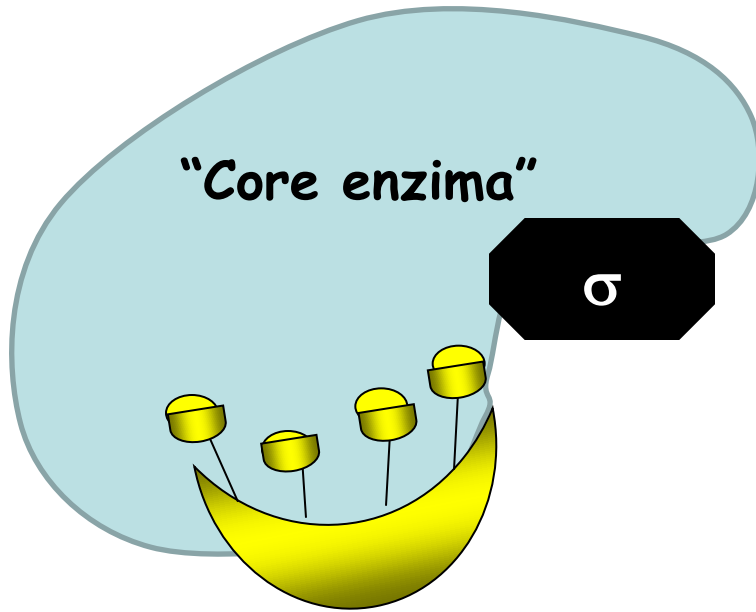
I CHINOLONI BLOCCANO LA DUPLICAZIONE DEL CROMOSOMA BATTERICO:

Si legano alla topoisomerasi-II



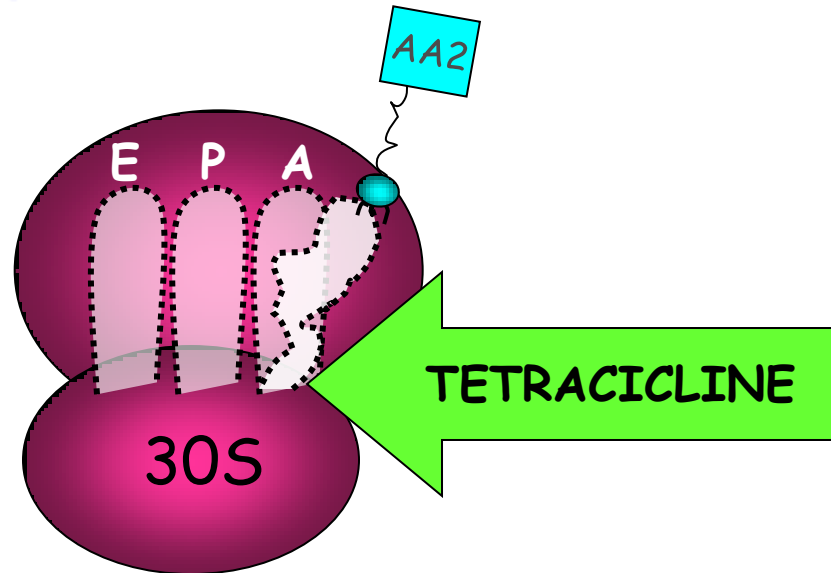
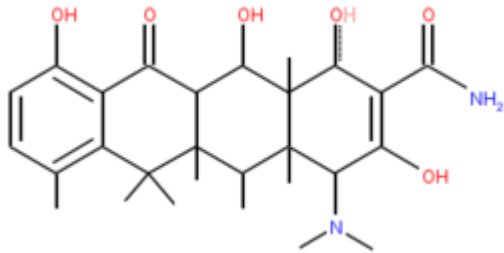
E impediscono che il DNA venga rilegato

Le RIFAMICINE si legano alla subunità beta
delle RNA-polimerasi batteriche



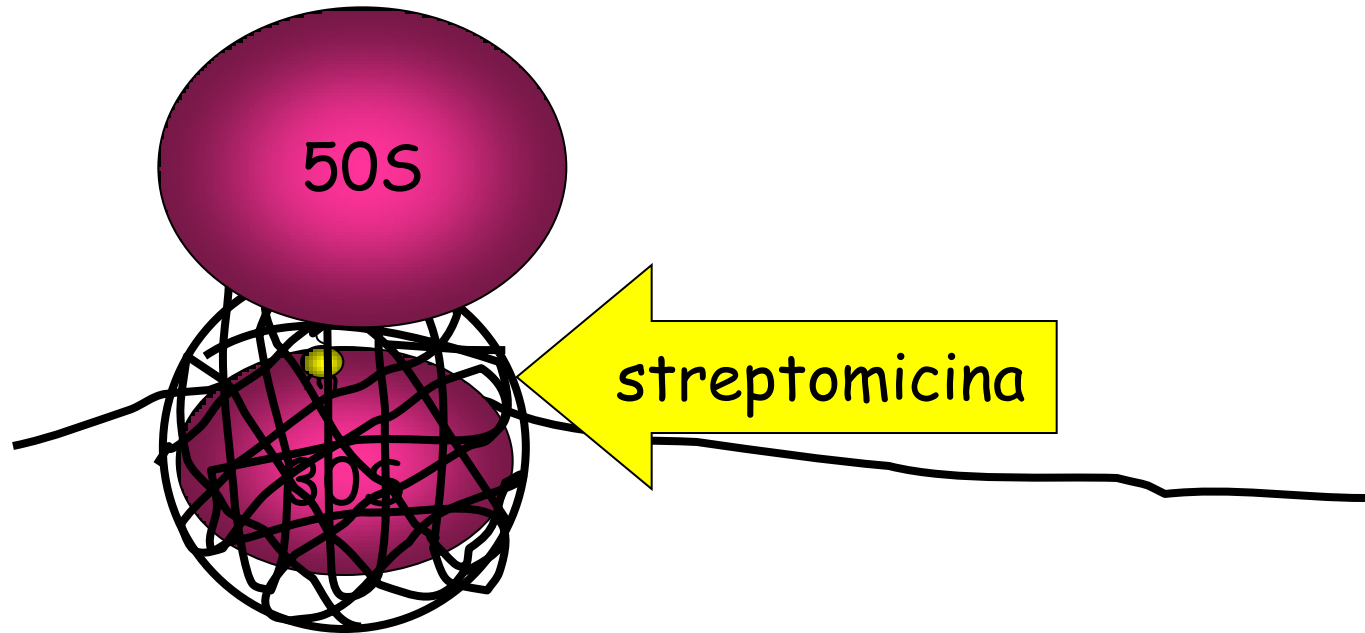
E impediscono la trascrizione genica

I RIBOSOMI (LA SINTESI PROTEICA) SONO BERSAGLIO DI MOLTI ANTIBIOTICI



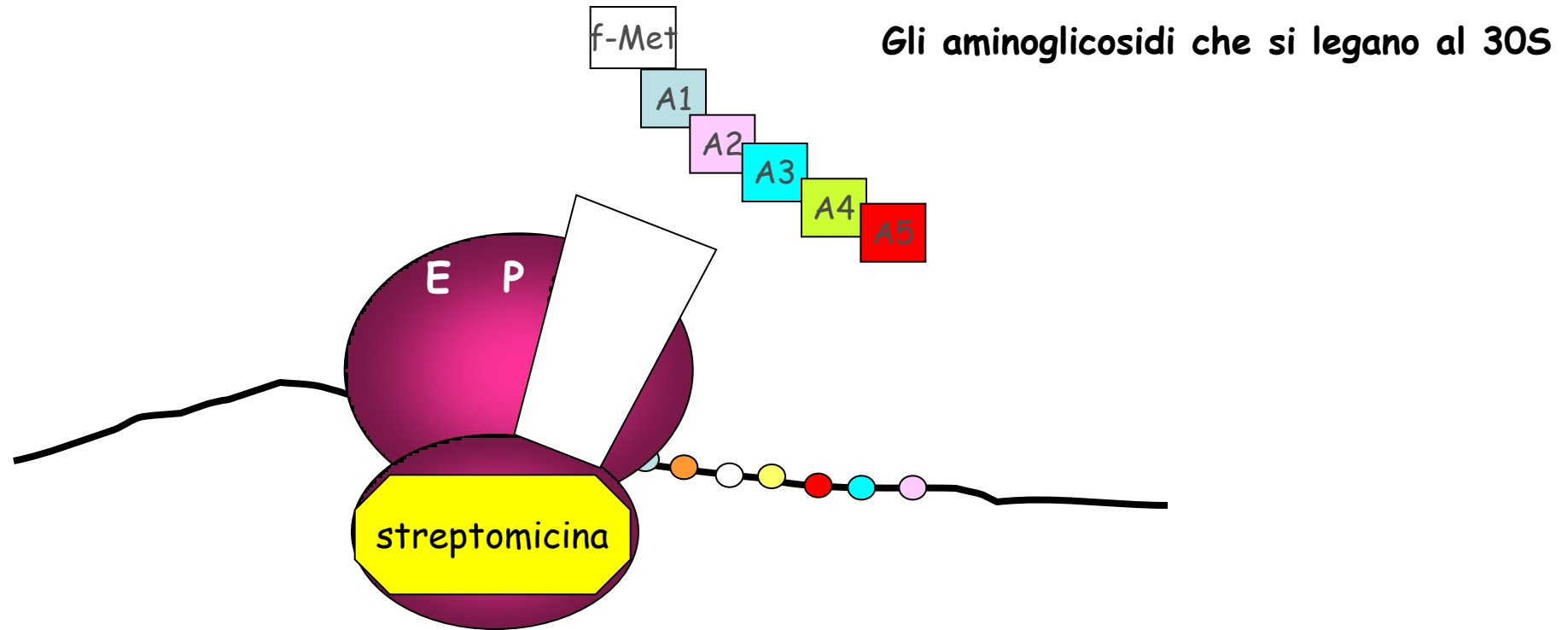
le tetracicline si legano alla subunita' 30s
deformando il sito "A" e impediscono l'alloggiamento degli AA-tRNA

