

INFEZIONE BATTERICA

Rapporti organismo-batteri

Batteri SIMBIONTI = utili all'organismo

COMMENSALI (saprofiti) = indifferenti

PATOGENI = superano le difese dell'organismo e ne alterano la funzionalità

Non è un sistema rigido.

Batteri OPPORTUNISTI: componenti della flora batterica normale che possono diventare patogeni.

CAMBIANDO DISTRETTO:

E. Coli = commensale dell'intestino, può dare infezioni urinarie

Pseudomonas = batteri resistenti a molti farmaci antibatterici, con scarse esigenze nutrizionali, si trovano dappertutto. Possono venire introdotti mediante catetere, iniezioni, ustioni → gravi infezioni in pazienti immunocompromessi.

perché viene ALTERATO L'HABITAT:

Stafilococco aureo, normalmente presente nell'intestino, in seguito a somministrazione di antibiotici può diventare predominante → produzione di tossine → enterite.

perché le difese dell'ospite DIMINUISCONO:

AIDS, terapia radiante, immunosoppressione da farmaci (pazienti neoplastici).

INFEZIONE = moltiplicazione del microrganismo all'interno dell'ospite; **NON** E' sinonimo di malattia.

PATOGENICITA' = capacità di un microrganismo di causare la malattia.

Nella stessa specie ci sono ceppi più patogeni di altri; questa maggiore o minore attitudine a causare la malattia si definisce **VIRULENZA**.

La misura del potere patogeno viene generalmente espressa in dose letale 50% (DL_{50}) o in dose infettante 50% (DI_{50}).

Patogenicità

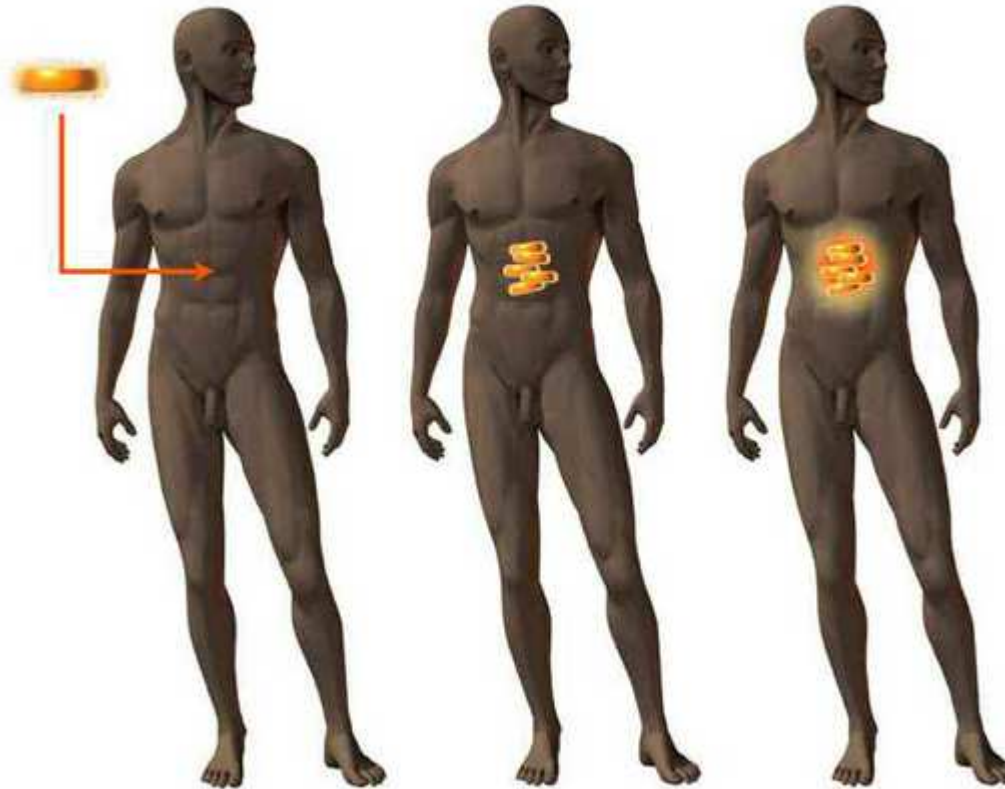
- ➔ Virulenza: grado di patogenicità, dato dalla capacità di moltiplicarsi in vivo e dalla invasività (diffusione del patogeno nel corpo)
- ➔ Tossigenicità o produzione di tossine

Infezione

Invasione: superamento da parte del batterio delle barriere difensive "esterne" dell'organismo

Infezione: superamento da parte del batterio delle barriere difensive aspecifiche interne dell'organismo

Malattia infettiva: interazione tra batterio e difensive aspecifiche interne dell'organismo



Assorbimento intestinale
Via parenterale

Vettori

Vettori biologici



- **Individui**
 - individui con infezione in atto
 - portatori sani
- **Animali o loro parassiti**
- **Insetti**

- Via aerea (ad es. faringotonsillite)
- Contagio sessuale (ad es. sifilide)
- Morso di un animale infetto
- Puntura di un insetto ematofago (ad es. malaria, febbre gialla, ecc.)

Vettori ambientali



- **Ambiente**
 - terreno
 - acqua
 - aria
- **Altro**
 - cibo
 - effetti personali
 - utensili a contatto dei cibi
 - strumenti chirurgici ecc.

- Contatto di lesioni con sorgenti di infezione (ad es. tetano)
- Indigestione di alimenti o bevande contaminate (ad es. contaminazione oro-fecale: tifo, colera)
- Interventi chirurgici



► **Portatore:** persona che non ha sintomi clinici di malattia ma che ha una infezione ed è in grado di trasmetterla ad altri

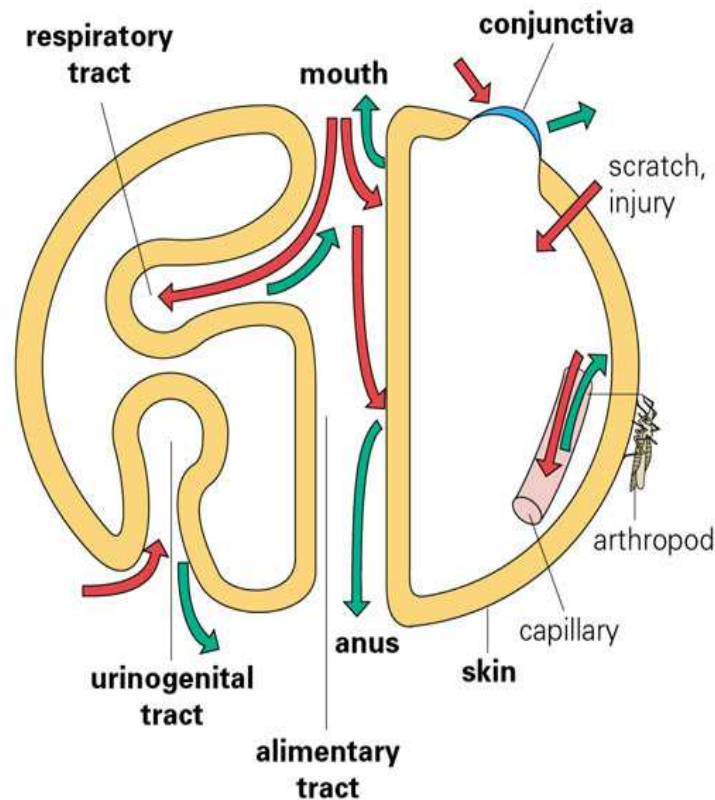
► **Malato**

► **Animali**
► **Ambiente**

► **Cibi**

Vie di infezione-trasmissione delle infezioni batteriche

Le superfici corporee come siti di infezione e di diffusione batterica: le frecce **rosse** indicano **l'infezione**, quelle **verdi** la **diffusione**.



← infection ← shedding

TABELLA 19-1

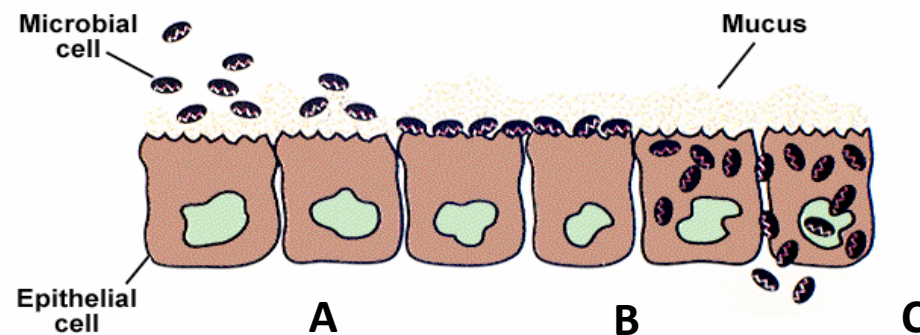
Siti di ingresso per i batteri

VIA	ESEMPI
Ingestione	<i>Salmonella</i> species, <i>Shigella</i> species, <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Escherichia coli</i> enterotossico, <i>Vibrio</i> species, <i>Campylobacter</i> species, <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Listeria</i> species, <i>Brucella</i> species
Inalazione	<i>Mycobacterium</i> species, <i>Nocardia</i> species, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Legionella</i> species, <i>Bordetella</i> , <i>Chlamydia psittaci</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i>
Penetrazione diretta	
Trauma	<i>Clostridium tetani</i>
Aghi da iniezione	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas</i> species
Punture d'artropode	<i>Rickettsia</i> species, <i>Ehrlichia</i> species, <i>Coxiella</i> species, <i>Francisella</i> species, <i>Borrelia</i> species, <i>Yersinia pestis</i>
Trasmissione sessuale	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Treponema pallidum</i>
Transplacentare	<i>Treponema pallidum</i>

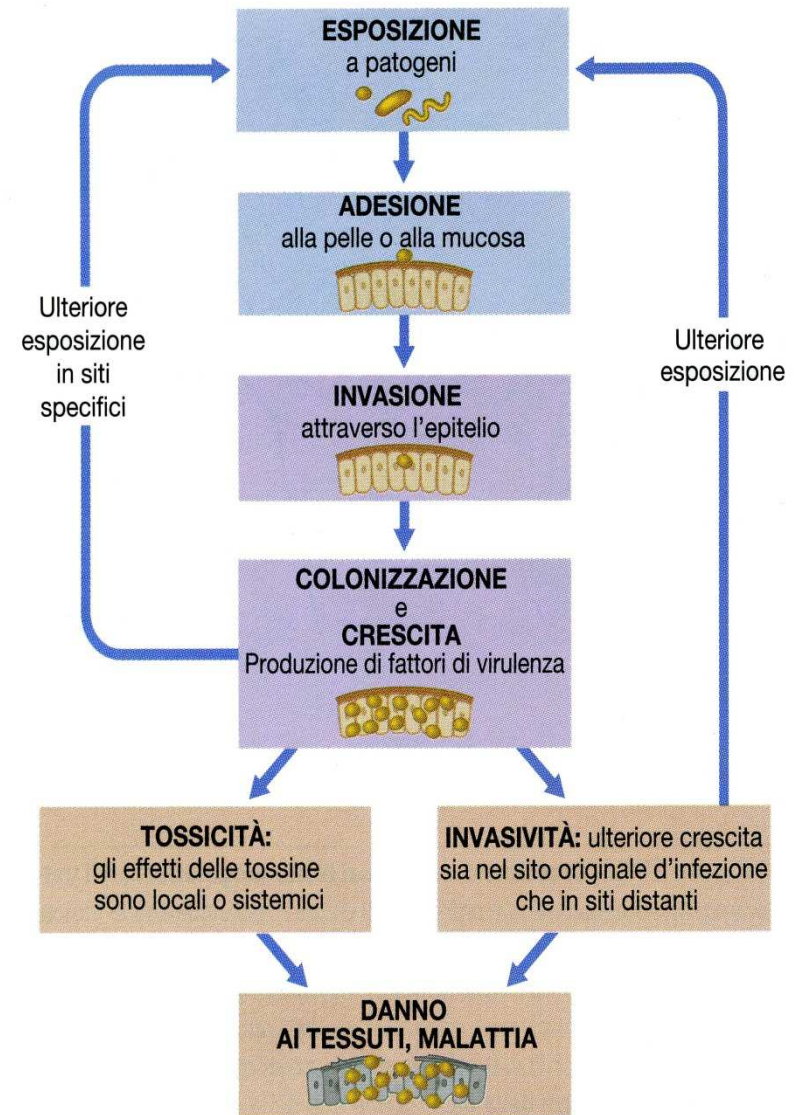
Patogenesi dell'infezione batterica

Per iniziare un processo infettivo, un batterio deve prima ancorarsi alle mucose (A,B), poi colonizzarle (concorrenza con specie microbiche commensali); quindi deve contrastare le difese dell'organismo (presenza di IgA, rimozione meccanica da muco o desquamazione epiteliale) e trovare le condizioni adatte per metabolizzare.

Seguono la sua moltiplicazione ed il danneggiamento della mucosa (C). Si dirige quindi verso i tessuti profondi spesso per azione di enzimi batterici (collagenasi, ialuronidasi) che dissolvono i tessuti e aprono un varco per il passaggio.



Nelle prime fasi il batterio deve avere strutture o produrre sostanze (aggressive) che contrastano le difese antibatteriche dell'organismo. Successivamente causa il danno, producendo tossine.



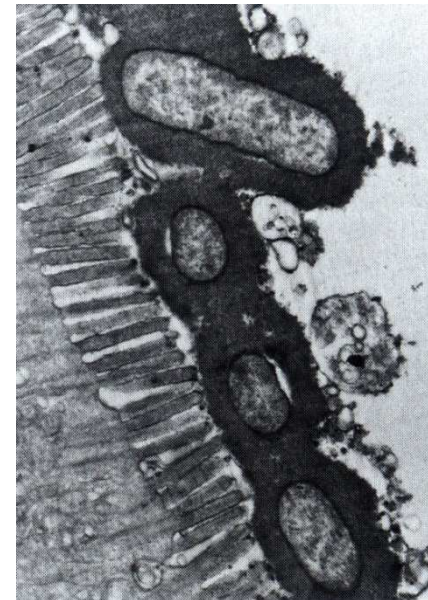
● **Figura 25.12 Microorganismi e patogenesi.** La presenza e persino la crescita di microrganismi in un ospite non porta necessariamente allo sviluppo di una malattia.

ADESINE

L'adesione è importante per la colonizzazione dei batteri sulle mucose e per l'inizio dell'infezione.

Ogni batterio aderisce in modo specifico e selettivo ad un determinato tipo di mucosa: es. E. Coli alla mucosa dell'intestino tenue, Gonococco alla mucosa uretrale.

ADESINE = strutture superficiali dei batteri che si legano a recettori specifici presenti sulle cellule che formano gli epiteli mucosi. Per lo più si tratta di glicoproteine o lipoproteine: es. proteine di fimbrie e pili nei Gram-, acidi teicoici e proteine della parete nei Gram+, polisaccaridi della capsula (es. Streptococco mutans → carie).



Adesine - 2

Il possesso di adesine è un VANTAGGIO per la colonizzazione della mucosa, ma può essere uno SVANTAGGIO se le adesine interagiscono con recettori sulle superfici di cellule fagocitarie (i batteri vengono fagocitati). La capsula può mascherare le adesine sottostanti: es. pneumococchi capsulati non vengono fagocitati.

Molti ceppi di Escherichia Coli non sono patogeni e costituiscono parte della normale flora intestinale. Pochi ceppi possono dare diarrea (anche grave) perché hanno fimbrie con proteine che si attaccano alla mucosa intestinale, e producono delle tossine. Sia la produzione di tossine che del fattore di colonizzazione sono mediate da plasmidi (fattore ent).

Dopo che il batterio si è ancorato alla mucosa e trova le condizioni metaboliche opportune, inizia a moltiplicarsi → formazione di una colonia → concentrazione di prodotti tossici (tossine, esoenzimi, ecc.) in una zona limitata → danneggiamento della mucosa → penetrazione dei batteri nei tessuti profondi.

AGGRESSINE (fattori di virulenza)

Sono sostanze che promuovono la crescita batterica in vivo inibendo le difese dell'ospite. Svolgono un ruolo importante nella prima fase dell'infezione, quando i pochi batteri presenti sono particolarmente vulnerabili alle difese dell'organismo.

CAPSULA batterica = impedisce il contatto fra batteri e fagociti.

CAPACITA' DI SOPRAVVIVERE ALL'INTERNO DEI FAGOCITI:

Brucelle, Micobatteri, Stafilococchi, Salmonelle resistono all'interno delle cellule fagocitarie.

I batteri fagocitati vengono uccisi da un sistema formato da perossidasi, H_2O_2 , e un alogenuro (ioduro). Nella vescicola fagocitaria perossidasi + H_2O_2 ossidano l'alogenuro ad alogeno → denaturazione delle proteine.

Si forma anche O_2^- ; $O_2^- + H_2O_2 \rightarrow OH^- \rightarrow$ danno a tutte le molecole biologiche.