GLI AMINOGLICOSIDI SI LEGANO ALLA SUBUNITA' 30S
"BLOCCANDO" IL COMPLESSO DI INIZIO



e impediscono il legame con la subunità
50S e la lettura del messaggero

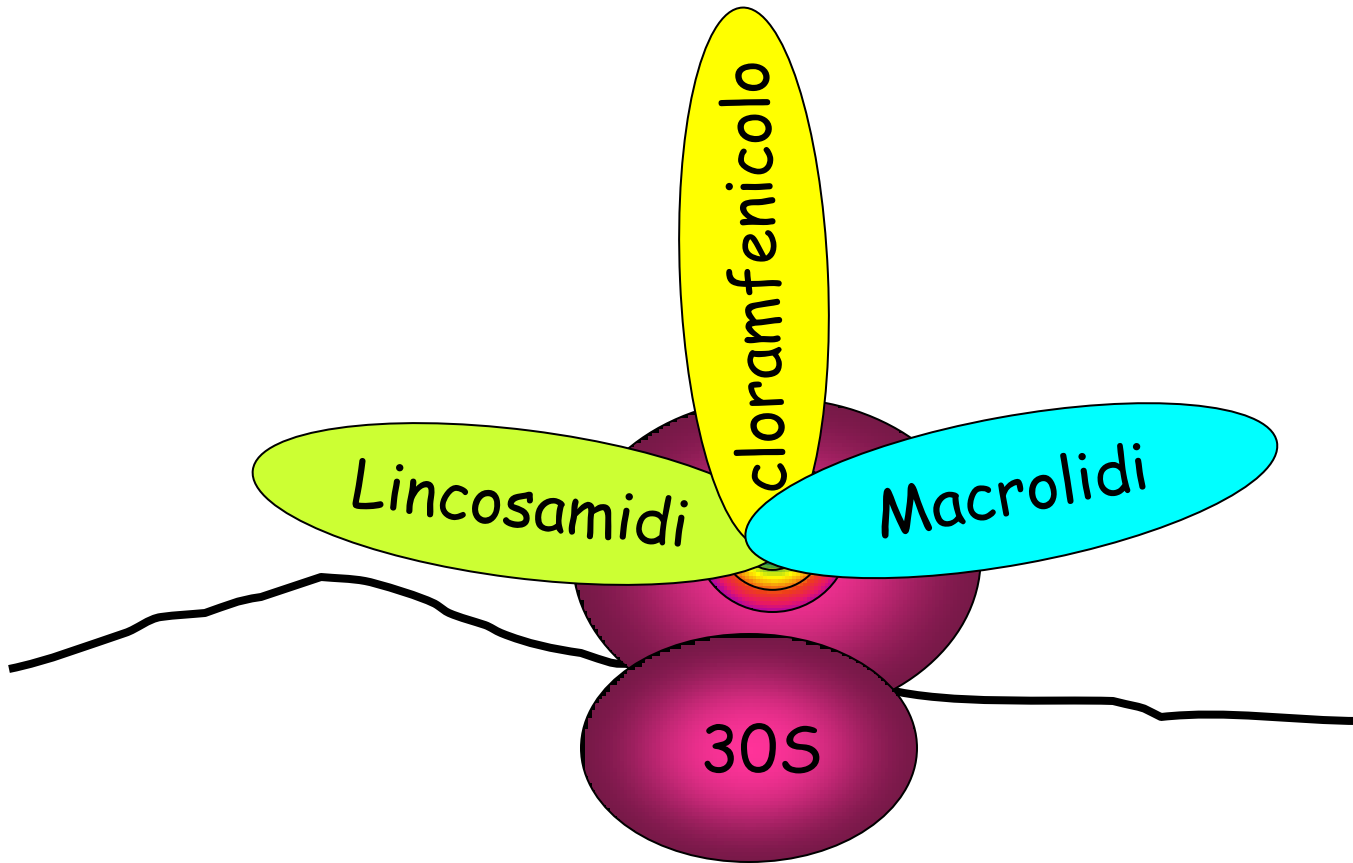
QUANDO LA SINTESI E' GIA' INIZIATA



Rendono permissivo il sito "A" che accoglie AA-tRNA non corrispondenti ai codoni del mRNA

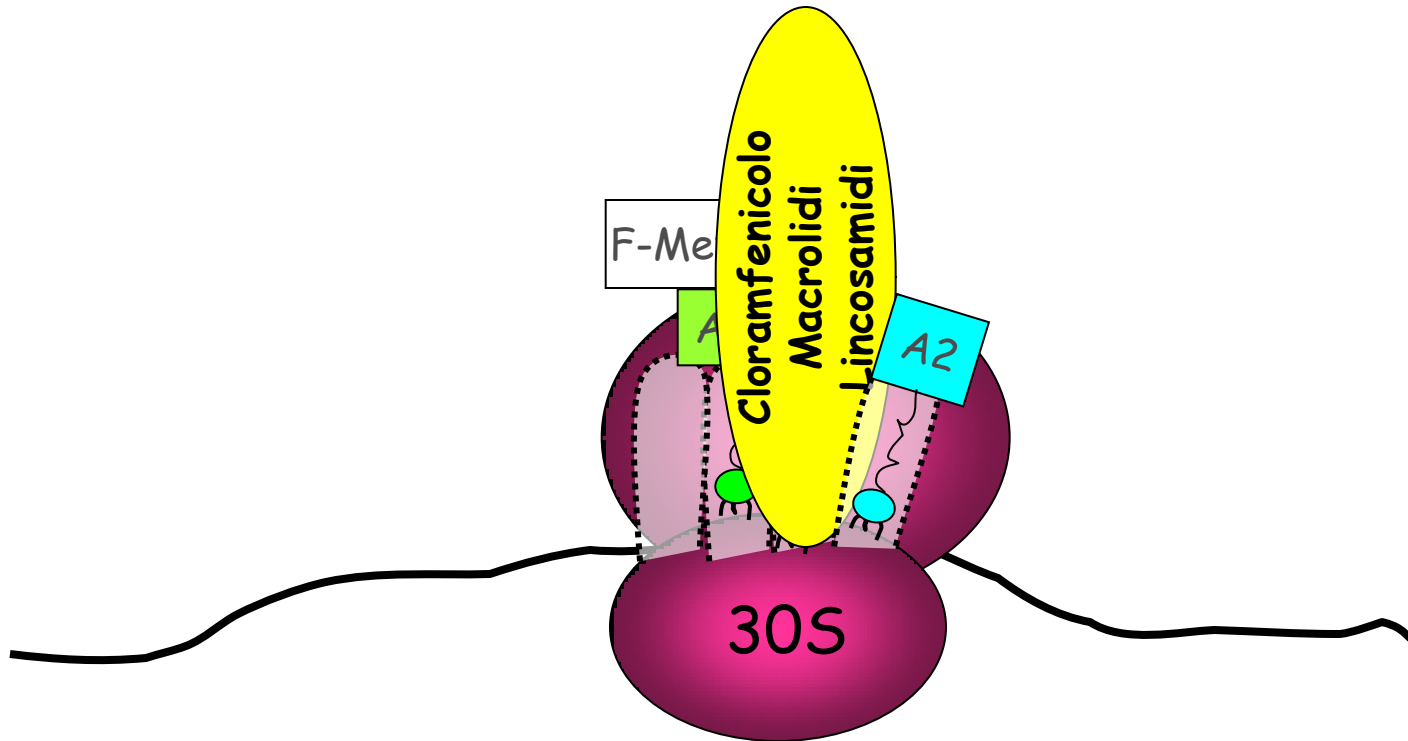
vengono quindi sintetizzate proteine con mutazioni che possono renderle non funzionali

CLORAMFENICOLO, MACROLIDI E LINCOSAMIDI



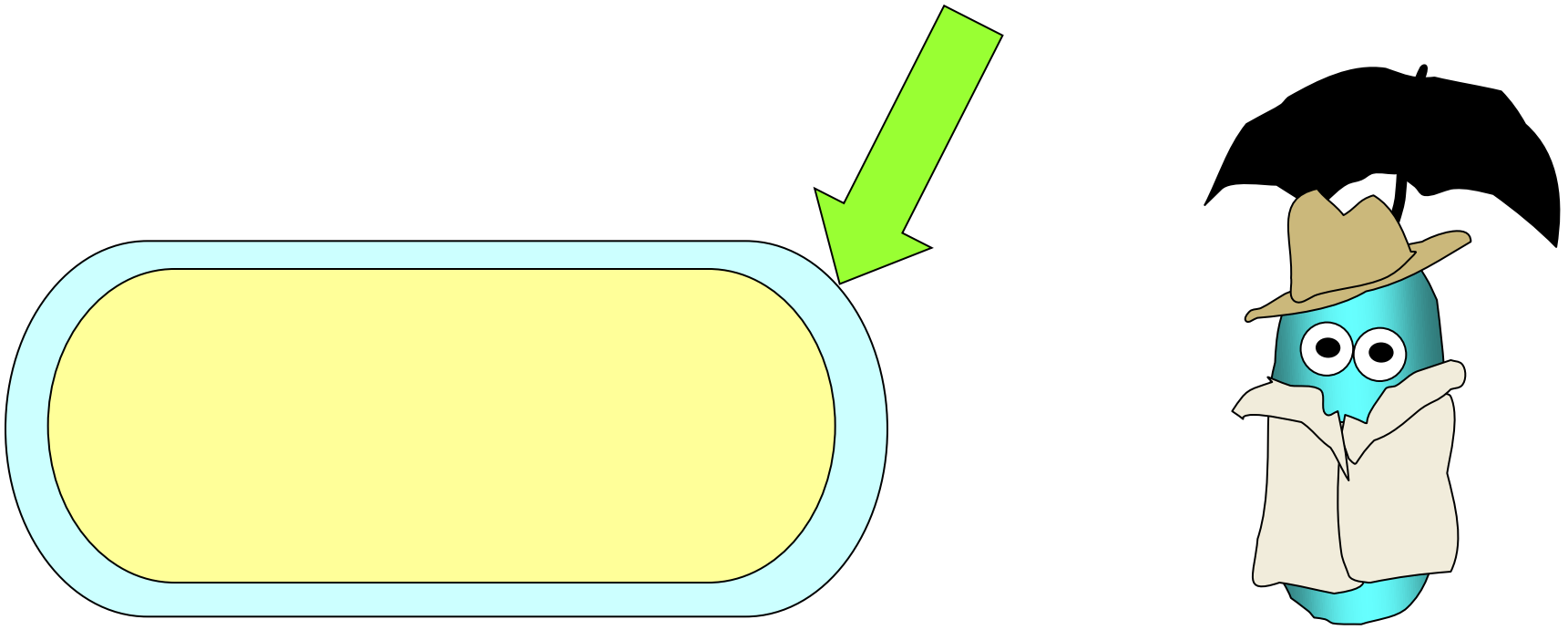
Competono per il medesimo sito di legame
sulla subunità 50S

Interferiscono con l'azione della peptidil-transferasi
bloccando l'allungamento della catena



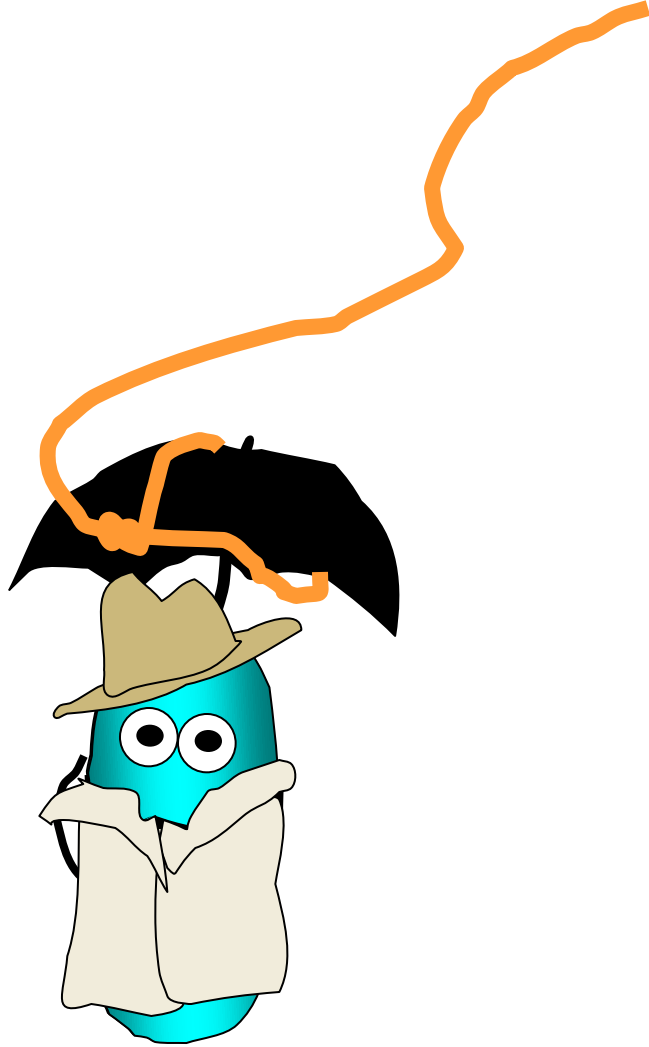
Macrolidi e lincosamidi possono anche fermare lo
scorrimento del ribosoma sul messaggero

Gli involucri esterni sono critici nei batteri



La membrana esterna, tipica dei batteri Gram-negativi, delimita la cellula batterica impedendo l'accesso a molti composti

La membrana interna è vitale per la produzione di energia e il trasporto dei nutrienti



La polimixina a basse dosi

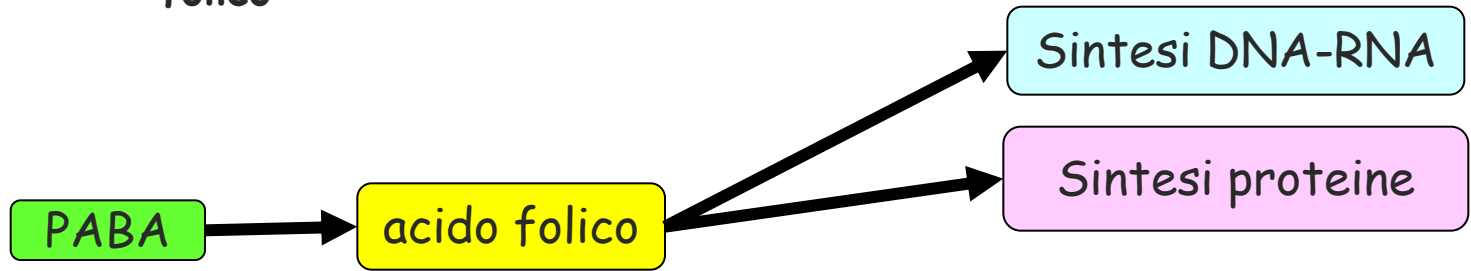
Disorganizza la membrana
esterna

sensibilizzando la cellula batterica a
componenti del siero o altri antibiotici

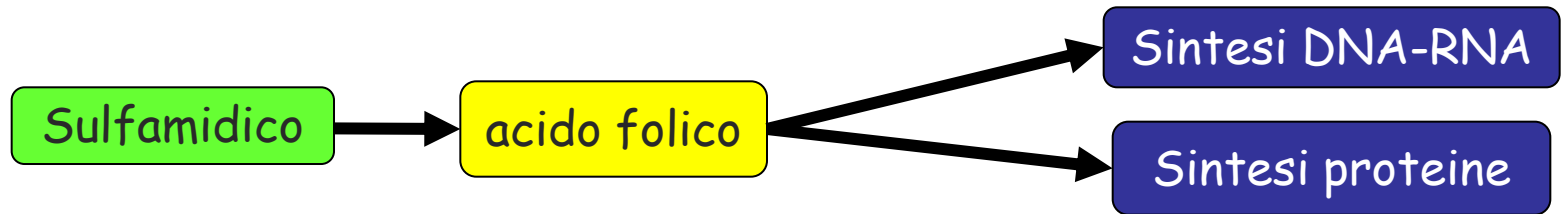
Mentre a dosi elevate

Provoca il collasso della membrana interna e
la morte della cellula batterica

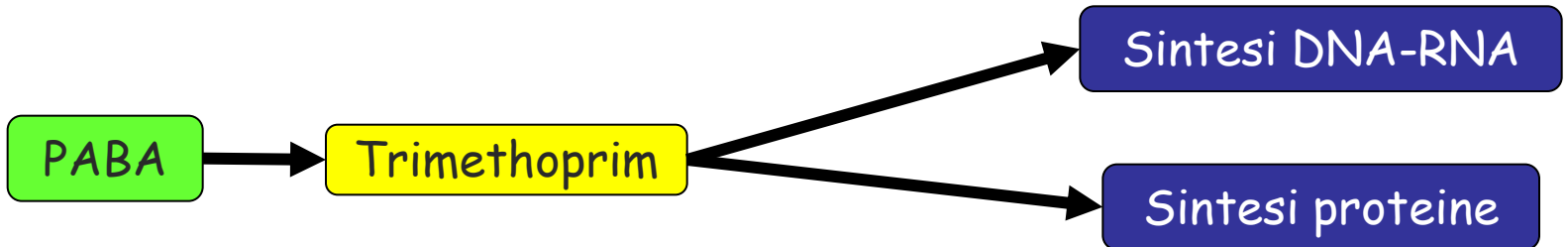
A differenza di noi, i batteri sintetizzano acido folico



I sulfamidici interferiscono con la sintesi di acido folico dal PABA



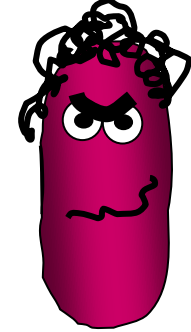
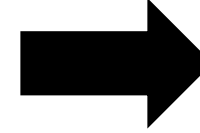
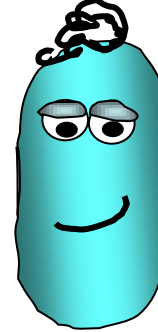
Il Trimethoprim sostituisce l'acido folico e blocca le sintesi



I BATTERI
POSSONO DIVENTARE RESISTENTI
Attraverso..