Alcuni batteri producono sostanze che inibiscono il sistema perossidasi:

Catalasi (Stafilococco)

Superossidodismutasi



Riducono H_2O_2 e O_2^-

Aggressine - 2

Altri batteri producono e rilasciano diverse sostanze:

LEUCOCIDINE (simili alle esotossine) = danneggiano linfociti e macrofagi

COAGULASI = precipita il fibrinogeno intorno al batterio → resistenza alla fagocitosi (Stafilococchi)

Produzione di ENZIMI che favoriscono la diffusione dell'infezione ai tessuti:

IALURONIDASI = depolimerizza l'acido ialuronico, componente il connettivo (Clostridium perfringens, Gangrena gassosa)

MIMETISMO ANTIGENE = Alcuni batteri hanno strutture di superficie molto simili ad antigeni presenti in cellule dell'ospite (es. Streptococco Piogene ha la capsula con acido ialuronico).

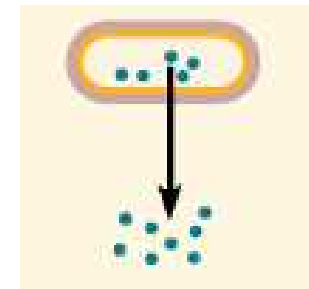
Spiega il TROPISMO DI SPECIE. Salmonella typhimurium ha antigeni in comune con tessuti del topo (è molto patogena) ma non umani (è poco patogena).

TOSSINE

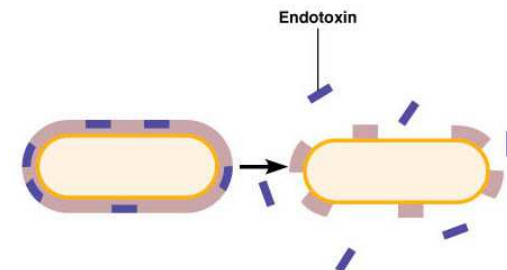
TOSSINA = sostanza tossica (veleno) responsabile del quadro clinico della malattia e del potere patogeno dei batteri.

La differenza fra aggressive e tossine è molto sfumata; generalmente le aggressive hanno un ruolo importante nella prima fase dell'infezione e permettono al batterio di contrastare le difese dell'organismo, mentre le tossine provocano il danno effettivo.

ESOTOSSINE = tossine che si liberano nell'ambiente mentre vengono prodotte; sono facilmente separabili dai batteri mediante metodi fisici (filtrazione, centrifugazione).



ENDOTOSSINE = veleni legati a strutture dei batteri Gram - (lipide A di LPS) e si liberano nell'ambiente solo dopo la lisi dei batteri.



Differenze fra Eso- ed Endotossine

ESOTOSSINE

Proteine

Termolabili

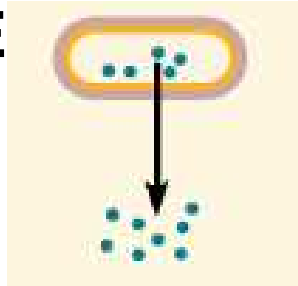
Gram + (ma anche Gram-)

Per lo più secrete

Neutralizzate dall'anticorpo specifico

Trasformabili in anatoxine

Effetto caratteristico di ciascuna



ENDOTOSSINE

Lipidi (lipide A di LPS)

Termostabili (all'autoclavatura)

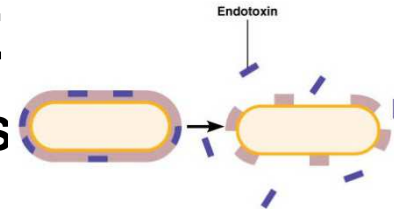
Solo Gram-

Componenti strutturali del batterio

Gli anticorpi non hanno effetto sul potere tossico

Non detossificabili

Effetto comune a tutte (febbre, danni al sistema circolatorio).



ESOTOSSINE

Veleni proteici prodotti da Gram+ e Gram-.

Molte esotossine sono prodotte in seguito a conversione lisogenica: il gene che sintetizza la tossina non è cromosomiale, ma è codificato da un batteriofago temperato (es. Corinebatteri difterici, enterotossina di Stafilococco Aureo, tossina eritrogenica di Streptococco, ecc.).

Le esotossine hanno un elevato potere antigenico. In seguito a trattamento, ad es. con formaldeide, si ha una modificazione dei gruppi funzionali degli aminoacidi della tossina → le proteine così trattate perdono il potere tossico, ma conservano quello antigenico → anatossine, utilizzate per:

- 1. Indurre immunità attiva (vaccini)**
- 2. Preparare sieri immuni antitossici (inoculazione in grossi animali)**

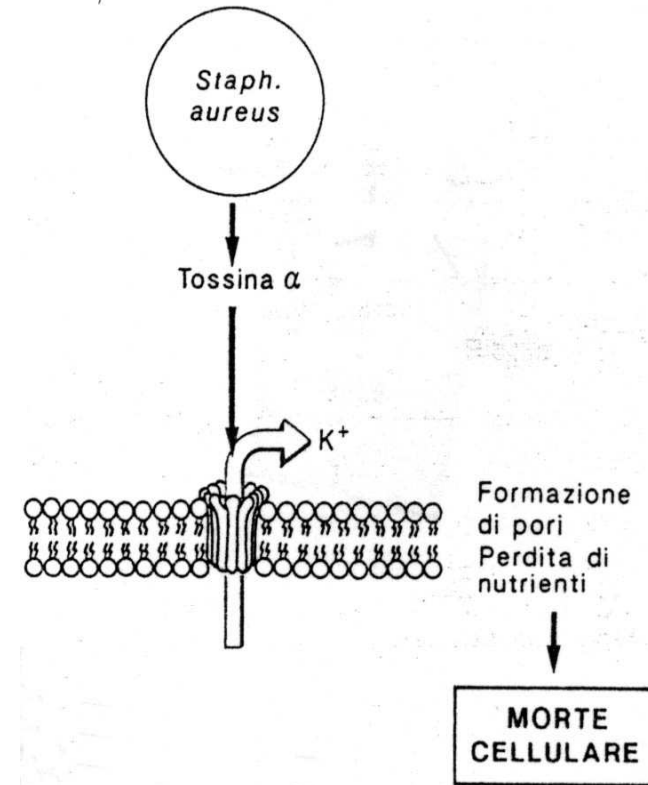
Azione delle esotossine

Alcune Tossine sono **CITOLITICHE** (emolisine).

Due meccanismi d'azione:

1. azione tossica sulla membrana cellulare (es. tossina alpha Clostridium Perfringens **(vedi)**) con conseguente distruzione della cellula eucariotica;

2. inserzione nella membrana formando pori o canali con fuoriuscita di nutrienti e lisi della cellula (emolisina O di streptococco **(vedi)**, emolisine α e δ di stafilococco **(vedi)**).



Altre sono **PANTROPE**, ad azione sistemica. Inibiscono la sintesi proteica.

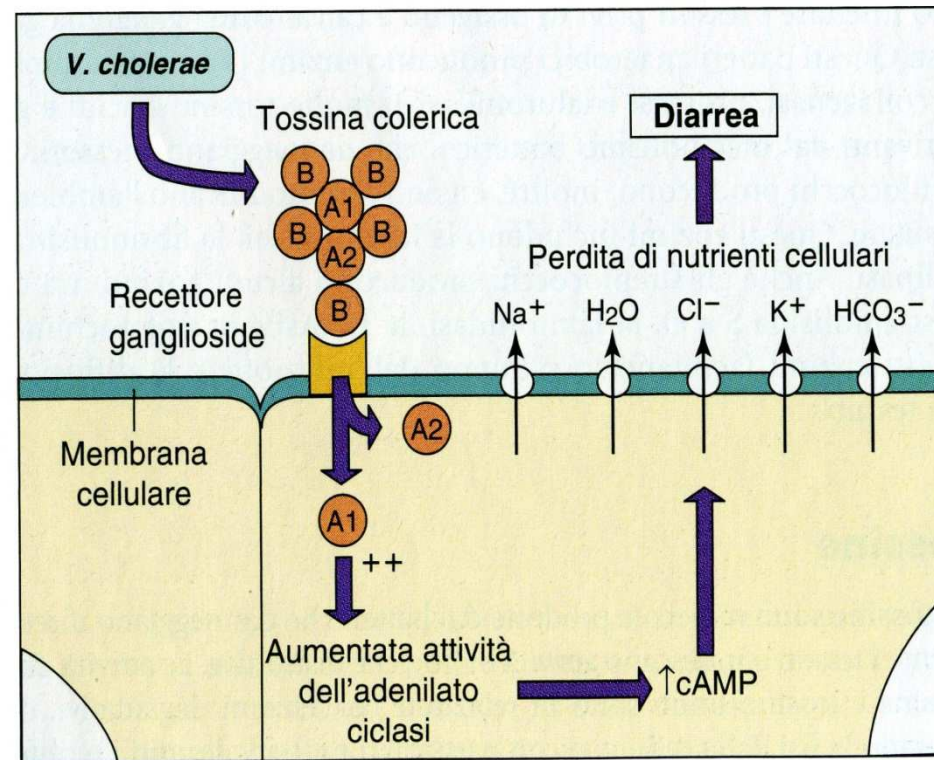
- Tossina difterica (Cl. difteriae)
- Pseudomonas aeruginosa
- Shigella dysenteriae

inibiscono il fattore EF2
necessario per la sintesi dei
polipeptidi a livello ribosomiale

Azione delle esotossine

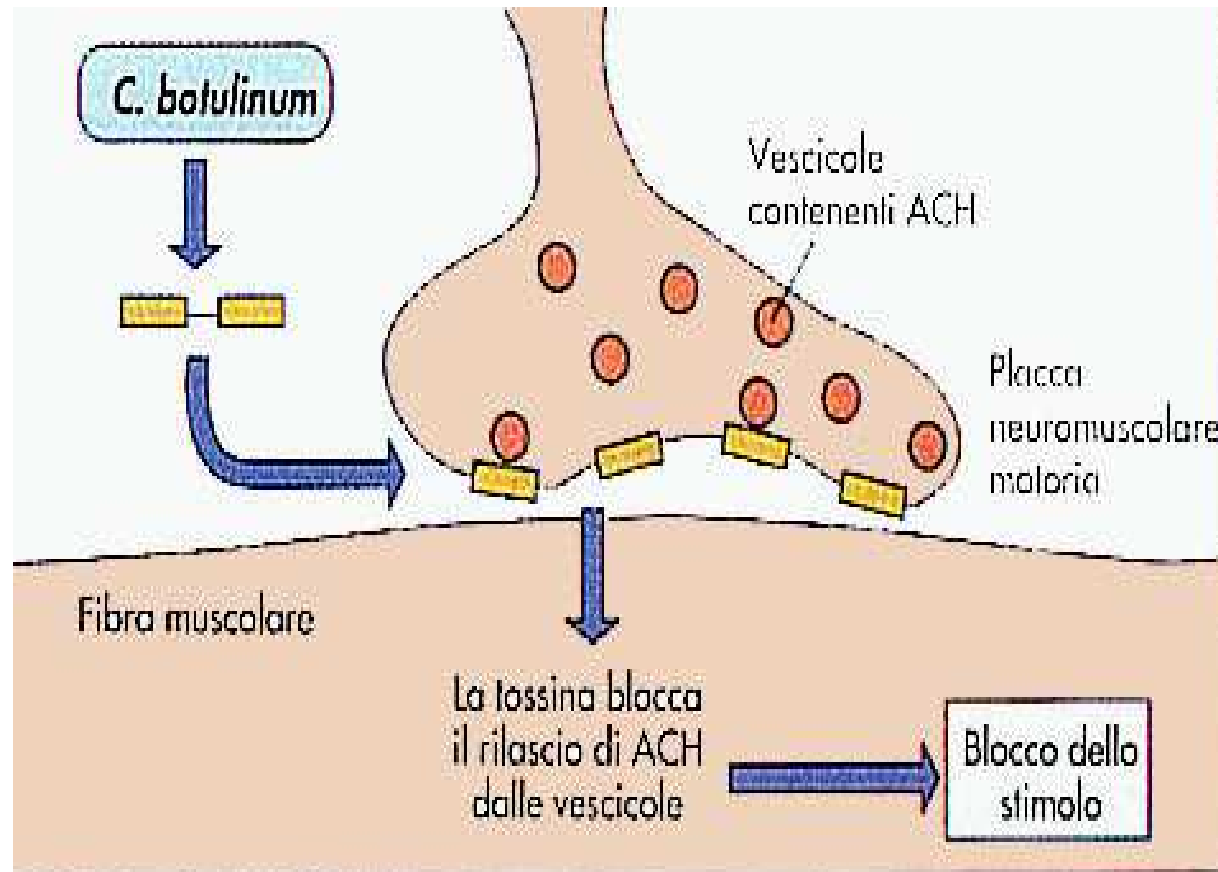
Altre Tossine sono **ENTEROTOSSICHE**, hanno effetto enteropatogeno (diarrea, vomito) → sono attive soprattutto a livello delle cellule dell'intestino tenue. Agiscono tramite l'attivazione di adenilato ciclasti e formazione di AMP-ciclico, che interviene nella regolazione degli scambi idrici ed elettrolitici.

- Enterotossina del **Vibrione del colera**
- Tossina termolabile di **E. Coli/enterobatteri**
- Enterotossina **Stafilococcica (vedi)**



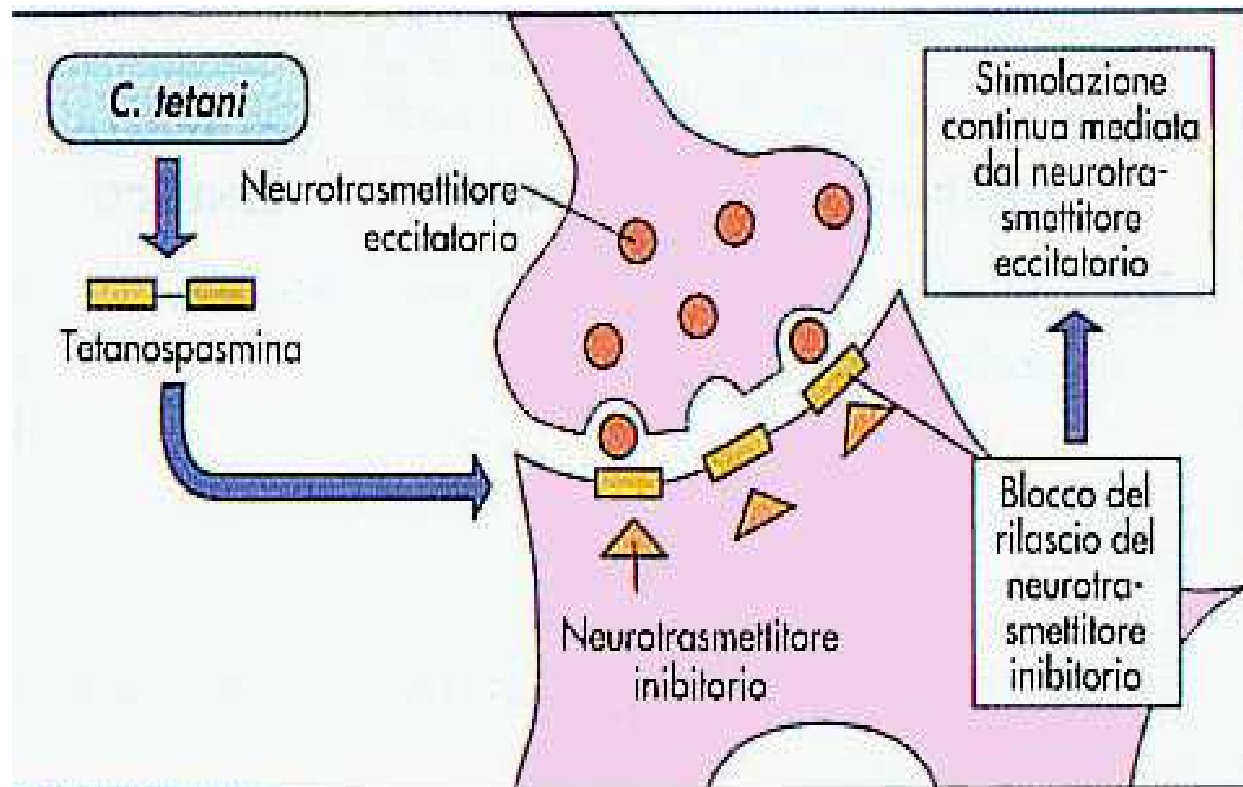
Tossine NEUROTROPE

Esotossina **botulinica** → sistema nervoso periferico → inibisce la liberazione dell'acetilcolina a livello della giunzione neuromuscolare → l'impulso non raggiunge il muscolo → paralisi flaccida. E' estremamente tossica: 1 gr in grado di uccidere 10,000,000 di persone.