MECCANISMI BIOCHIMICI

FENOMENI BIOLOGICI



ENZIMI INATTIVANTI

Enzimi

Farmaci inattivati

▶ β -lattamasi

β -lattamici

▶ Acetil-transferasi

▶ Fosfo-transferasi

▶ Adenil-transferasi

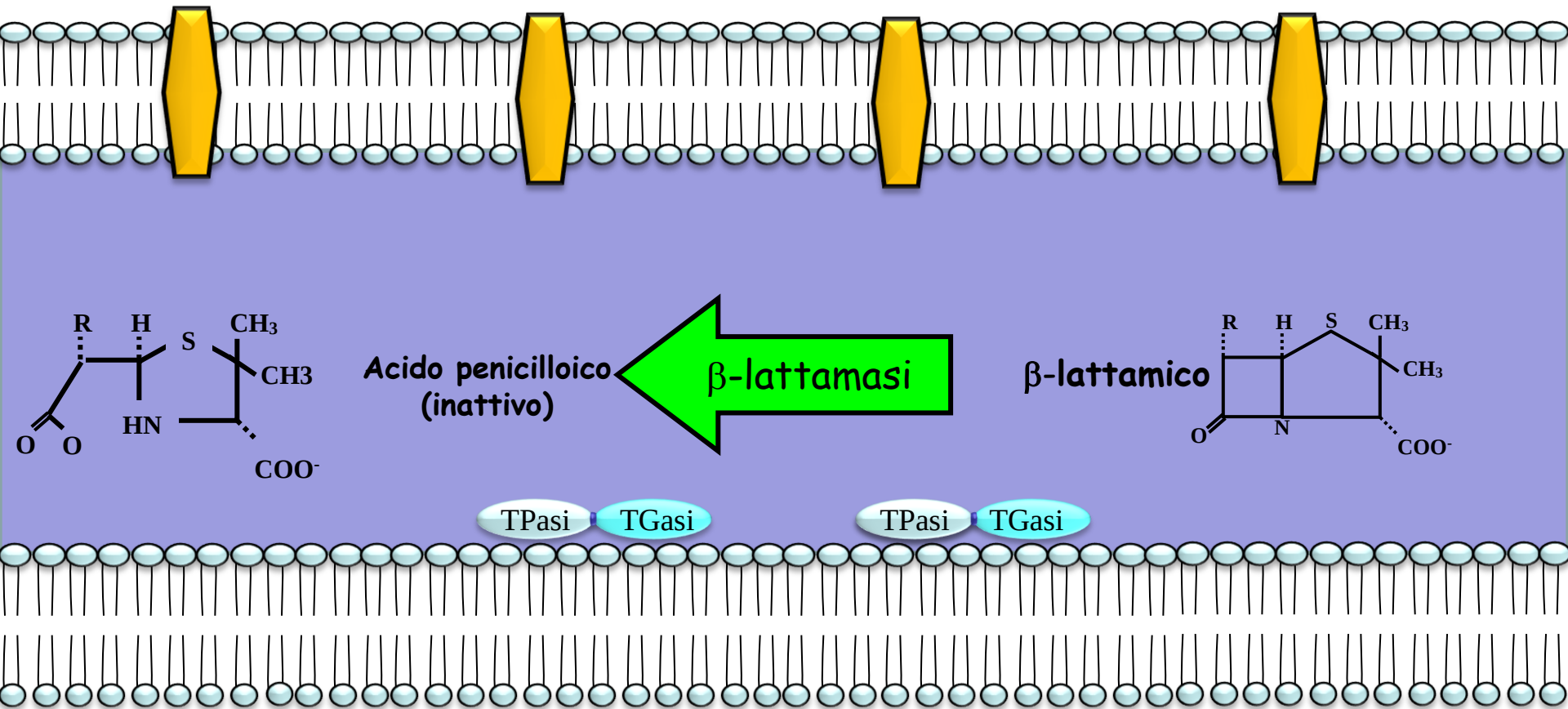
Aminoglicosidi

▶ Acetil-transferasi

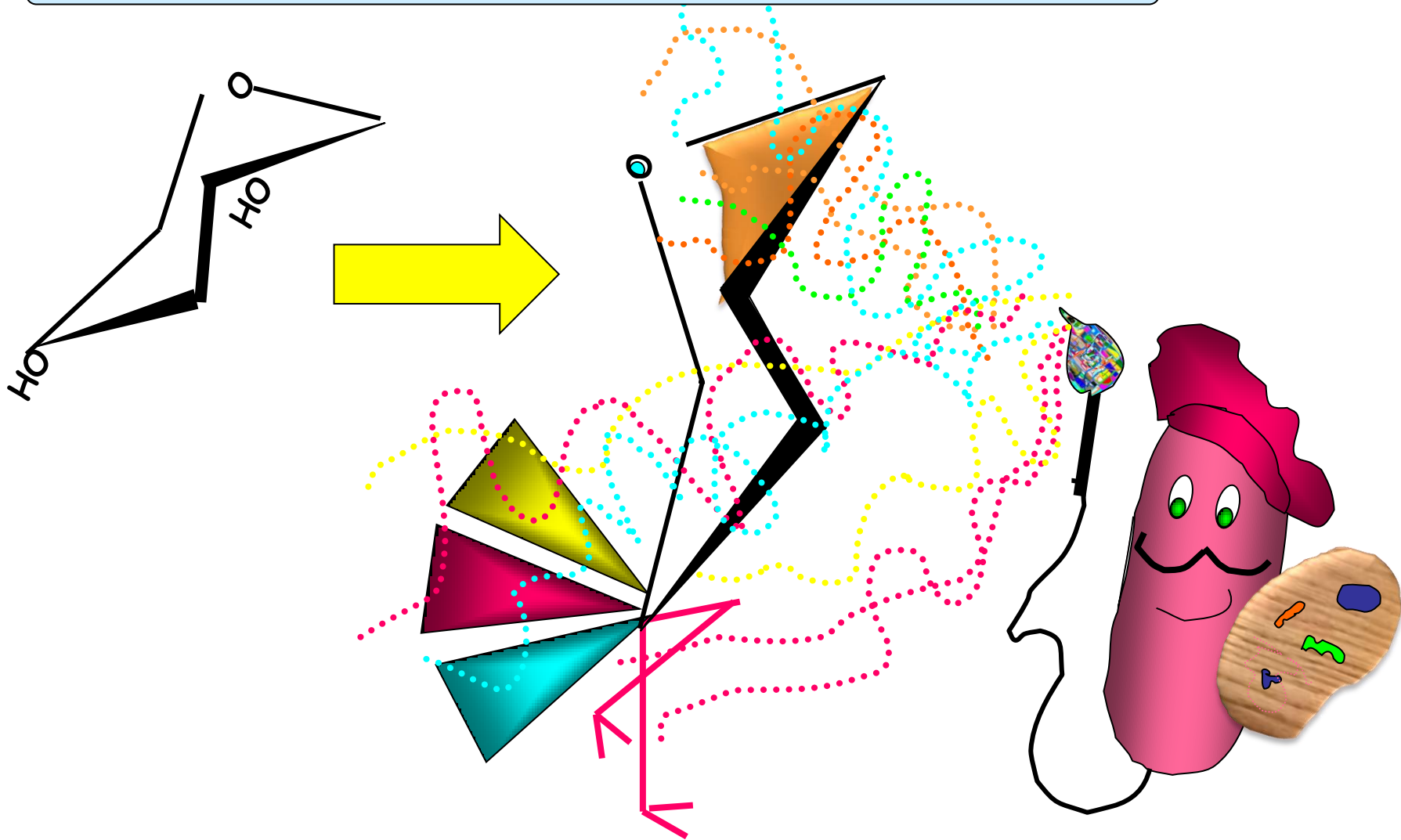
Cloramfenicolo



La β -lattamasi secreta nello spazio periplasmico, inattiva la penicillina prima che si leghi alle PBP



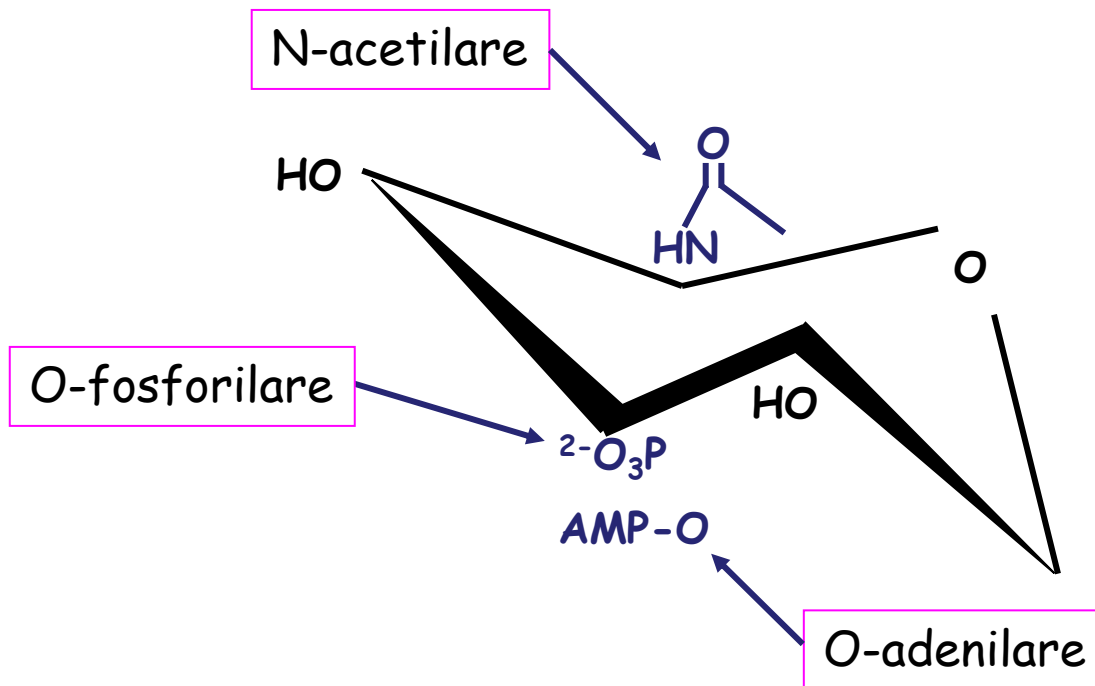
GLI ENZIMI MODIFICANTI NON DISTRUGGONO LA MOLECOLA



MA LA RENDONO INSERVIBILE

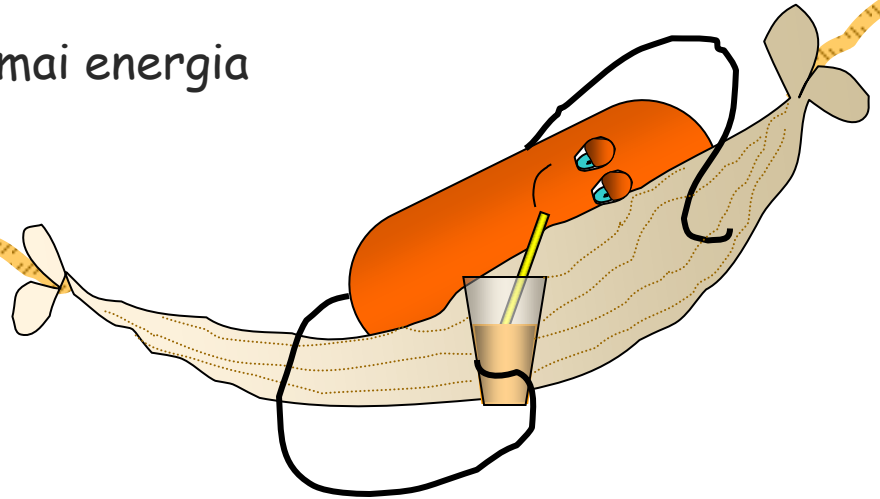
ENZIMI INATTIVANTI GLI AMINOGLICOSIDI

Enzimi batterici in grado di:



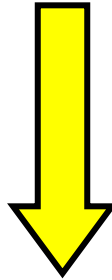
**RENDONO L'ANTIBIOTICO INCAPACE DI LEGARSI AL SUO
BERSAGLIO SUL RIBOSOMA**

i microrganismi non sprecano mai energia



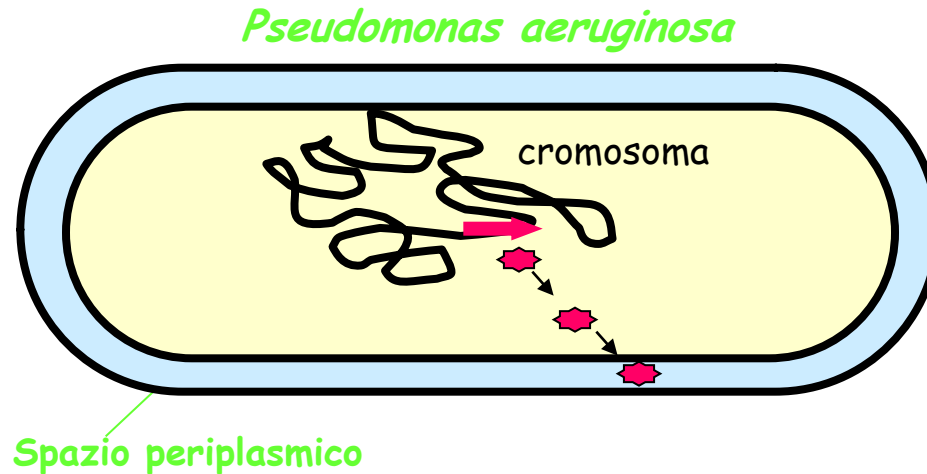
per questo motivo molti enzimi sono inducibili

prodotti solo quando la loro attivita' si rende davvero necessaria



molti degli enzimi che modificano gli antibiotici sono
codificati da geni la cui espressione è regolata

Tutti i ceppi di *P. aeruginosa* hanno nel cromosoma un gene (*ampC*) che codifica una β -lattamasi (*AmpC*)



La produzione di AmpC è inducibile

Perché la resistenza si manifesti è necessario che un antibiotico β -lattamico induca la trascrizione del gene e sia allo stesso tempo un substrato per il prodotto

In un sistema "in vitro" AmpC

Ampicillina
Cefalosporine

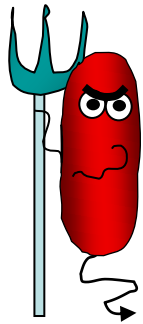
Carbenicillina
Piperacillina
Ceftazidime

DEGRADA

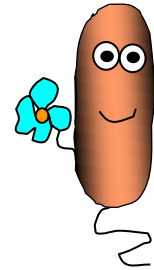
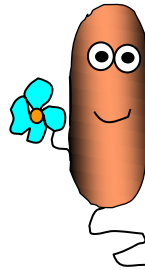
NON DEGRADA

DA QUESTI DATI, CI SI
ASPETTEREBBE SENSIBILITA'
SOLO NEI CONFRONTI DEI
CARBAPENEMI

Carbapenemi



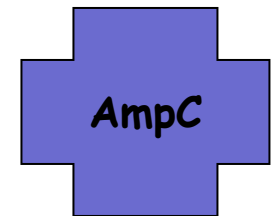
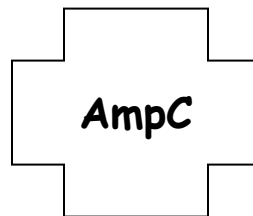
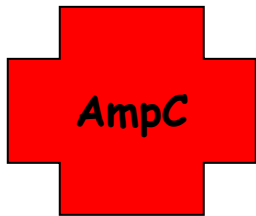
ma "in vivo"...



**Ampicillina
Cefalosporine
Inducono e sono degradate**

**Carbenicillina
Piperacillina
Ceftazidime**

Carbapenemi

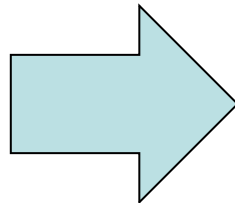
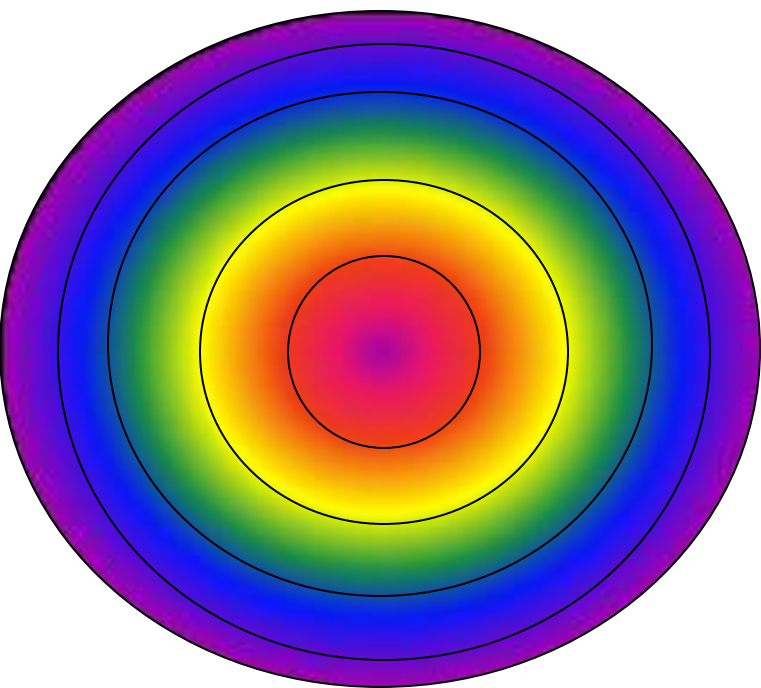
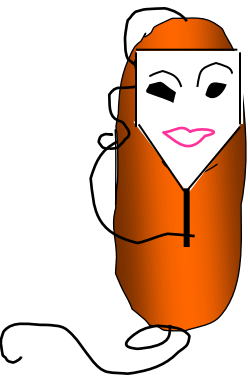