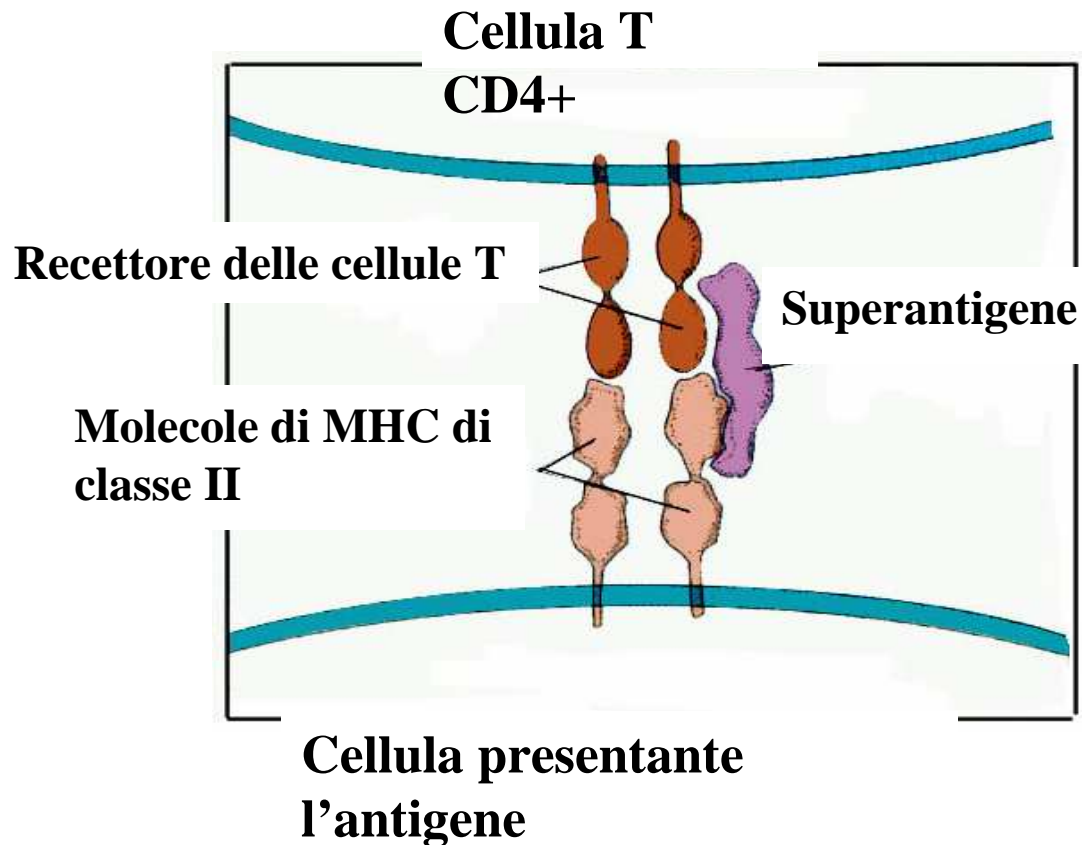


Tossine NEUROTROPE

Esotossina **tetanica** → sistema nervoso centrale → blocco della liberazione dei neurotrasmettitori inibitori → paralisi spastica.



Tossine come superantigeni



Gli antigeni convenzionali attivano uno o al più pochissimi cloni di linfociti T; vengono captati da monociti, macrofagi, linfociti B che li elaborano e li presentano ai linfociti T helper specifici che vi si legano provocandone l'attivazione. I superantigeni fanno parte di un gruppo particolare di tossine. I superantigeni si legano aspecificamente a monociti e macrofagi ed attivano numerosi cloni T con massiccia produzione di citochine (IL1, IL2, TNF α , TNF , ecc) febbre, ipercatabolismo proteico, shock emodinamico, disregolazione del sistema immune.

Tossine come superantigeni TSST di *Staphylococcus aureo*

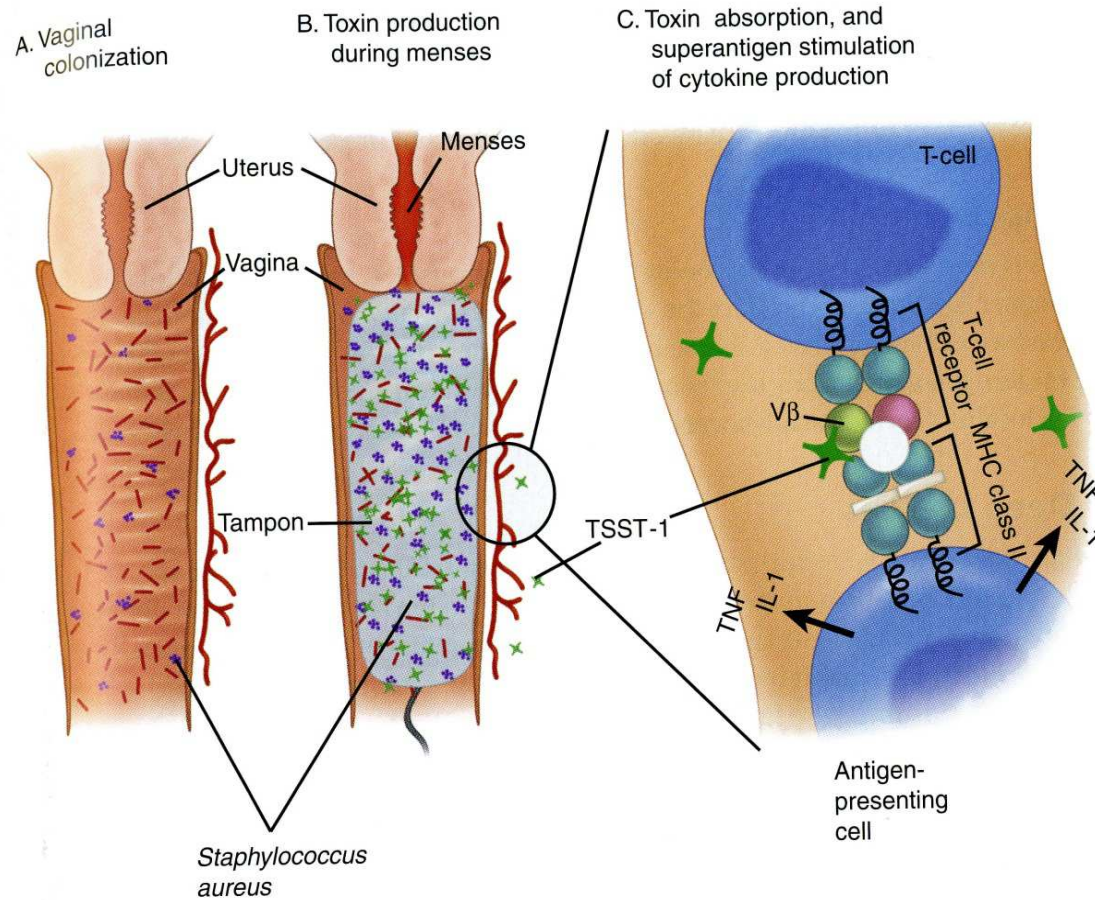


FIGURE 24-8. Pathogenesis of staphylococcal toxic shock syndrome. **A.** The vagina is colonized with normal flora and a strain of *Staphylococcus aureus* containing the *c-1* gene. **B.** The conditions with tampon usage facilitate growth of the *S aureus* and toxic shock syndrome toxin (TSST-1) StaphSAg production. **C.** The toxin is absorbed from the vagina and circulates. The systemic effects may be due to the direct effect of the toxin or via cytokines released by the superantigen mechanism. The toxin is shown binding directly with the V β portion of the T-cell receptor and the class II major histocompatibility complex (MHC) receptor. This V β stimulation signals the production of cytokines such as interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF).

ENDOTOSSINA

I batteri hanno una membrana esterna con struttura asimmetrica (fosfolipide all'interno, LPS all'esterno).

➔ **Importante la presenza del lipopolisaccaride (LPS), cui è legata l'attività di endotossina, caratteristica dei Gram-.**

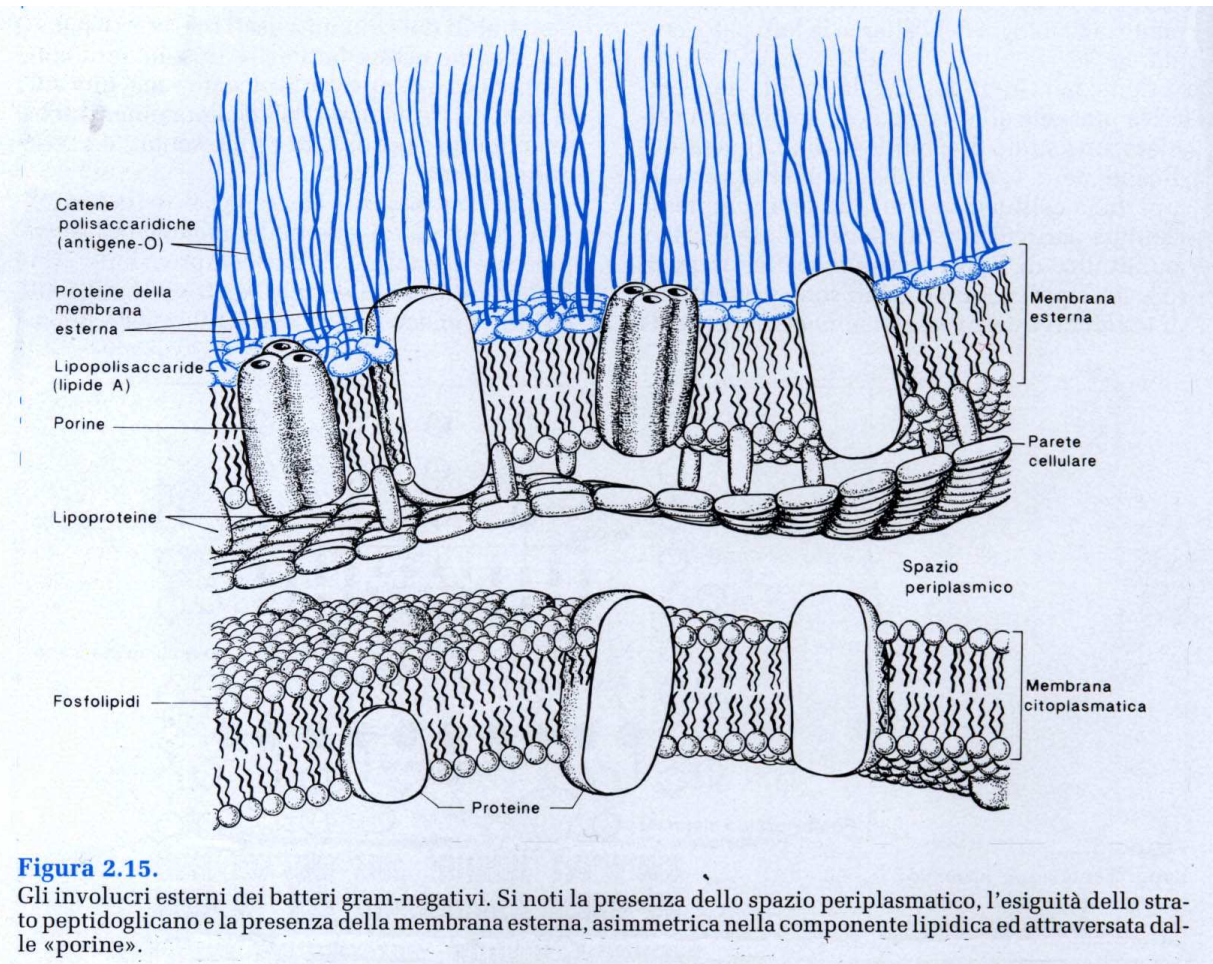
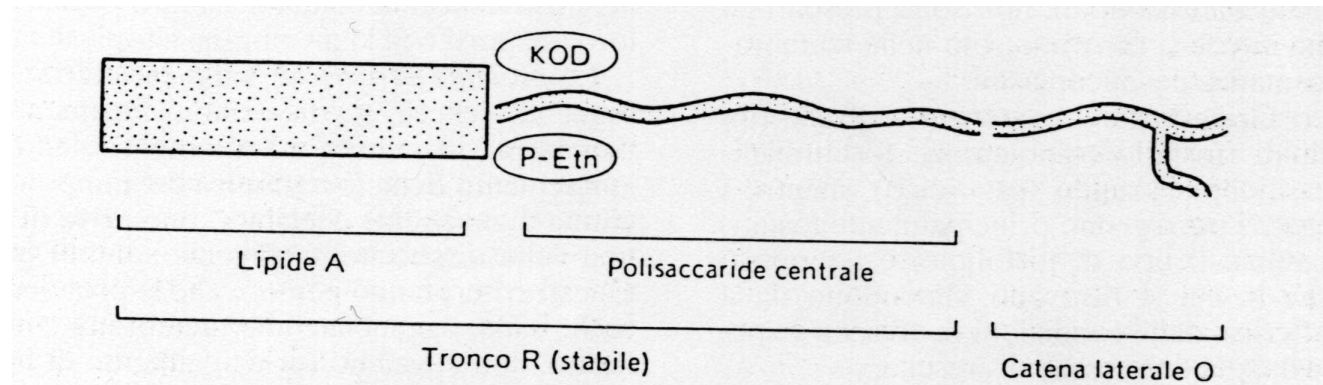


Figura 2.15.

Gli involucri esterni dei batteri gram-negativi. Si noti la presenza dello spazio periplasmico, l'esiguità dello strato peptidoglicano e la presenza della membrana esterna, asimmetrica nella componente lipidica ed attraversata dalle «porine».

LA PORZIONE LIPIDICA (LIPIDE A) E' RESPONSABILE DELLE PRINCIPALI ATTIVITA' BIOLOGICHE DELL'ENDOTOSSINA



Il core è sempre molto simile in tutti i Gram-, mentre la catena polisaccaridica (Antigene O) dà alle diverse specie batteriche caratteristiche antigeniche differenti.

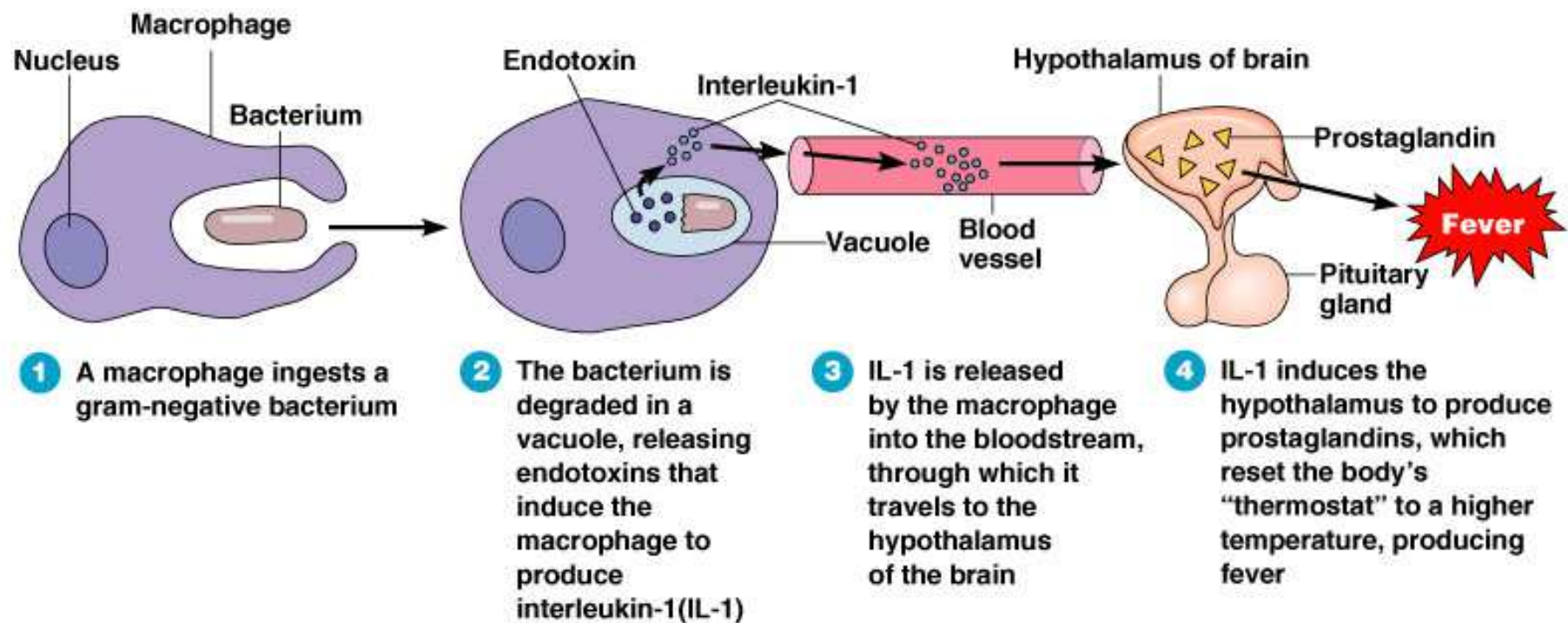
In piccole quantità LPS attiva monociti, macrofagi e molti mediatori dell'infiammazione [piccolissime quantità di LPS assorbite quotidianamente stimolano positivamente i sistemi cellulari, particolarmente il sistema immunitario]. I batteri Gram- fanno parte della flora microbica intestinale normale e quindi piccole quantità di LPS sono sempre assorbite; animali "germ free" sono iposviluppati.

LPS in grande quantità (batteriemia, colonizzazione di tessuti profondi, ecc) invece provoca gravi danni.

EFFETTI delle ENDOTOSSINE:

PIROGENICITA' (induzione della febbre)

Induzione dei macrofagi a liberare mediatori cellulari, fra cui $\text{TNF}\alpha$ e IL1, citochine con molti effetti di carattere generale.



EFFETTI delle ENDOTOSSINE:

ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO e della coagulazione con possibilità di trombi intravasali

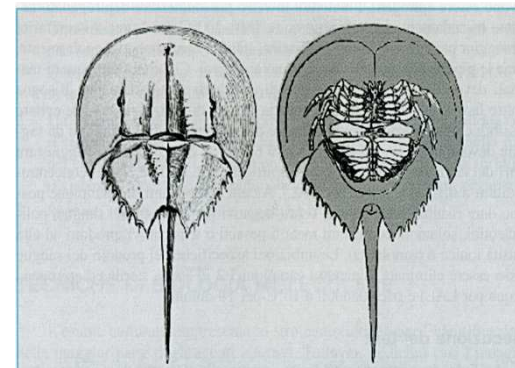
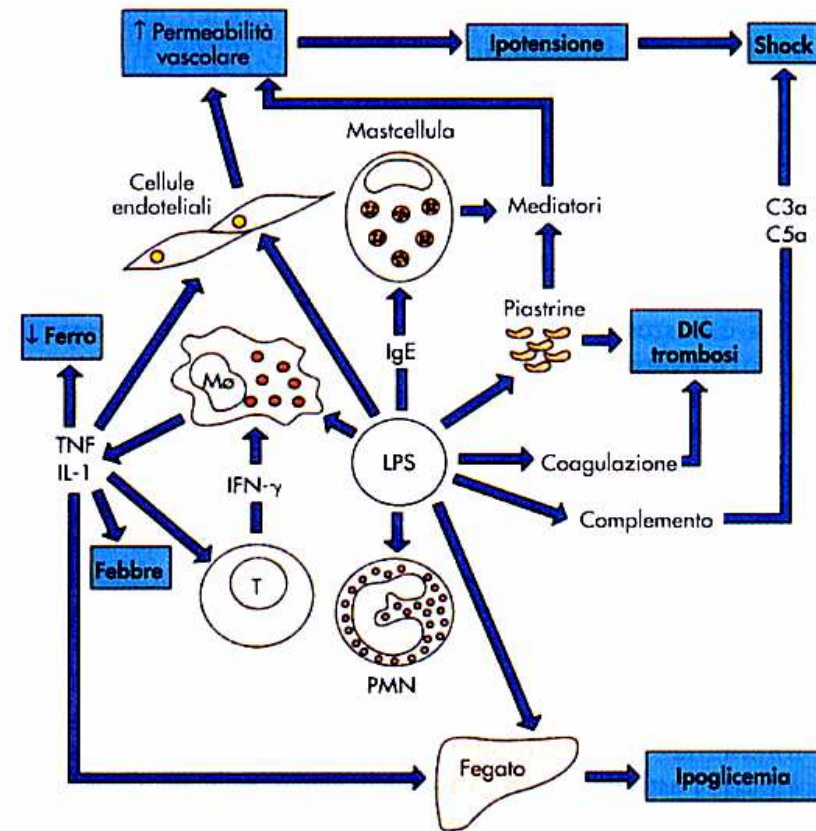
VASODILATAZIONE PERIFERICA per aumento della permeabilità dei capillari → ipotensione → stasi ematica → shock emodinamico

AUMENTO DEL METABOLISMO PROTEICO

STIMOLAZIONE DI LINFOCITI T

LPS attiva quasi tutti i meccanismi immunitari e la coagulazione. Legenda: DIC = coagulazione disseminata intravascolare, IFN = interferone, IL = interleuchina; MO = macrofago; PMN = leucocita polimorfonucleato; TNF = tumor necrosis factor

LPS batterici sono molto diffusi nell'ambiente e sono stabili all'inattivazione da agenti chimici e fisici → frequente contaminante ambientale → possibile inquinante di prodotti biologici, reagenti, farmaci, alimenti, ecc.
NECESSARIO il controllo per la presenza di endotossina (Limulus test).



Limulus
Polyphemus

LIMULO / GRANCHIO REALE

Il [sangue](#), materia prima del test, viene estratto dai limuli. Dal sangue si ottiene poi un lisato di amebociti (uniche cellule in circolo nel Limulus) che contiene gli enzimi che permettono la gelificazione in presenza dell'endotossina batterica ([LPS](#)).

Esempi

Stafilococco

Streptococco

Clostridi

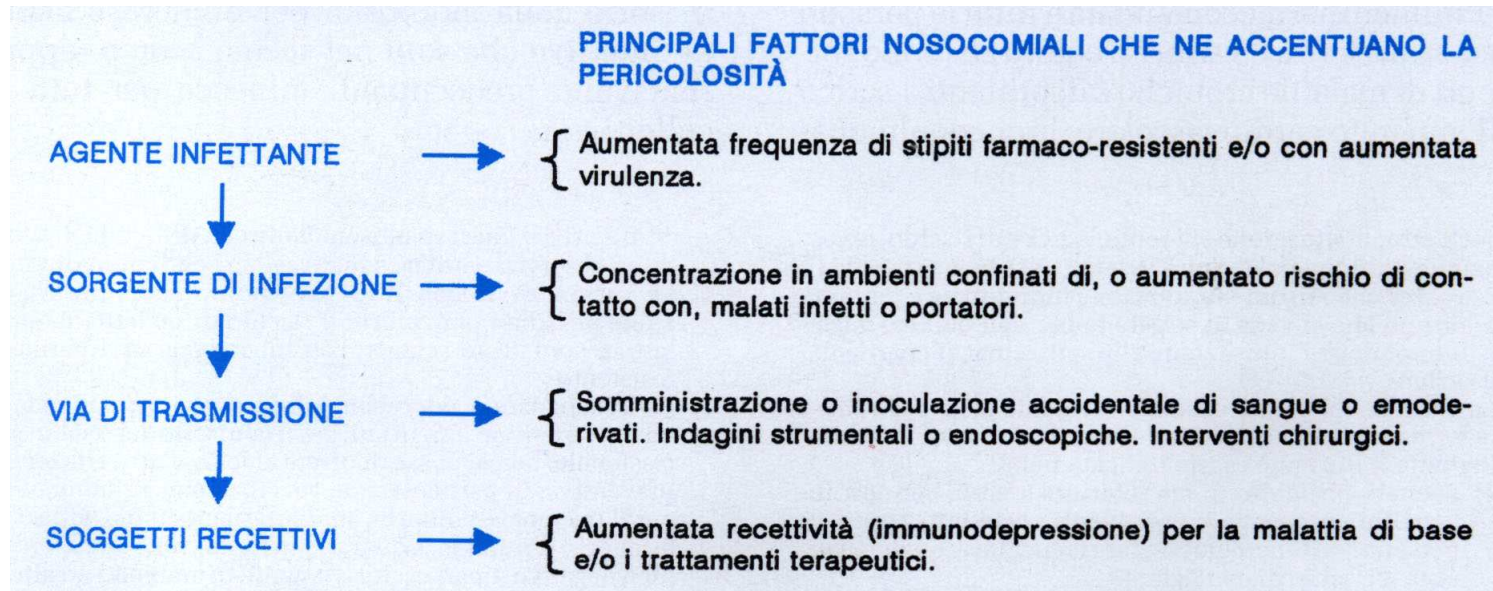
Bacilli

Enterobatteri

Vibrioni

Infezioni Nosocomiali

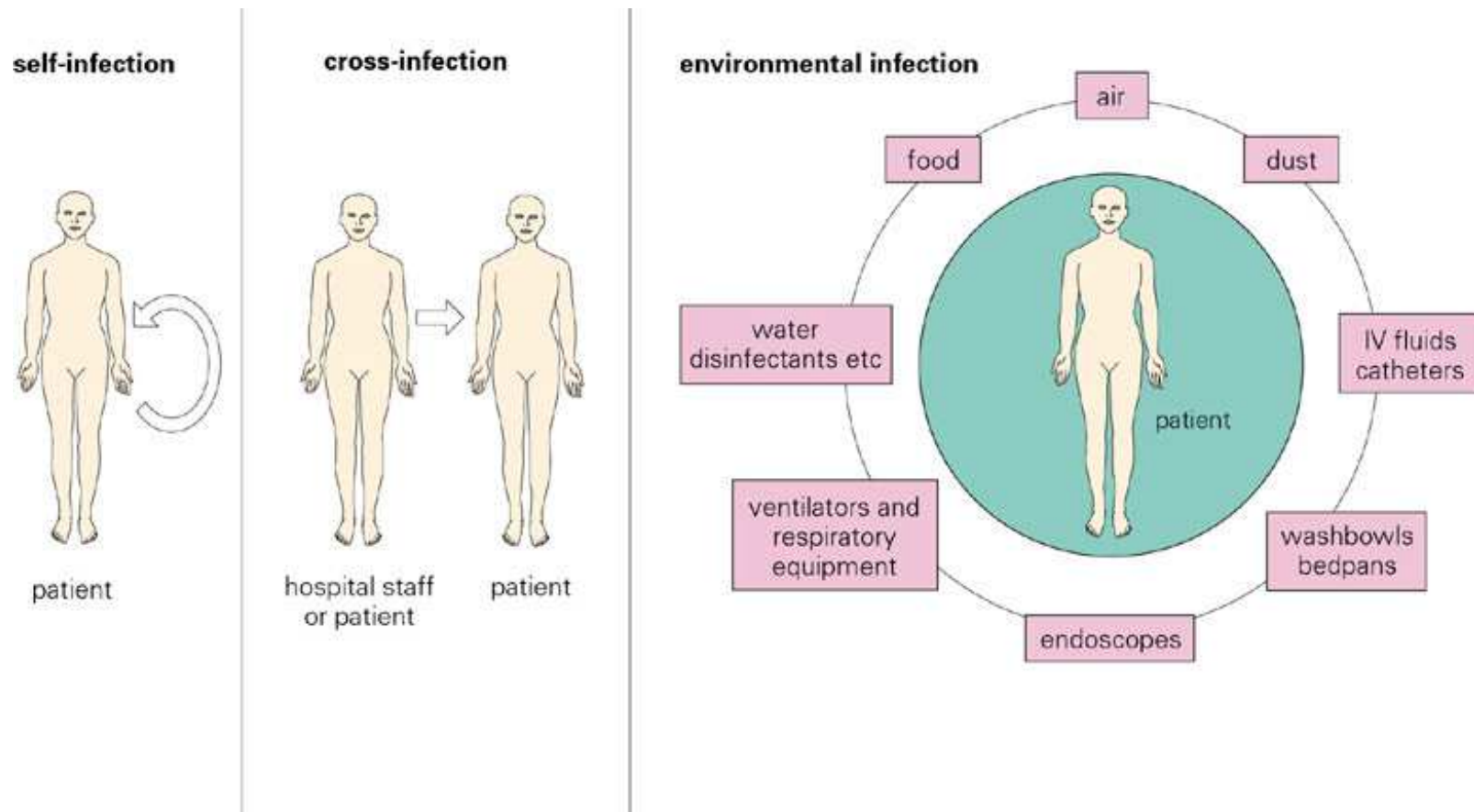
Sono le infezioni che si contraggono durante il soggiorno in ospedale = **INFEZIONI OSPEDALIERE**. Si verificano in circa il 5% di tutti i pazienti ospedalizzati (in terapia intensiva in più del 10%).



Rappresentazione schematica delle principali cause che intervengono nel favorire la diffusione intraospedaliera di infezioni (infezioni nosocomiali)

Su circa 9.500.000 di ricoverati all'anno circa 500.000 si ammalano di infezione in ospedale, con una mortalità di circa il 3% (circa 15.000 morti all'anno)

Le infezioni nosocomiali possono essere acquisite da fonte esogena (da un altro paziente, dall'ambiente, dal personale) o da fonte endogena (dallo stesso paziente)



Sorgente di infezione:

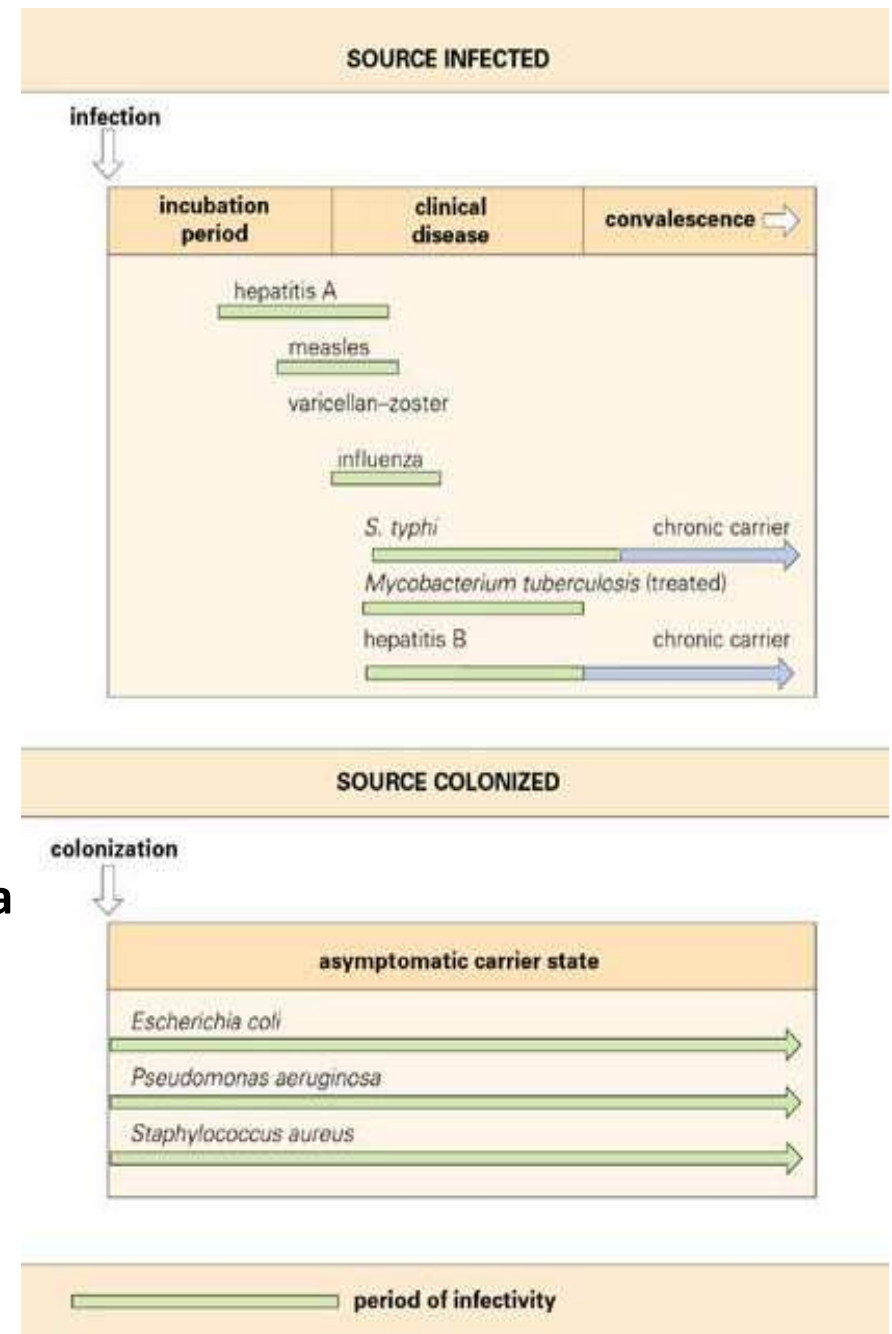
Ambientale:

oggetti contaminati (“fomiti”)
aria, acqua, cibo

Umana:

Persone infettate
Persone con malattie in incubazione
Portatori sani (asintomatici)

Il periodo di infettività varia a seconda della malattia



Le infezioni acquisite più comuni in ambiente ospedaliero sono:

Infez. di ferite chirurgiche

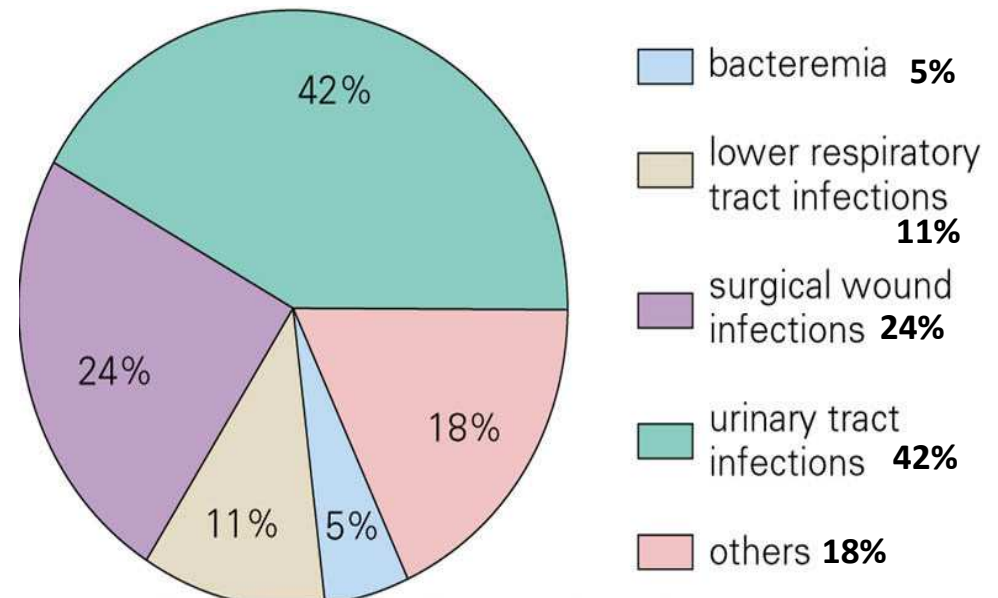
Infez. respiratorie

Infez. del tratto urinario

Batteriemia (setticemia)

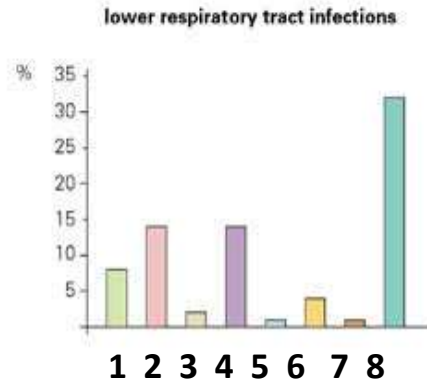
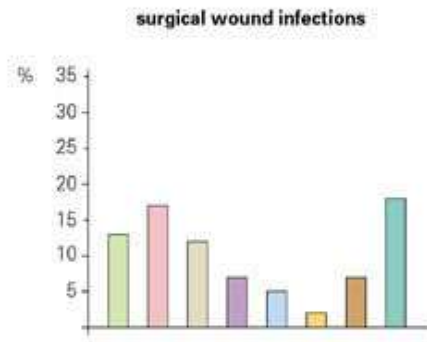
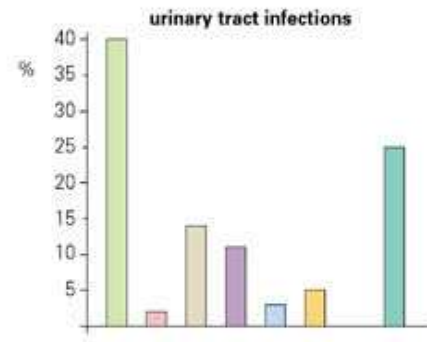
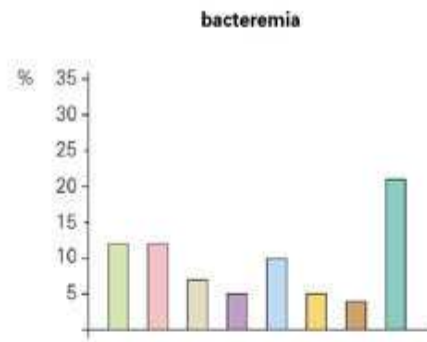
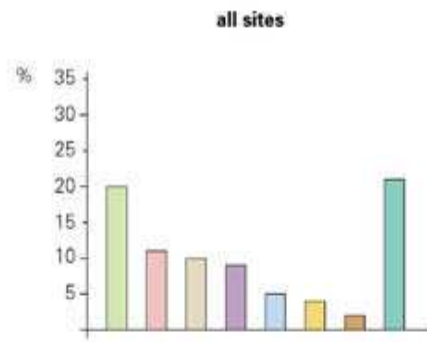
primaria = diretta introduzione nel sangue

secondaria = diffusione di infezione già presente



Molti dei patogeni responsabili sono OPPORTUNISTI = non causano infezione in condizioni normali, ma solo in pazienti compromessi o se introdotti con procedure invasive

Alcune delle specie batteriche più importanti nelle infezioni nosocomiali. L'importanza varia nelle diverse infezioni. Stafilococco aureo è importante nelle infezioni chirurgiche e nelle batteriemie, ma meno nelle infezioni urinarie



- | | | | |
|----------|-------------------------------|----------|---------------------------|
| 1 | <i>Escherichia coli</i> | 5 | coagulase-negative staphs |
| 2 | <i>Staphylococcus aureus</i> | 6 | <i>Candida</i> |
| 3 | enterococci | 7 | <i>Bacteroides</i> |
| 4 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 8 | other Gram-negative rods |

Fattori che predispongono alle infezioni nosocomiali

Età	Pazienti neonati ed anziani particolarmente a rischio Neonati = immaturità del loro sistema immunitario Anziani = altre malattie, o immobilità (inf. polmonare)
Malattie preesistenti	Altre malattie non infettive aumentano la possibilità di infezione: neoplasie, malattie cutanee, renali, neutropenia
Altre infezioni	HIV, pazienti con influenza tendono a sviluppare polmoniti batteriche, lesioni cutanee da virus herpes simplex possono essere infettate da streptococchi, ecc.
Medicine	Farmaci citotossici, immunosoppressione post-trapianto, steroidi diminuiscono le difese. Antibiotici riducono la flora normale e facilitano la colonizzazione con patogeni ospedalieri resistenti.
Trauma	ferite, ustioni, traumi da incidente possono esporre a patogeni distretti normalmente sterili Chirurgia, cateteri, ecc. possono introdurre patogeni in distretti normalmente sterili

PREVENZIONE

Interventi strutturali: sorveglianza ambientale, isolamento di pazienti infettivi o suscettibili; controllo sistemi di condizionamento (Polmonite da Legionella Pneumofila)

Comportamento del personale: non entrare in contatto con pazienti se si è affetti da malattie infettive; pratiche igieniche sia elementari (lavarsi le mani prima e dopo il contatto col paziente) che più complesse (uso di disinfettanti, ecc.).

DISINFEZIONE E STERILIZZAZIONE

Disinfezione = riduzione del *numero* di microrganismi patogeni vegetanti, fino al punto che non causano più malattia. Le spore non vengono eliminate. Non garantisce l'eliminazione totale dei microrganismi, ma ne riduce il numero

- ◆ **Disinfettante:** Su oggetti inanimati.
- ◆ **Antisettico:** Su tessuti viventi.
- ◆ **Sanitizzazione:** Uso di agenti chimici per rispettare le norme di Igiene Pubblica e diminuire la possibilità di trasmettere malattie. Es. lavarsi le mani con acqua calda e sapone.

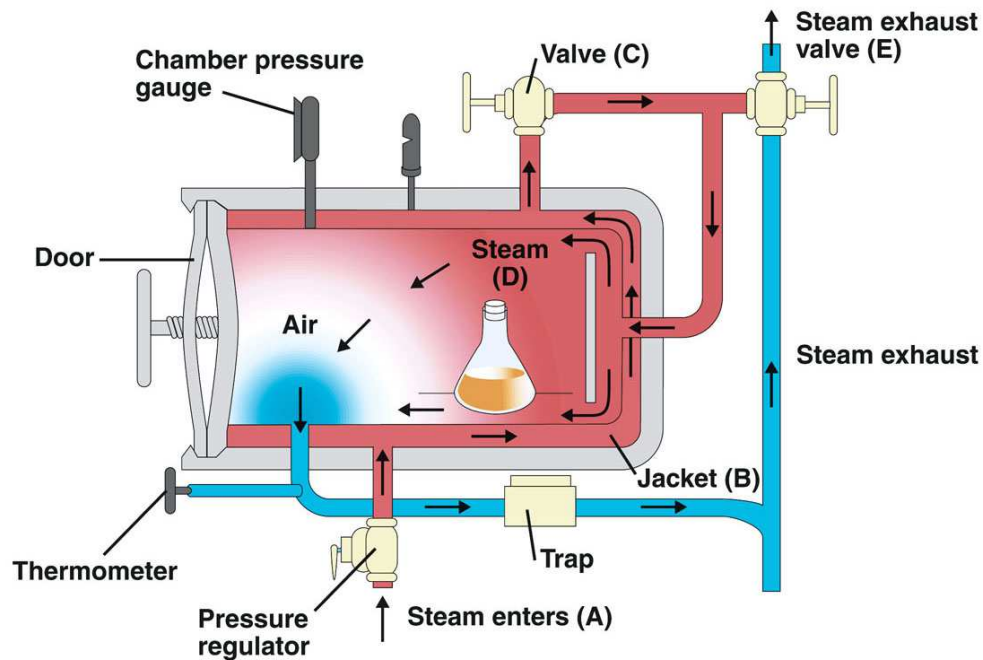
Sterilizzazione = totale distruzione di TUTTI i microrganismi, comprese spore batteriche e virus. Garantisce la completa eliminazione di qualunque forma microbica.

Si possono usare diversi metodi, basati su agenti **fisici, meccanici, chimici.**

Agenti Fisici: CALORE

CALORE SECCO = 2h a 160-180°. Necessarie temperature elevate perché la diffusione e la penetrazione del calore nell'aria sono lente.

CALORE UMIDO = più efficace, di solito mediante AUTOCLAVE



Il vapore saturo sotto pressione permette di raggiungere temperature elevate. L'alto calore latente dell'acqua e la rapida denaturazione delle proteine in presenza di acqua consentono temperature e tempi inferiori rispetto alla sterilizzazione a secco (120° C per 15-20').

Temperatura del vapore d'acqua a diversi valori di pressione

Pressure (psi in excess of atmospheric pressure)	Temperature (°C)
0 psi	100
5 psi	110
10 psi	116
15 psi	121
20 psi	126
30 psi	135

La BOLLITURA (in acqua a 100°C) **NON STERILIZZA**.

In circa 10 minuti distrugge le forme vegetative di batteri patogeni, molti virus, ed i miceti. Le spore batteriche ed alcuni virus resistono bene alla bollitura.

- ◆ **Virus dell'epatite A:** Sopravvive a 30' di bollitura.
- ◆ **Spore Batteriche:** Possono sopravvivere a più di 20 ore di bollitura.

Tabella 7.2. Resistenza di spore al calore umido (sono indicati i minuti di sopravvivenza).

Specie microbiche	100 °C	110 °C	115 °C	125 °C
<i>B. anthracis</i>	2-15	5	—	—
<i>B. subtilis</i>	ore	40	—	—
<i>Cl. tetani</i>	5-90	5-25	—	—
<i>Cl. botulinum</i>	500	120	40	20
Specie ambientali	ore	420	15	4

Il vapore deve sostituire tutta l'aria dall'autoclave perchè possa agire in maniera efficace; con la espulsione dell'aria, provocata dallo stesso vapore in formazione, prima di chiudere ermeticamente il sistema, si elimina anche il rischio di ossidazione del materiale esposto al trattamento.

Calore umido

Tabella 7.4. Resistenza di spore al calore secco (sono indicati i minuti di sopravvivenza).

Specie microbiche	120 °C	130 °C	140 °C	150 °C	160 °C	170 °C	180 °C
<i>B. anthracis</i>	—	—	180	120	90	—	—
<i>Cl. tetani</i>	—	40	15	—	12	5	1
<i>Cl. botulinum</i>	120	60	50	25	20	10	5
Specie ambientali	—	—	—	180	60	50	15

Calore secco

La *stufa a secco* è costituita da un armadio metallico, rivestito di amianto, all'interno del quale, mediante resistenze elettriche, l'aria viene portata e mantenuta al grado di calore desiderato. La sterilizzazione si ottiene con temperature di 140 °C per 3 ore, oppure, più rapidamente, con temperature più elevate (mai al di sotto di 1 ora a 160 °C). Si usa per sostanze che possono essere alterate dal vapor d'acqua, come materiali anidri, polveri, grassi, glicerolo, e per la vetreria (pipette, matracci, ecc.).

PASTORIZZAZIONE = Sviluppata da Pasteur per conservare le bevande.

Metodo Classico: 65°C per 30'. Permette di eliminare solo alcune forme di microrganismi → è sufficiente ad uccidere i batteri del latte (i patogeni del latte, Salmonella, Brucella, ... non formano spore).

Oggi si usano temperature più alte

Pastorizzazione su strato sottile: 72° per 15'' (HTST), durata del latte 6 giorni a freddo

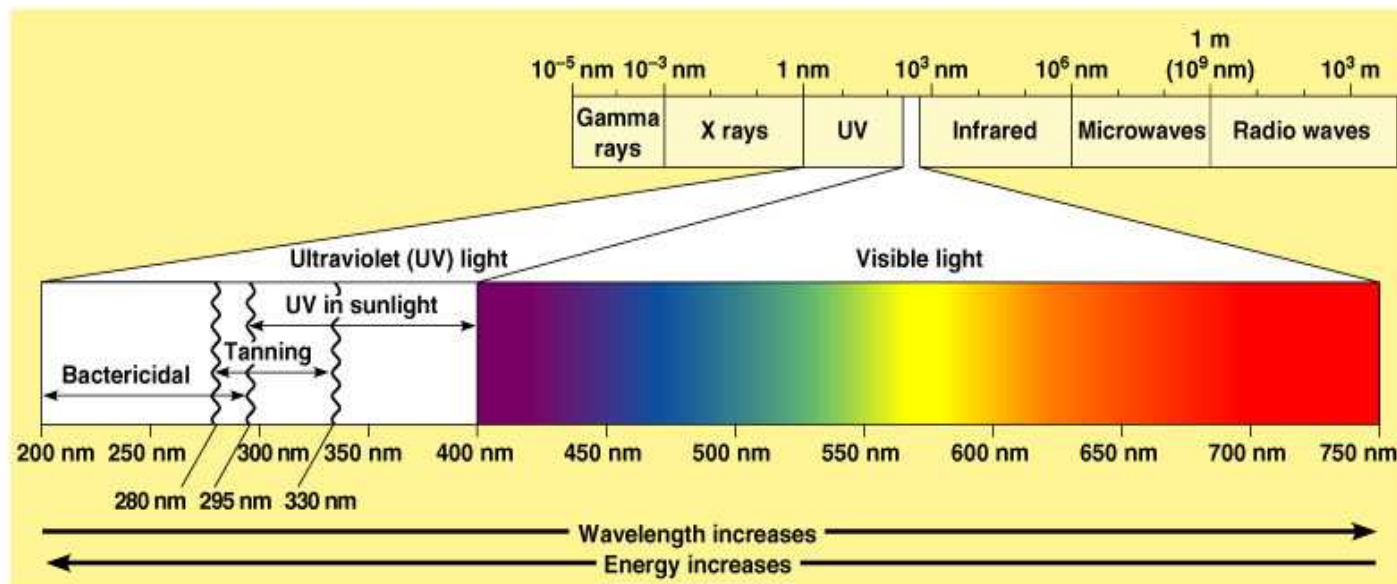
Pastorizzazione molto alta (UHT): 140°C per 3'', seguita da rapido raffreddamento sotto vuoto. In questo modo il latte può essere conservato a temperatura ambiente per 3-6 mesi.

TINDALIZZAZIONE = ripetuti cicli di riscaldamento ad alta temperatura e incubazione a 37° C per consentire la germinazione delle spore eventualmente presenti.

RADIAZIONI

RAGGI γ , X, fasci di elettroni ad alta energia (lunghezza d'onda <1 nm) agiscono direttamente sul DNA (rotture, mutazioni) e indirettamente attraverso la formazione di perossidi, che interagiscono con varie strutture cellulari.

RAGGI UV (260nm) agiscono sul DNA con azione mutagena, causano dimeri di timina \rightarrow blocco della replicazione. Usati per disinfettare ambienti e sale operatorie, sono poco penetranti.