Inducono e sono degradate

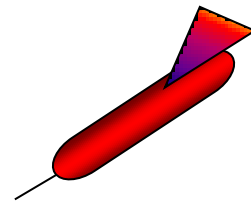
**Sarebbero degradate
ma non inducono**

**Inducono
ma non sono degradati**

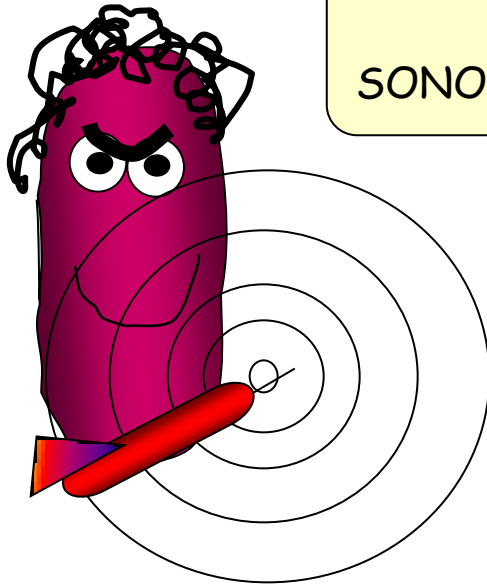
MODIFICAZIONI DEL BERSAGLIO



IL BERSAGLIO PUO' ESSERE ASSENTE

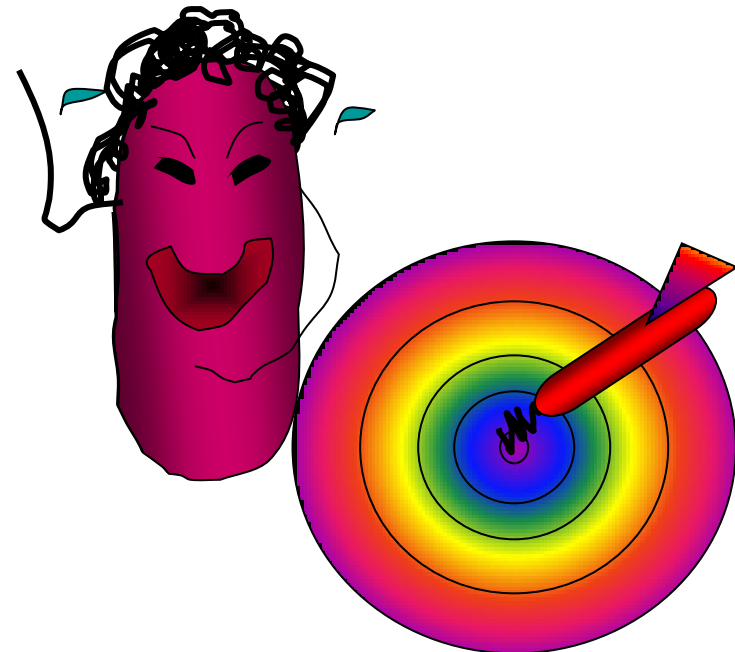
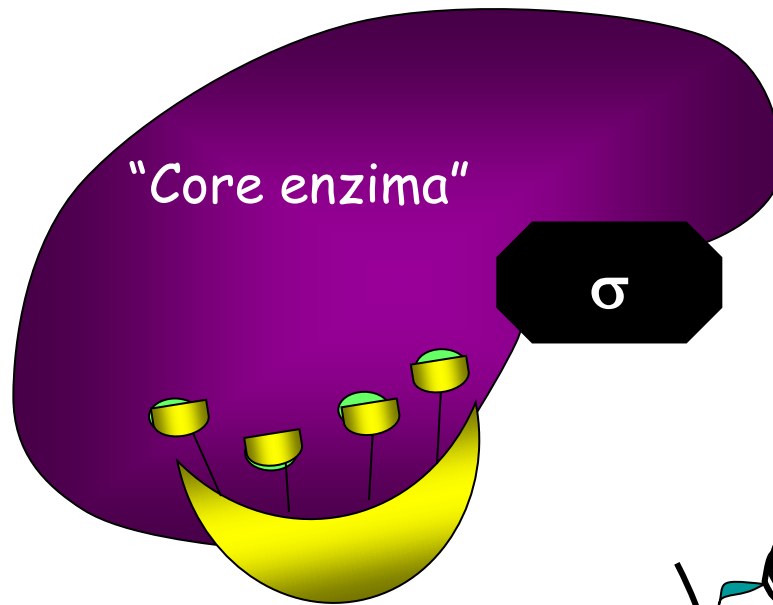


I MICOPLASMI, CHE NON HANNO PARETE,
SONO INTRINSECAMENTE RESISTENTI AI β -LATTAMICI

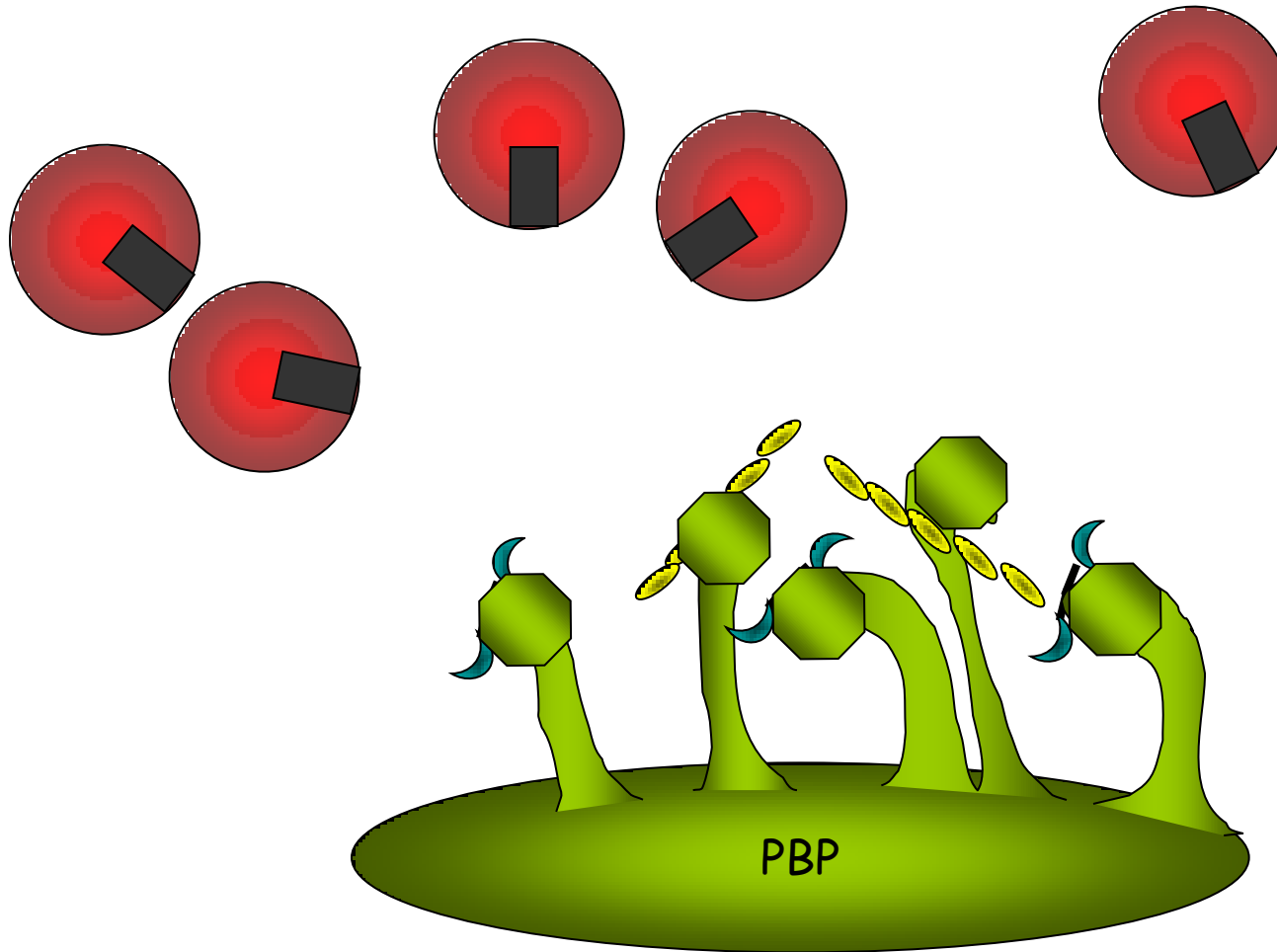


IL BERSAGLIO PUO' ESSERE NATURALMENTE INSENSIBILE

RESISTENZA INTRINSECA ALLE RIFAMICINE NEI MICOPLASMI

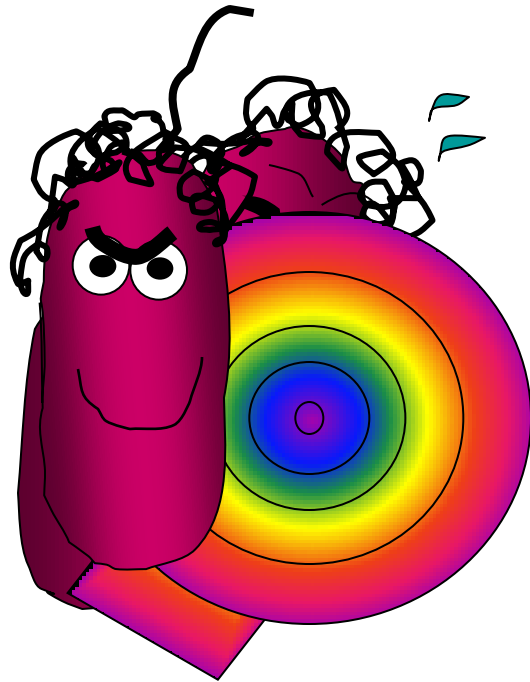
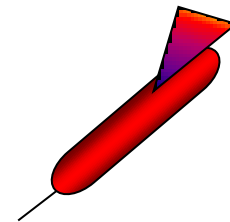


RESISTENZA INTRINSECA ALLE CEFALOSPORINE NEGLI ENTEROCOCCHI



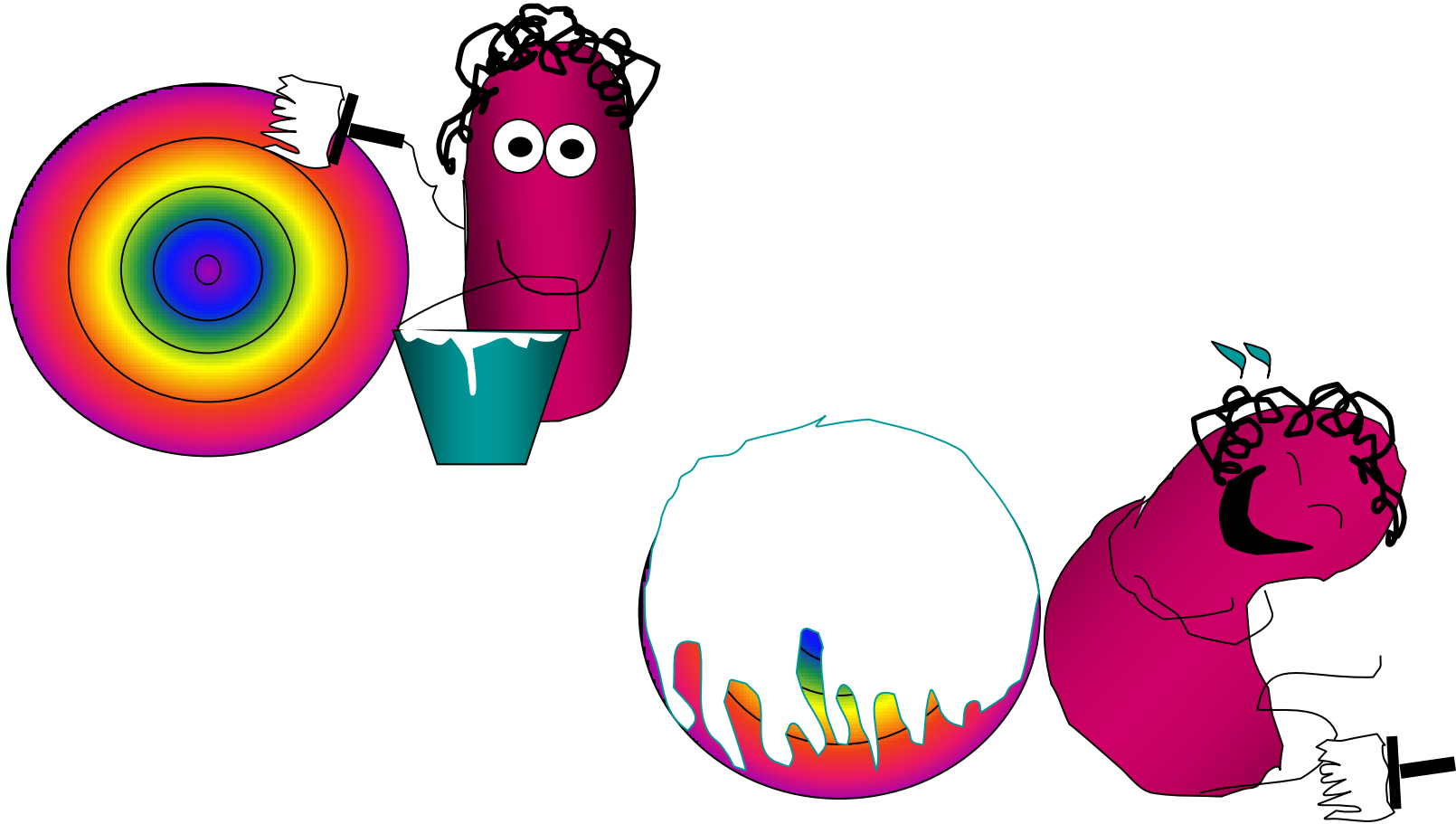
Le PBP degli enterococchi sono strutturate in modo da non essere legate dalle CEFALOSPORINE