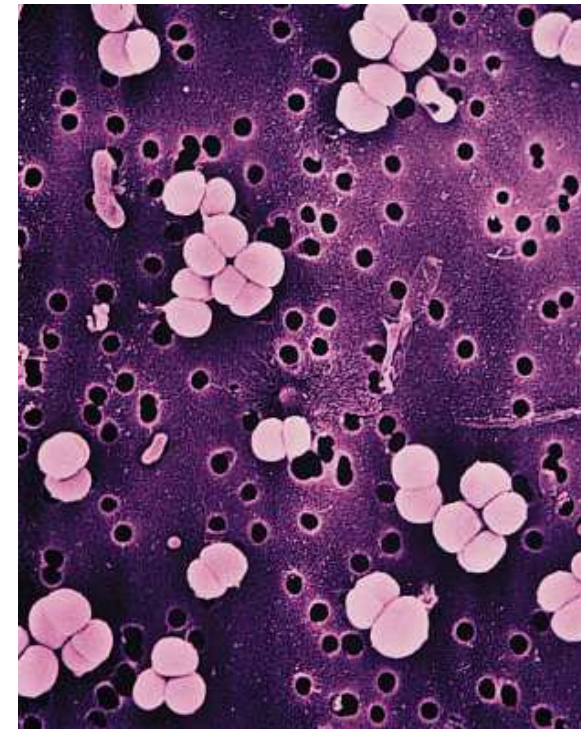
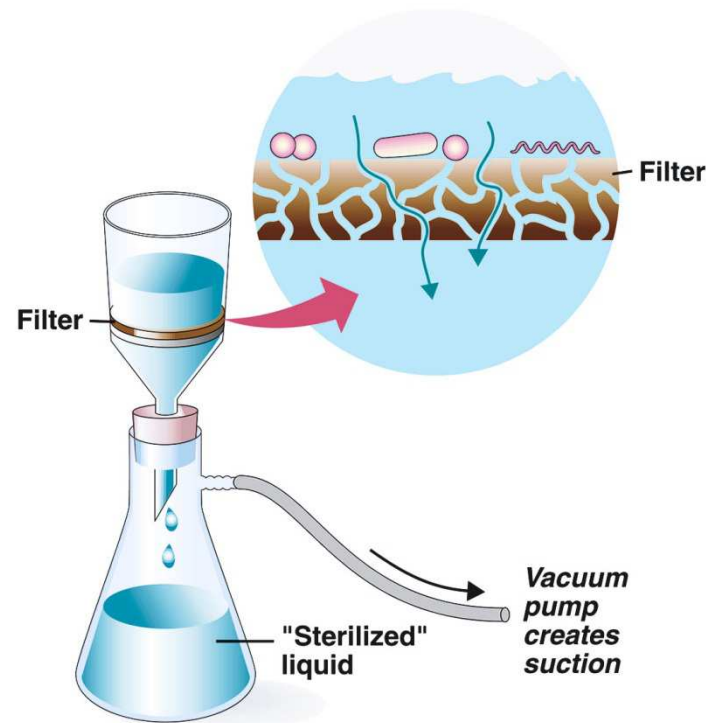


AGENTI MECCANICI

FILTRAZIONE

I filtri hanno pori di dimensione nota ($0.45\text{-}0.2\ \mu\text{m}$), in grado di trattenere i batteri. La filtrazione non uccide i batteri, ma li rimuove dal mezzo. Utile per sterilizzare sostanze termolabili.

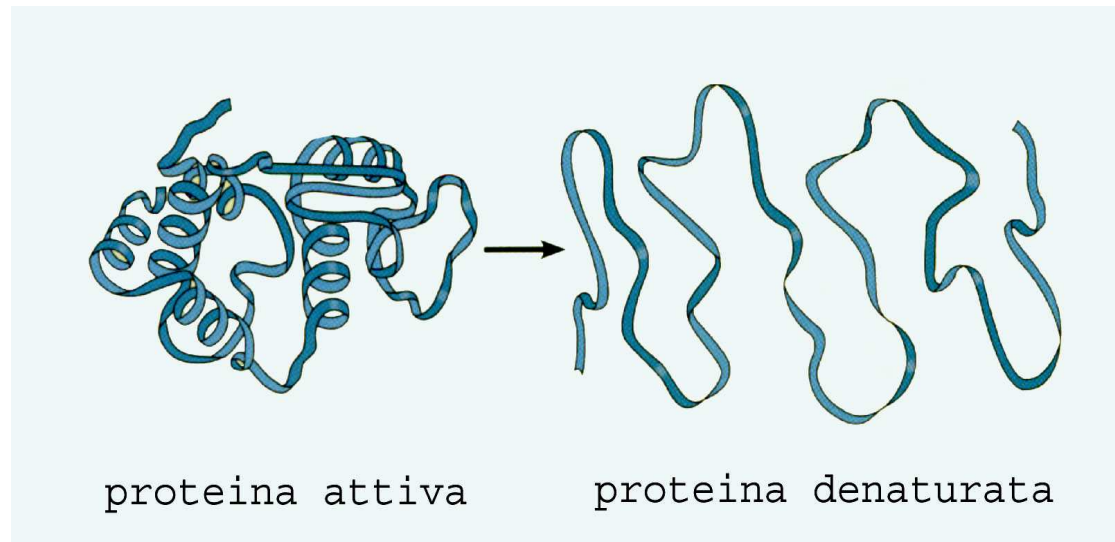
A seconda delle dimensioni dei pori, alcuni filtri possono trattenere anche molti virus (pori $0.1\ \mu\text{m}$).



AGENTI CHIMICI

Vari agenti chimici hanno azione disinfettante ed agiscono mediante:

1. denaturazione delle proteine (es. formaldeide, alcoli e fenoli)



2. ossidazione di gruppi funzionali di enzimi (es. perossidi, cloro, ipocloriti)

3. alterazione delle membrane (es. alcoli e fenoli).

I vari disinfettanti hanno diverso “potere d’azione disinfettante”. Quelli molto energici (es. formaldeide) sono tossici anche per le cellule umane.

Alcoli: non eliminano le endospore e alcuni virus. L'etanolo al 70% è molto più efficace nel denaturare le proteine, dell'etanolo puro perché la denaturazione delle proteine richiede la presenza di acqua.

Fenoli: denaturano le proteine, sciolgono le membrane. La loro tossicità limita l'utilizzo come antisettici della cute. Il più usato è un composto difenolico, la **clorexidina** che ha attività battericida mediante alterazione della permeabilità degli involucri sia dei Gram+ che Gram-.

Agenti alchilanti: L'alchilazione blocca i gruppi reattivi richiesti per essenziali processi metabolici. Alcuni di essi possono anche sterilizzare.

1. Formaldeide, glutaraldeide: inattivano le proteine sostituendosi all'H di gruppi aminici, ossidrilici, ecc (-NH₂, -OH, -COOH, -SH).
2. Ossido di etilene: è un gas attivo anche sulle spore, ma richiede tempi > a 4 ore. E' un gas tossico.



Camera sterilizzante a Gas (ossido di etilene)

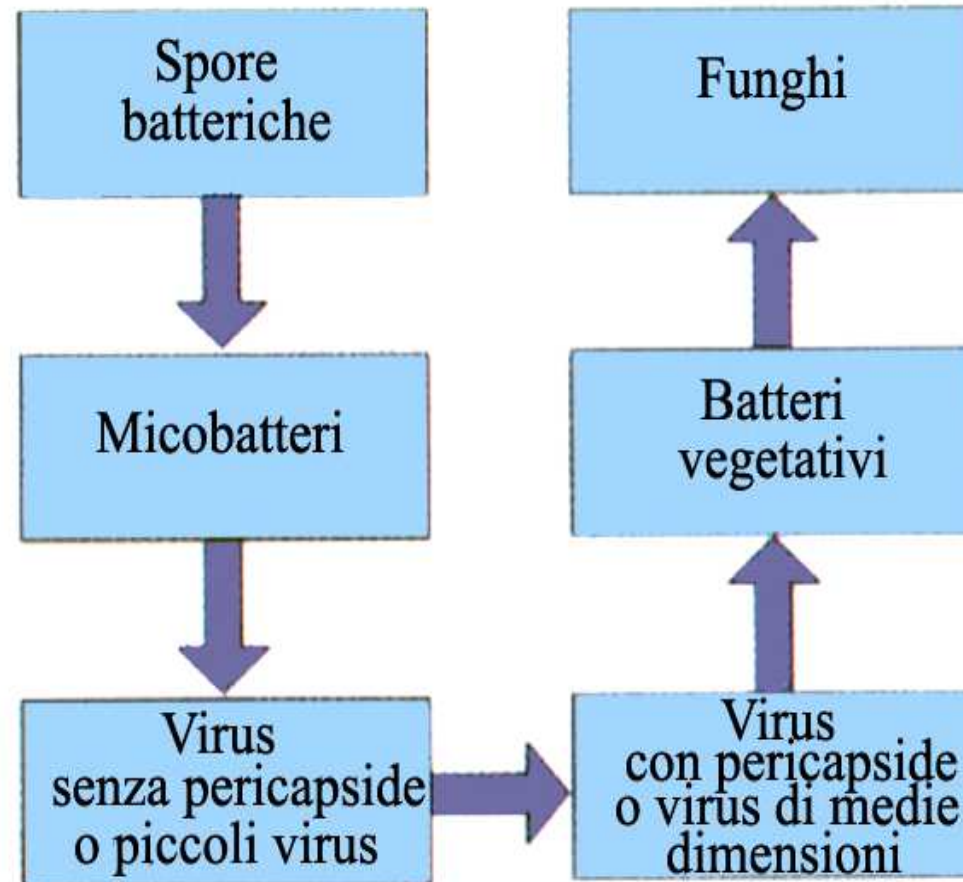
Alogeni: iodio (tintura di iodio) cloro (ipoclorito di sodio) ossidano a S-S i gruppi funzionali SH delle proteine alterandone la struttura

Tensioattivi:

anionici (sapone): diminuiscono la tensione superficiale, solubilizzano le molecole organiche e facilitano la rimozione meccanica dei batteri,

Cationici (composti dell'ammonio quaternario): battericidi che solubilizzano i lipidi di membrana e denaturano le proteine.

Ordine decrescente in base alla resistenza al germicida chimico



Alcuni comuni antisettici e disinfettanti

Sostanza	Azione	Usi
Etanolo (50-70%)	Denatura la proteine e solubilizza i lipidi	Antisettico sulla pelle
Isopropanolo (50-70%)	Denatura la proteine e solubilizza i lipidi	Antisettico sulla pelle
Formaldeide (8%)	Reagisce con gruppi NH₂, SH and COOH	Distrugge le spore
Tintura di iodio (2% I₂ in 70% alcol)	Inattiva le proteine	Antisettico sulla pelle
Cloro(Cl₂)	Forma acido ipocloroso (HClO), un forte agente ossidante	Disinfetta l'acqua per usi potabili; disinfettante generale
Nitrato di argento (AgNO₃)	Precipita le proteine	Antisettico generale, usato anche in oftalmologia
Cloruro di mercurio	Inattiva le proteine reagendo con i gruppi SH	Disinfettante, occasionalmente usato anche come antisettico
Detergenti (composti di ammonio quaternario)	Distrugge le membrane	Antisettico sulla pelle e disinfettante
Composti fenolici (lisoformio, esaclorofene, ecc.)	Denaturano le proteine e distruggono le membrane	Antisettici a bassa concentrazione, disinfettanti ad alta concentrazione
Ossido di etilene gas	Agente alchilante	Usato per sterilizzare oggetti sensibili al calore

MICOBATTERI

I micobatteri sono caratterizzati dalla presenza di una parete cellulare spessa: strato relativamente sottile di peptidoglicano legato a [arabino-galattani](#), [acidi micolici](#) e [glicolipidi fenolici](#).

Questa parete cellulare così complessa conferisce ai micobatteri il vantaggio di essere completamente impermeabili ad alcune delle sostanze più utilizzate nella terapia medica, compresi alcuni degli antibiotici più comuni: i micobatteri sono infatti sensibili solo alla [rifampicina](#) e ad alcuni derivati dell'[isoniazide](#), come l'[etanbutolo](#).

L'importanza di lavarsi le mani



Secondo il Ministero della Salute, almeno il 30% delle infezioni nosocomiali sono prevenibili : igiene personale ed ambientale, sorveglianza, corretta gestione ed isolamento del paziente, *“particolare riguardo al lavaggio delle mani del personale sanitario”*



Ignaz Semmelweiss

TABLE 3-2 Childbed Fever at the Vienna General Hospital						
DIVISION I (TEACHING UNIT)				DIVISION II (MIDWIFE UNIT)		
YEAR	BIRTHS	MATERNAL DEATHS	PERCENTAGE	BIRTHS	MATERNAL DEATHS	PERCENTAGE
1846 ^a	4010	459	11.4	3754	105	2.7
1848 ^b	3556	45	1.3	3219	43	1.3

^aNo handwashing.
^bFirst full year of chlorine handwashing

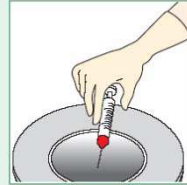
PRECAUZIONI UNIVERSALI

Misure di barriera

- guanti
- camici/grembiuli
- mascherine
- copricapo
- occhiali/coprifaccia



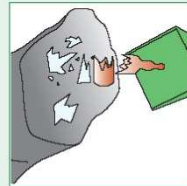
Corretto uso e smaltimento di aghi e taglienti



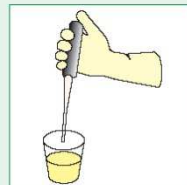
Lavaggio delle mani



Immediata decontaminazione di superfici sporche da materiali biologici



Adeguate gestione di campioni biologici



ANTIBIOTICI



Fotografia della piastra originale di Fleming del 1928



Alexander Fleming

ANTIBIOTICO = sostanza antibatterica naturale prodotta da microrganismi

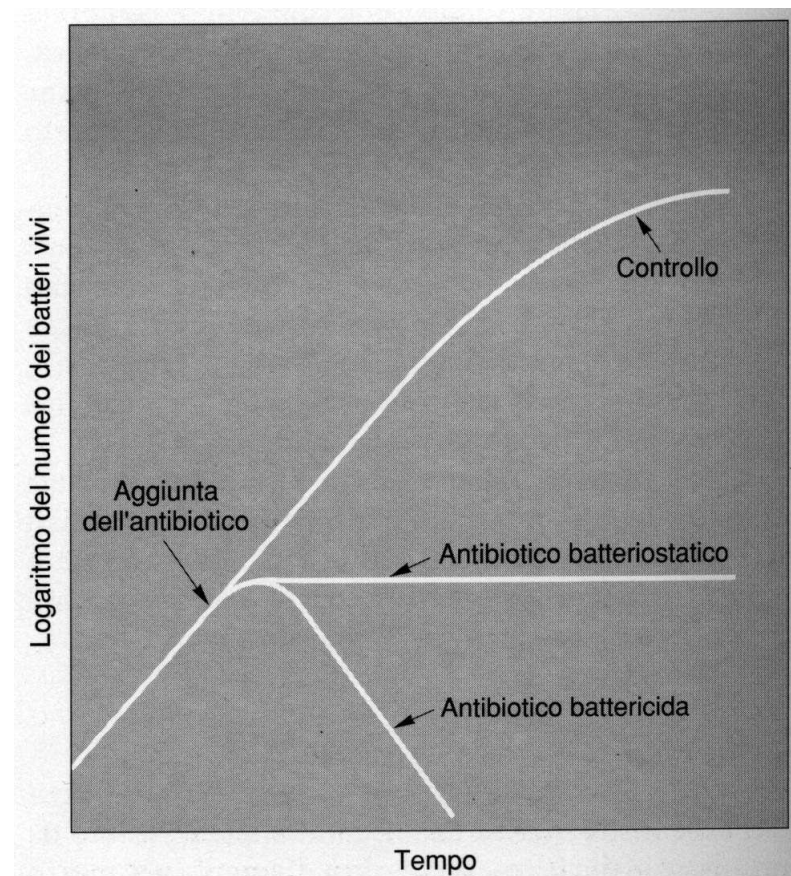
CHEMIOTERAPICO = antibatterico prodotto per sintesi

La distinzione non è assoluta, ed i due gruppi si sovrappongono, perché alcuni antibiotici oggi sono prodotti per sintesi, e ci sono farmaci semisintetici

FARMACI ANTIBATTERICI

Azione BATTERIOSTATICA = inibisce la moltiplicazione batterica, reversibile dopo l'allontanamento del farmaco. L'eradicazione del microrganismo dipende dal sistema immunitario e dai meccanismi di fagocitosi dell'ospite.

Azione BATTERICIDA = uccide i batteri, irreversibile. Generalmente richiede che i batteri siano in crescita.



CHEMIOTERAPICI

SULFAMIDICI: Agiscono come anti-metaboliti. Inibizione da competizione per analogia di struttura.

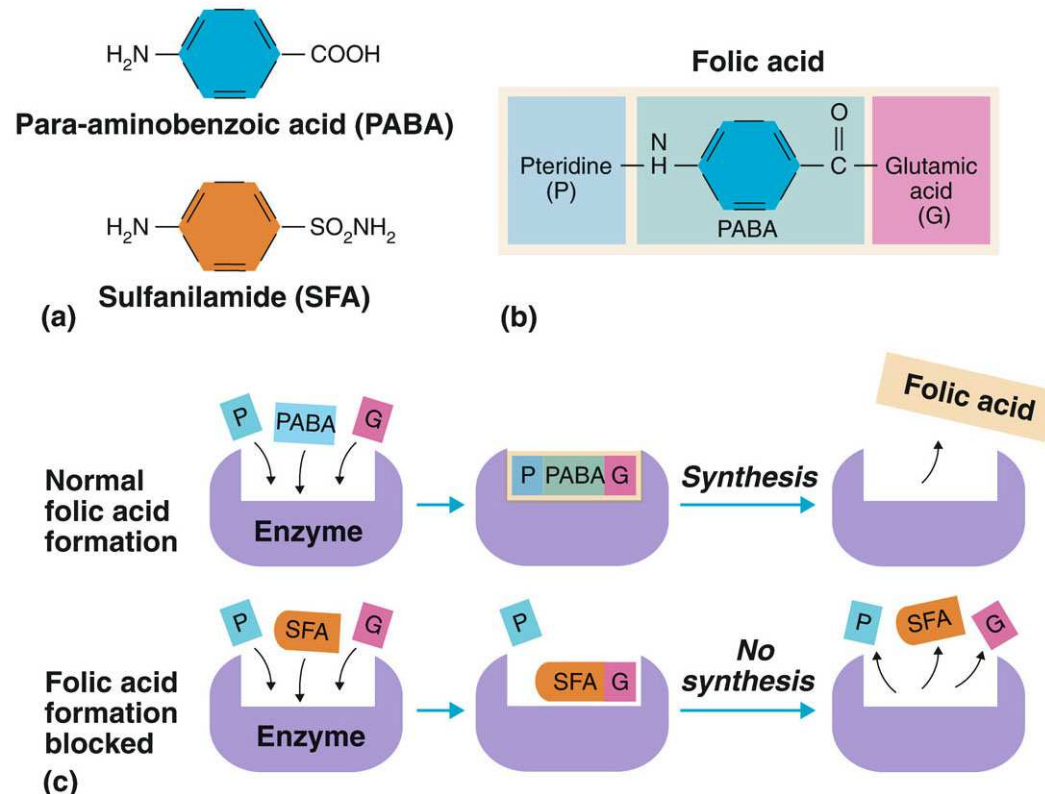
Azione **BATTERIOSTATICA** = si sostituiscono all'acido paramino-benzoico (PABA), precursore degli acidi folici. Gli acidi folici sono indispensabili per la biosintesi di nucleotidi ed aminoacidi.



Gerhard Domagk

1935: Prontosil, un colorante composto da sulfanilamide, usato per la cura della sifilide

1939: Nobel



SULFAMIDICI

Hanno una tossicità selettiva (limitata ai batteri) perché le cellule animali utilizzano gli acidi folici che sono presenti nella dieta (o sintetizzati da batteri intestinali). I batteri invece non riescono ad assorbire gli acidi folici dell'ambiente → li devono sintetizzare. (eccezione: **enterococchi**, che riescono ad utilizzare ac. folico preformato → **insensibili ai sulfamidici**).

L'azione dei sulfamidici ha sempre un tempo di latenza, necessario perché i batteri esauriscano le riserve di PABA.

I sulfamidici sono scarsamente efficaci in infezioni con necrosi e distruzione tissutale (ustioni, pus, ecc), perché vengono liberate notevoli quantità di aminoacidi e basi azotate.

ANTIBIOTICI

Gli antibiotici agiscono su strutture specifiche della cellula batterica:

1) INIBISCONO LA SINTESI DELLA PARETE CELLULARE

[le cellule animali non hanno parete]

2) INIBISCONO LA SINTESI PROTEICA

[i ribosomi batterici sono diversi da quelli eucariotici]

3) INIBISCONO LA SINTESI DI ACIDI NUCLEICI

[bersaglio: enzimi batterici]

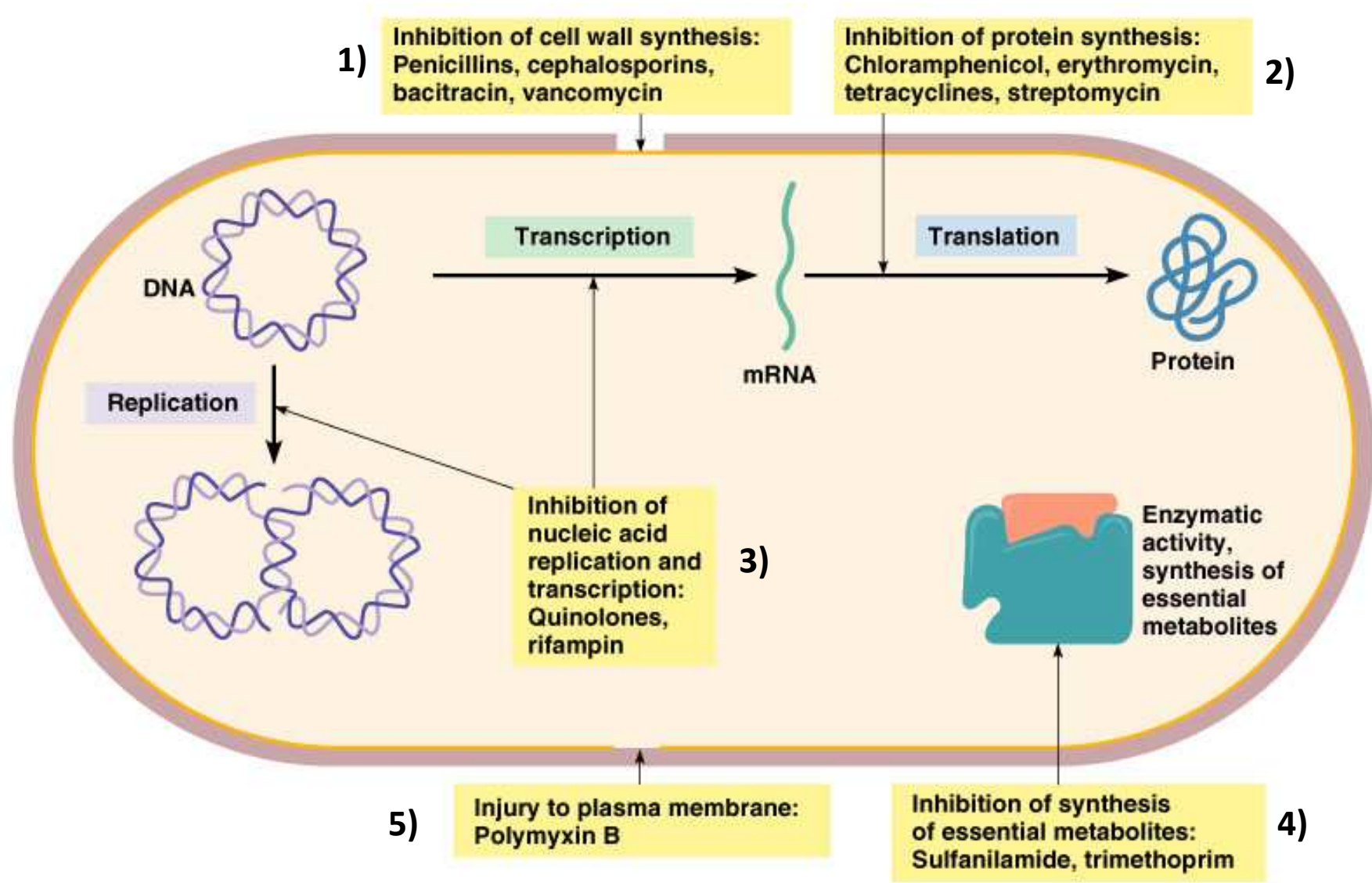
4) INIBISCONO LA SINTESI DI METABOLITI ESSENZIALI

[bersaglio: processi metabolici diversi da quelli eucariotici]

5) DISGREGANO LA MEMBRANA LIPIDICA ESTERNA DEI GRAM-

[la membrana delle cellule eucariotiche è diversa]

BERSAGLI DELL'AZIONE DEGLI ANTIBIOTICI

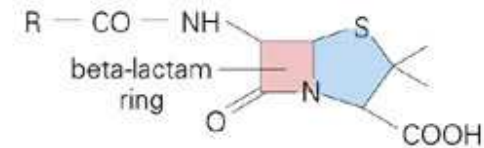


ANTIBIOTICI: Inibitori della sintesi della parete cellulare

ANTIBIOTICI β -LATTAMICI

(penicilline)

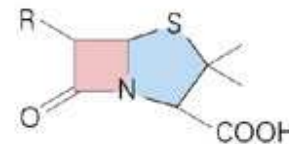
La maggior parte degli antibiotici attivi sulla parete cellulare sono i β -lattamici, così chiamati per la presenza di un anello tetratomico “ β -lattamico”:



members of the beta-lactam family

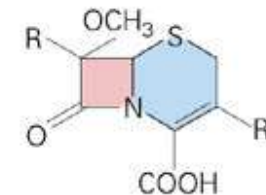
penicillins

e.g. benzyl penicillin, cloxacillin, flucloxacillin, ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, ticarcillin, azlocillin, mezlocillin, piperacillin



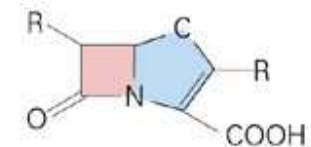
cephamycins

e.g. cefoxitin



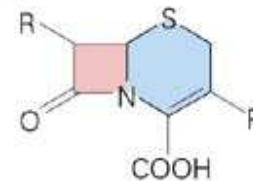
carbapenems

e.g. imipenem



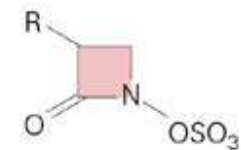
cephalosporins

e.g. cephalexin, cefaclor, cefadroxil, cefuroxime, cefamandole, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, ceftiofime.

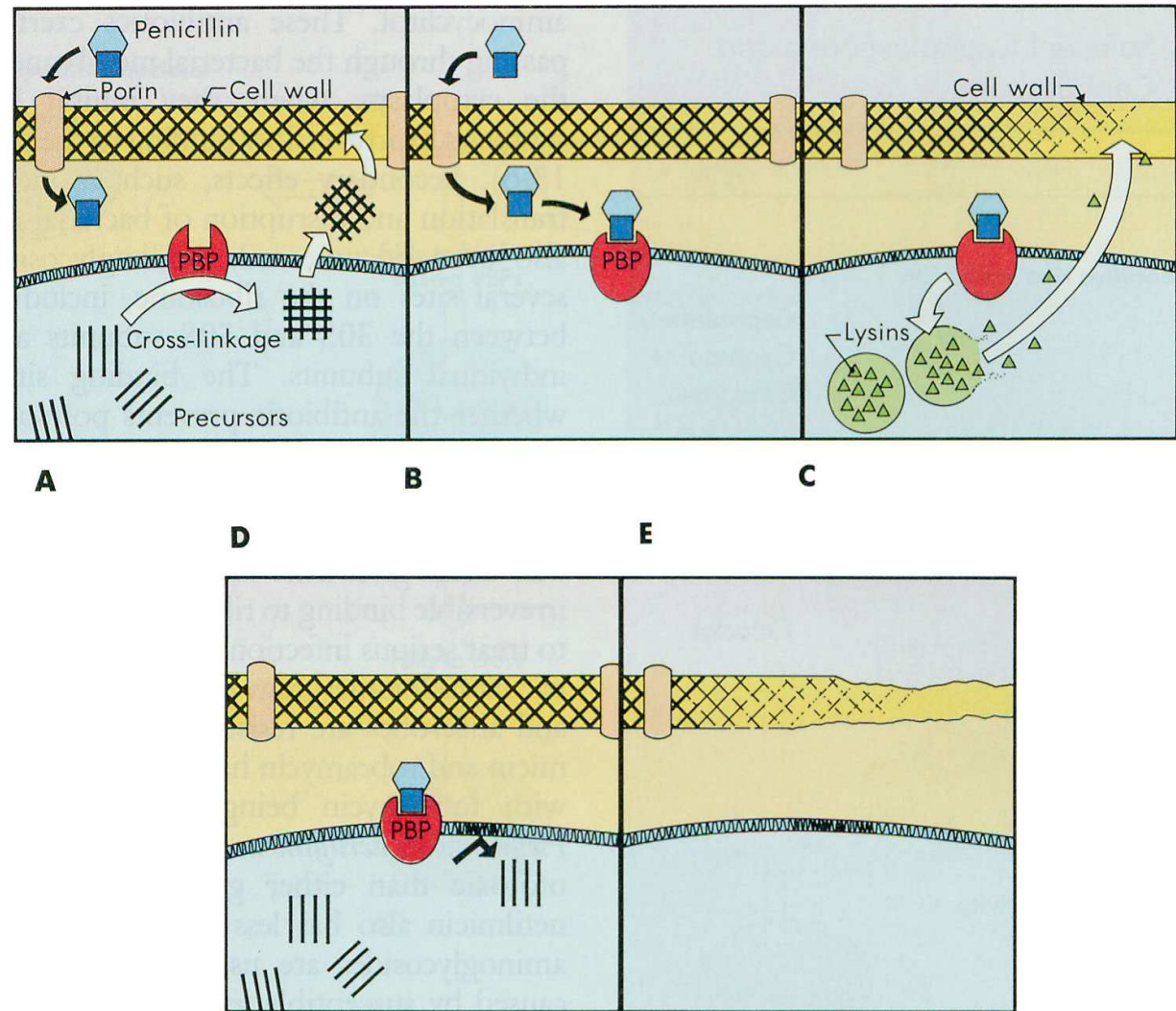


monobactams

e.g. aztreonam



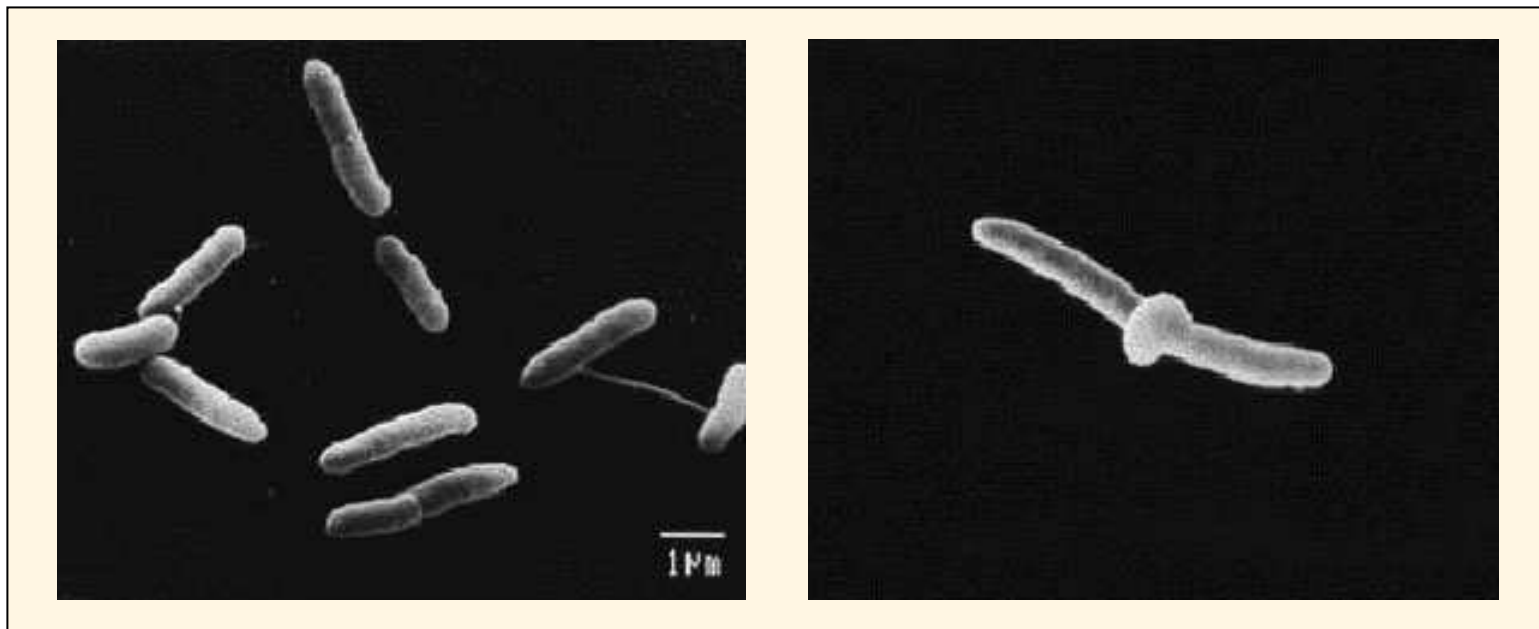
La sintesi della parete batterica è catalizzata da enzimi specifici (transpeptidasi, carbossipeptidasi, ecc) che vengono chiamati Penicillin Binding Proteins (PBP), perché possono legarsi ai farmaci β -lattamici con legame covalente. Questo legame impedisce il loro corretto funzionamento



ANTIBIOTICI β -lattamici

Quando i batteri in crescita* sono esposti a questi antibiotici, gli antibiotici si legano alle PBPs presenti nella membrana plasmatica → inibizione della sintesi di peptidoglicano → lisi:

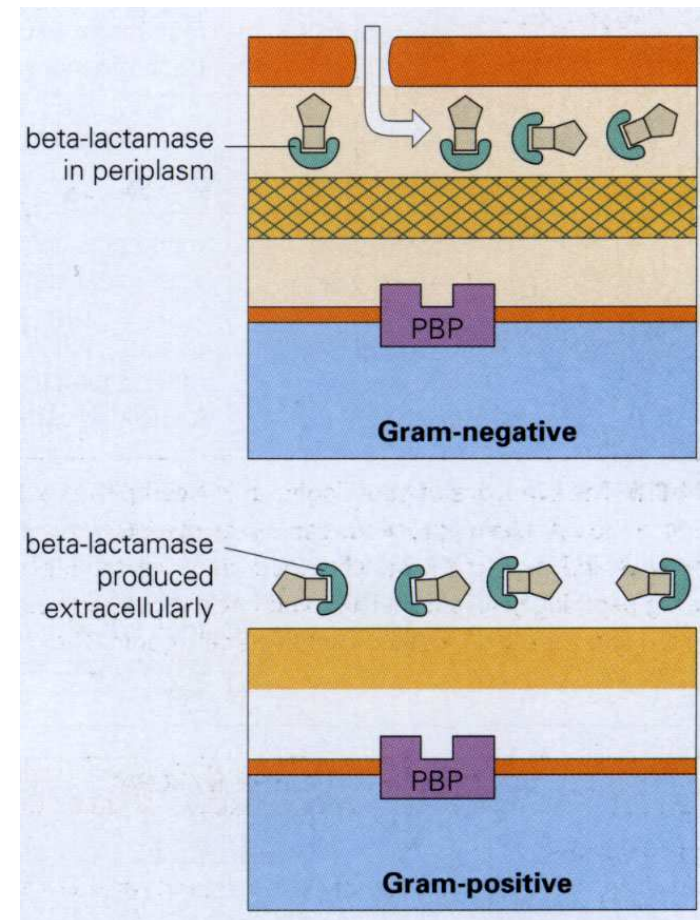
- 1) rottura meccanica del peptidoglicano: espansione del protoplasto → rottura della parete → fuoriuscita del protoplasto e lisi osmotica;
- 2) vengono attivati enzimi (amilasi, glicosilasi, ecc) “autolisine” che degradano la parete.