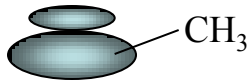
IL BERSAGLIO PUO' MODIFICARSI PER MUTAZIONE *



Gene	Bersaglio modificato	Resistenza acquisita a:
<i>gyrA</i>	DNA girasi (sub.A)	Chinoloni
<i>parC</i>	Topoisomerasi IV	Chinoloni
<i>rpoB</i>	RNA polimerasi (sub β)	Rifampicina

IL BERSAGLIO PUO' VENIRE MODIFICATO BIOCHIMICAMENTE





Alcuni microrganismi metilano il proprio rRNA , rendendolo così meno affine nei confronti di Macrolidi e Lincosamidi

Macrolidi
Lincosamidi

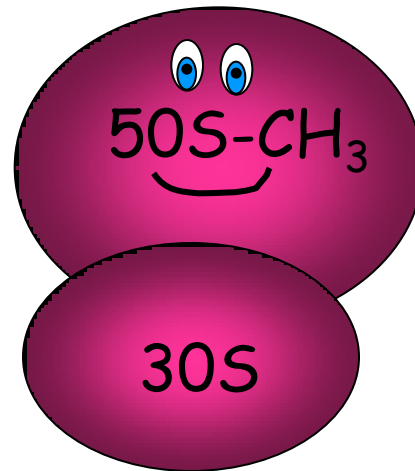
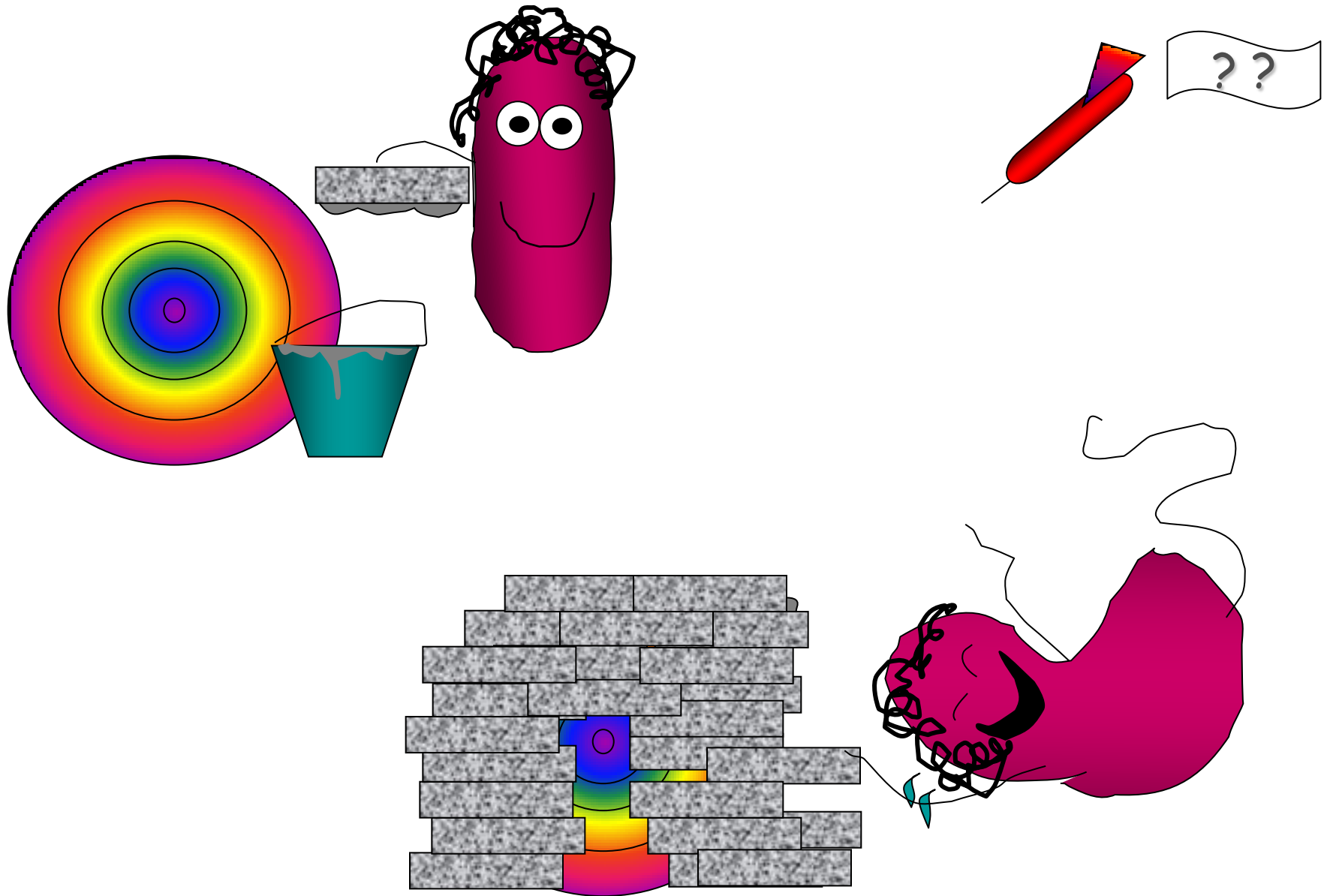




Diagram illustrating a penicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*. The bacteria are shown as green, rod-shaped cells. A yellow box labeled "D-ala" points to a yellow oval on the cell wall. A green oval labeled "PBP" is shown on the cell wall. A red oval labeled "D-ala" is shown on the cell wall.

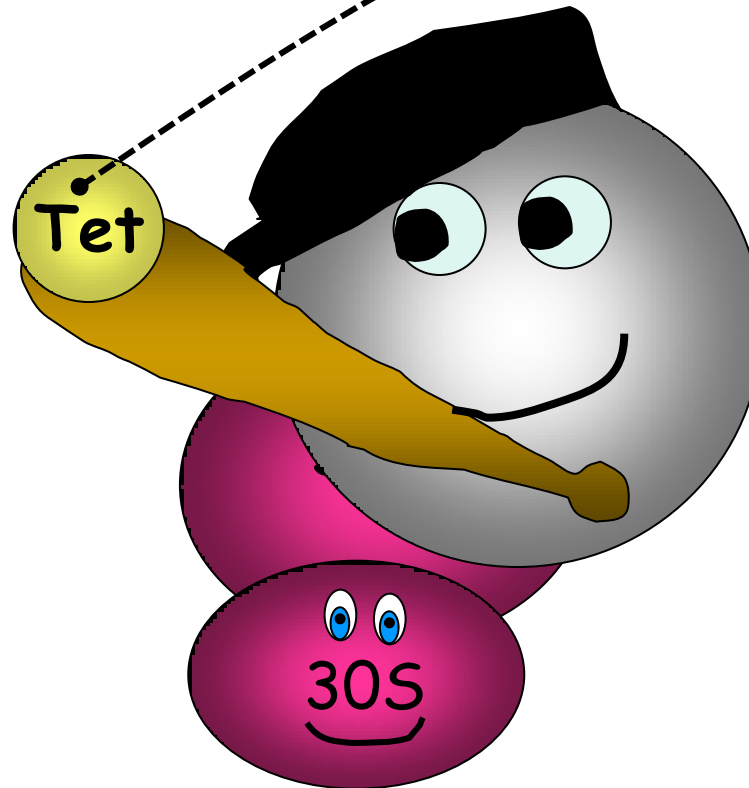
I nuovi dipeptidi non sono riconosciuti dalla vancomicina

UN'ALTRA PROTEZIONE DEL RIBOSOMA
PUO' ESSERE OTTENUTA GRAZIE A UN INGOMBRO STERICO



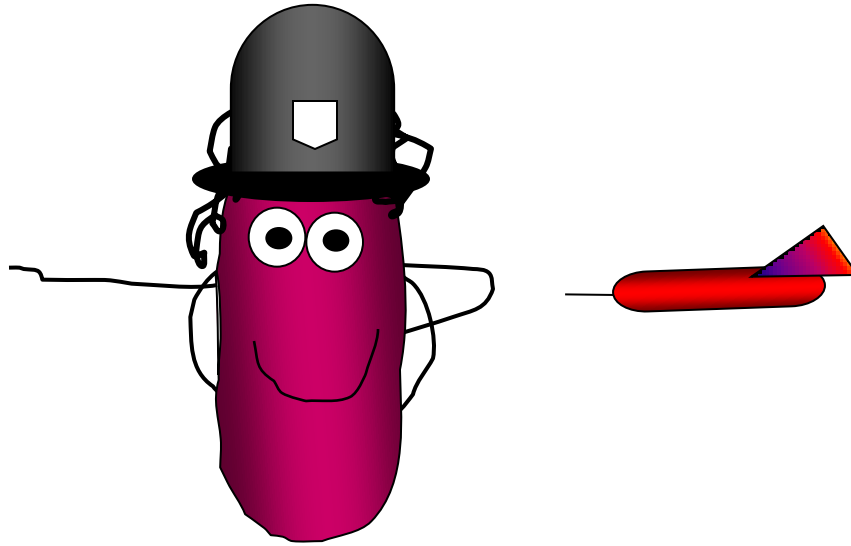


In un altro caso il ribosoma viene protetto da una proteina,
Che lo rende inaccessibile alle tetracicline



Queste proteine riducono l'affinità del ribosoma per l'antibiotico o
causano il distacco della tetracicline legata

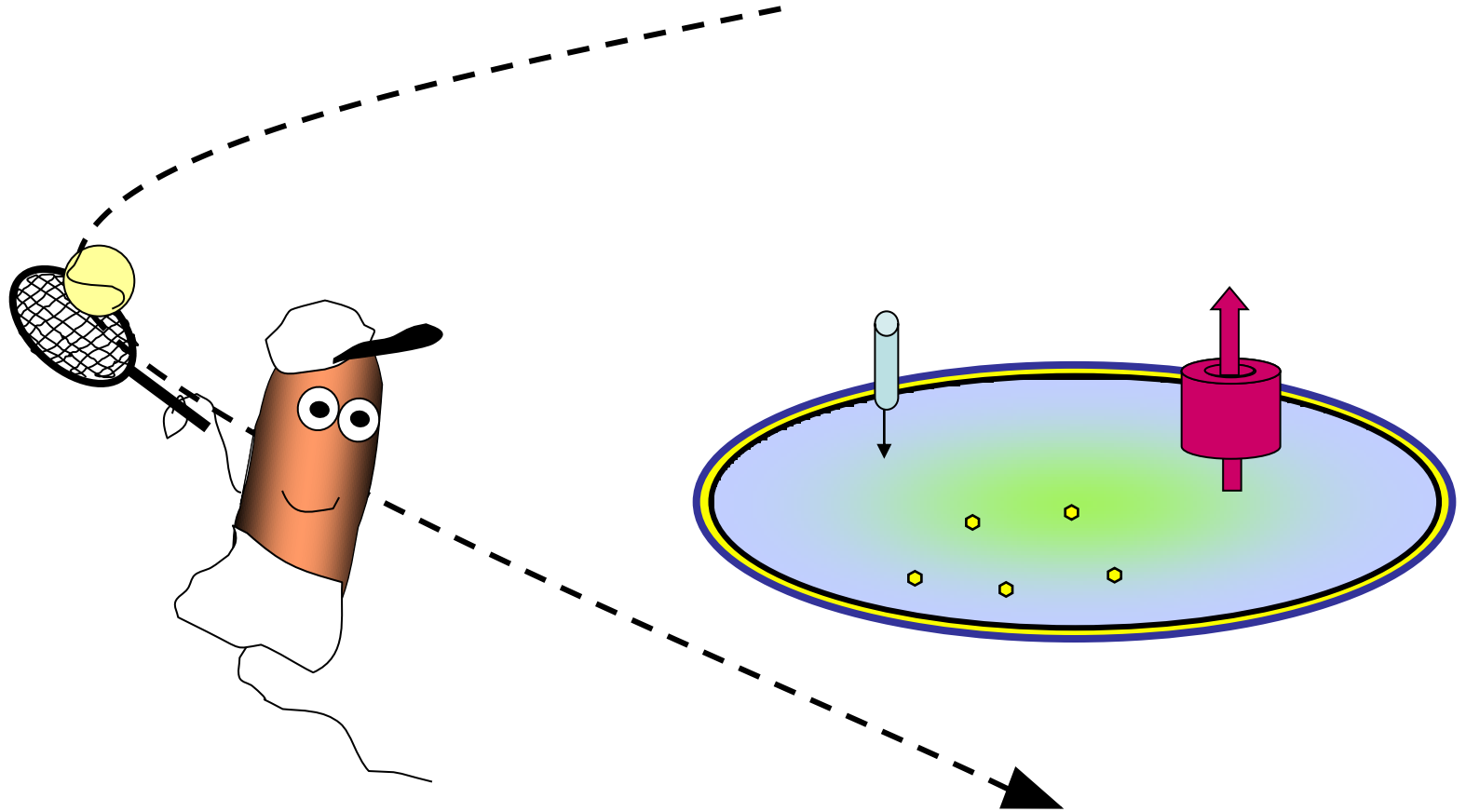
UN'ALTRA POSSIBILITÀ È QUELLA DI ALLONTANARE
L'ANTIBIOTICO PRIMA CHE FACCIAM DANNI



E' quello che i microrganismi ottengono con le pompe di
efflusso

LE POMPE DI EFFLUSSO TRANSMEMBRANA

Perché un antibiotico sia efficace, la sua concentrazione all'interno della cellula batterica deve essere sufficiente a inattivare il bersaglio

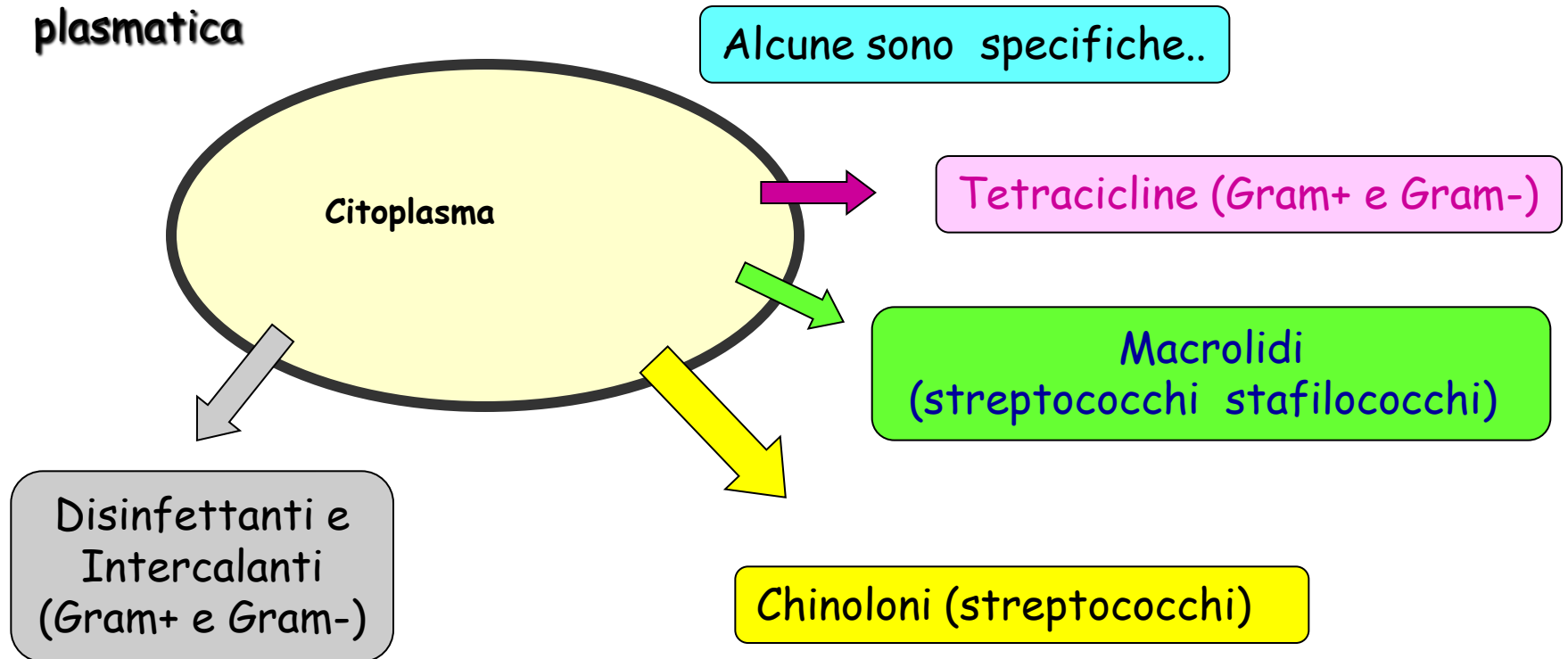


I batteri sintetizzano proteine che hanno la funzione di espellere attivamente la molecola di antibiotico..

Le pompe di efflusso impediscono alla concentrazione intracellulare di risultare efficace

ESISTONO DIVERSI TIPI DI POMPE DI EFFLUSSO

Membrana
plasmatica



..altre non lo sono (Sistemi di efflusso multidrug)



**IMPEDIRE ALL'ANTIBIOTICO DI RAGGIUNGERE IL
BERSAGLIO E' UN'ALTRA STRATEGIA POSSIBILE**

**Oltre alla protezione "comunitaria" conferita dalla crescita in biofilm, il
mancato accesso può essere anche della singola cellula**

IMPERMEABILITA'
DELLA PARETE

```
graph LR; A[IMPERMEABILITA' DELLA PARETE] --- B[Resistenza intrinseca ai GLICOPEPTIDI nei batteri Gram-negativi]; A --- C[Resistenza intrinseca ai MACROLIDI in molti batteri Gram-negativi]; A --- D[Resistenza intrinseca a molti farmaci nei micobatteri];
```

Resistenza **intrinseca** ai GLICOPEPTIDI
nei batteri Gram-negativi

Resistenza **intrinseca** ai MACROLIDI in
molti batteri Gram-negativi

Resistenza **intrinseca** a molti farmaci
nei micobatteri