*Le penicilline sono attive solo su batteri in fase di crescita (sintesi di peptidoglicano)

Gli antibiotici β -lattamici possono essere inattivati dalle β -lattamasi prima di raggiungere le PBP, bersaglio della loro azione.

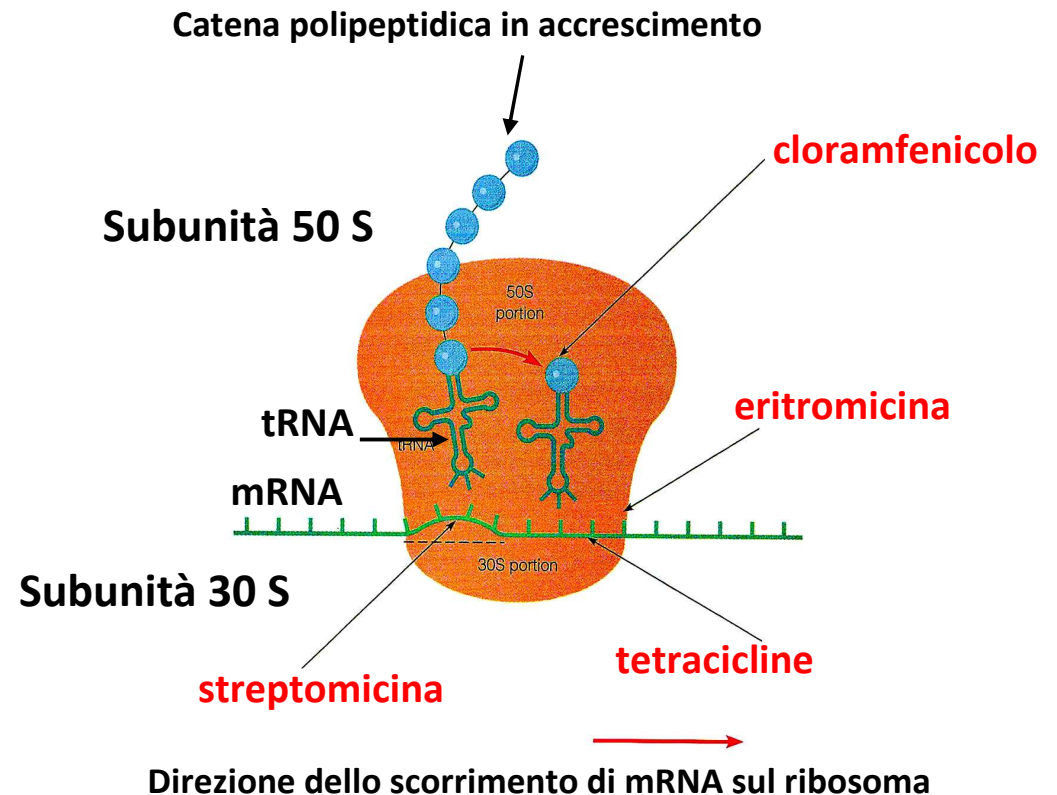
β -lattamasi = Enzimi molto diffusi sia in Gram+ che in Gram-, idrolizzando l'anello β -lattamico \rightarrow inattivazione della penicillina. Sono spesso codificate da plasmidi \rightarrow facili scambi genetici, anche fra batteri molto diversi.



INIBITORI DELLA SINTESI PROTEICA

Ribosomi	Coefficiente di sedimentazione	Subunità	N° proteine	Specie di RNA
batterici	70S	30S + 50S	~ 50	23, 16, 5S
eucariotici	80S	40S + 60S	~ 80	23, 18, 5.8, 5S

La maggior parte di questi antibiotici interagisce con i RIBOSOMI batterici, sensibilmente diversi dai ribosomi eucariotici ⇒ azione specifica contro i batteri.



INIBITORI DELLA SUBUNITA' 30S:

TETRACICLINE: Batteriostatici ad ampio spettro. Legandosi alla subunità 30S impediscono l'attacco del primo tRNA.

AMINOGLICOSIDICI (es. Streptomicina) . Battericidi, si legano irreversibilmente alla subunità 30S ⇒ blocco della sintesi proteica. Sono generalmente molto polari, non passano facilmente gli involucri esterni dei batteri. Però sinergizzano con i β-lattamici ⇒ la parete è danneggiata ⇒ facilitato l'assorbimento dell'aminoglicoside. Usati solo nelle infezioni abbastanza gravi, perché hanno una certa tossicità (orecchio, rene).

INIBITORI DELLA SUBUNITA' 50S:

MACROLIDI = Batteriostatici. Eritromicina il farmaco più usato, previene la traslocazione sul ribosoma

CLORAMFENICOLO = Batteriostatico ad ampio spettro, blocca la formazione del legame peptidico. Ha seri effetti tossici ⇒ può inibire la funzione del midollo osseo ⇒ anemia aplastica in ~ 1/40.000 pazienti trattati. Per le sue ridotte dimensioni e caratteristiche chimiche riesce ad entrare nei mitocondri delle cellule del midollo osseo i cui ribosomi sono inibiti dal farmaco. Da usare solo per gravi infezioni (meningite).

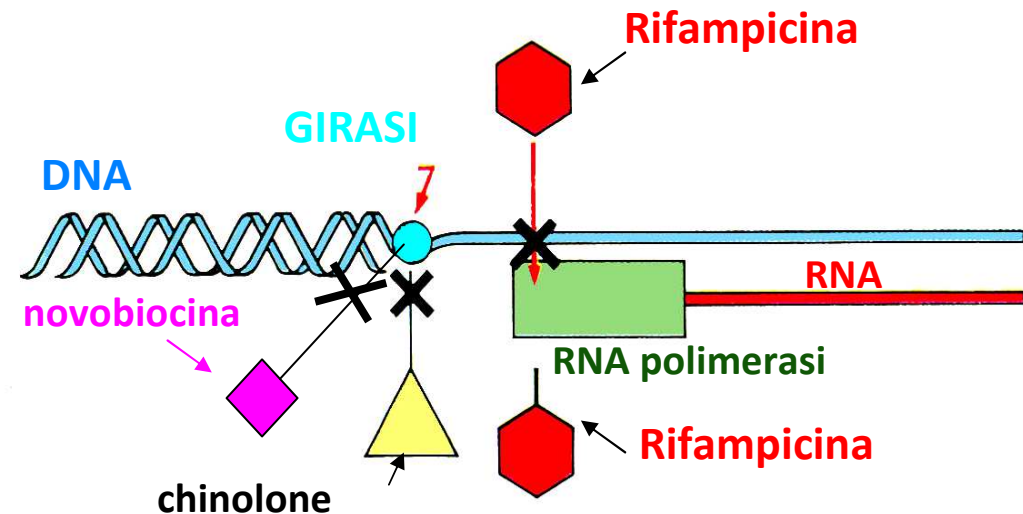
INIBITORI DELLA SINTESI DEGLI ACIDI NUCLEICI

INIBITORI SINTESI DNA

NOVOBIOCINA = si lega alla subunità B della girasi batterica ed inibisce l'attacco dell'ATP; azione sinergica a quella dei chinoloni (si legano alla subunità A della girasi batterica).

INIBITORI SINTESI RNA

RIFAMICINA = antibiotico naturale; derivato semisintetico = rifampicina. Particolarmente usata nella terapia della tubercolosi. Interferisce con la fase di inizio della trascrizione, legandosi all'RNA polimerasi batterica (che è diversa dalle RNA polimerasi eucariotiche; azione selettiva).



ANTIBIOTICI CHE AGISCONO SULLA MEMBRANA

POLIMIXINE = Meccanismo d'azione simile ai disinfettanti. Attive verso i Gram-, si legano alla membrana esterna, alterandone le proprietà ⇒ fuoriuscita di metaboliti. Sono selettive perché hanno molta affinità per lipidi presenti nella membrana batterica (LPS, fosfatidil-etanolamina) e poca per la fosfatidilcolina (presente nella membrana eucariotica ma non in quella batterica). Attivi anche su batteri non in fase di accrescimento.

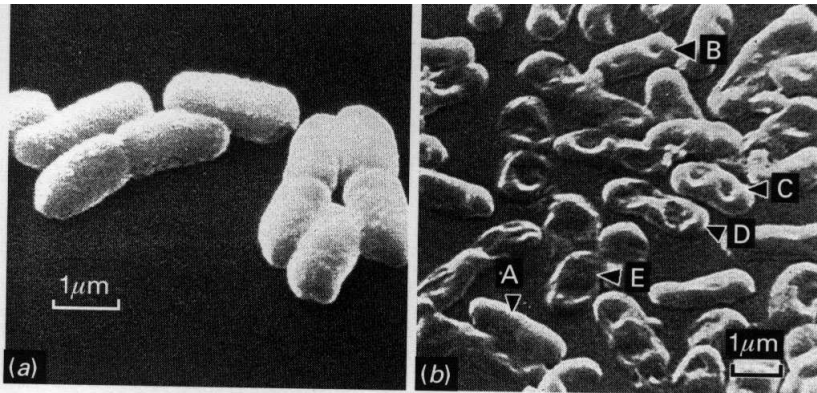
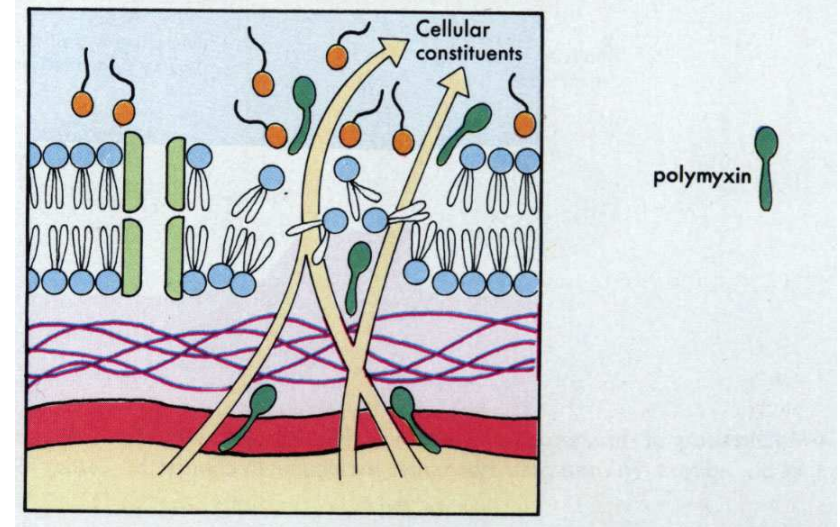
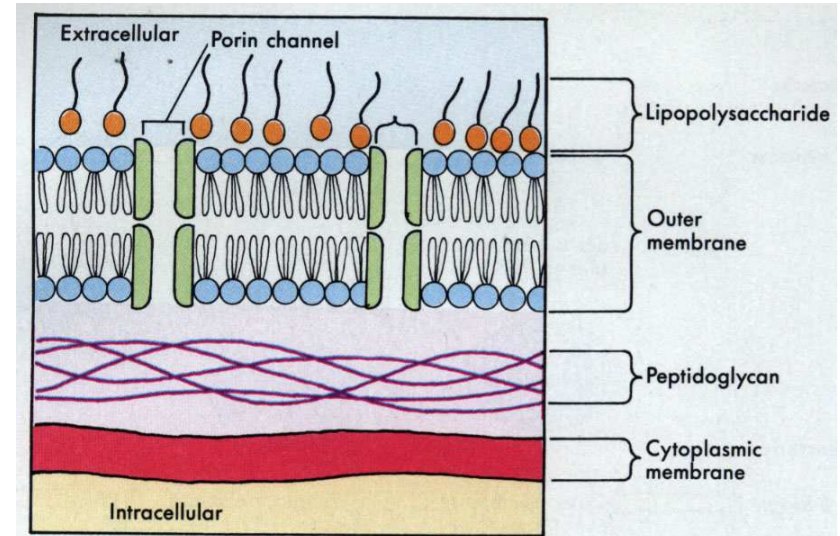


Figura 14.18
Fotografia al microscopio a scansione di *E. coli*. (a) Cellule non trattate. (b) Cellule esposte 30 minuti a 10 μg/ml di polimixina B. Le lettere dalla A alla E indicano l'aumento del danno indotto dall'antibiotico.



CATEGORIE DI ANTIBIOTICI

Inibitori della sintesi della parete cellulare:

Penicilline → Gram+

Cefalosporine → Gram+ e Gram-

Altri β-lattamici, (es. Carbapenem), Acido clavulonico, Vancomicina

Inibitori della sintesi proteica:

Ribosomi subunità 30S:

Aminoglicosidi

Cloranfenicolo

Tetraciclina

Ribosomi subunità 50S:

Macrolidi

Inibitori della sintesi di acidi nucleici:

DNA (replicazione)

Novobiocina

Chinoloni e acido Nalidixico

RNA (trascrizione)

Rifamicine

Sostanze che disgregano la struttura lipidica della membrana plasmatica:

Polimixine

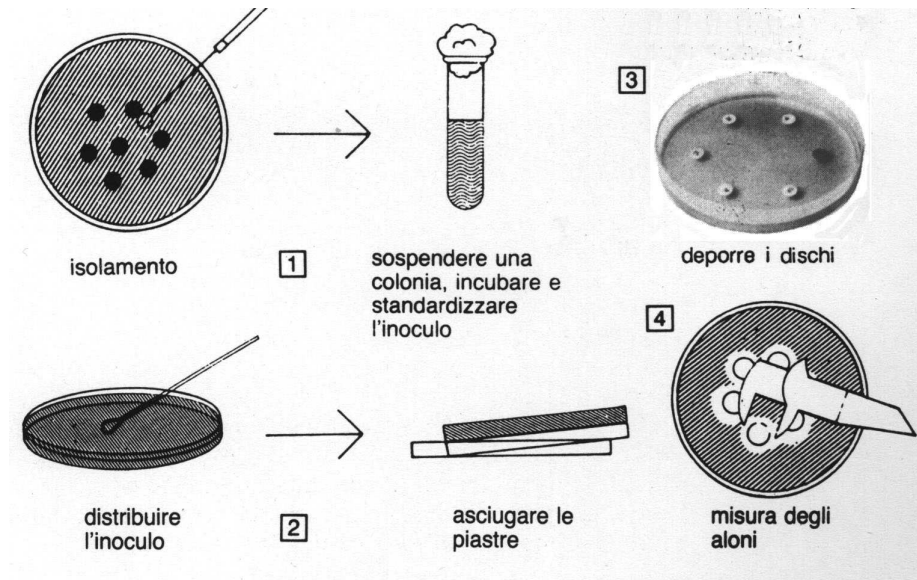
SCELTA DEI FARMACI ANTIBATTERICI

La somministrazione di un antibatterico deve essere sempre mirata.

La diagnosi clinica di malattia da infezione (es. polmonite, meningite, infezione urinaria) non identifica precisamente il patogeno e non permette di determinare la sensibilità ai farmaci. Si usa quindi l'ANTIBIOGRAMMA.



SCELTA DEI FARMACI ANTIBATTERICI



ANTIBIOGRAMMA INDIRETTO: prima si esegue l'isolamento dell'agente patogeno dal materiale patologico, poi si esegue l'antibiogramma sul ceppo isolato.

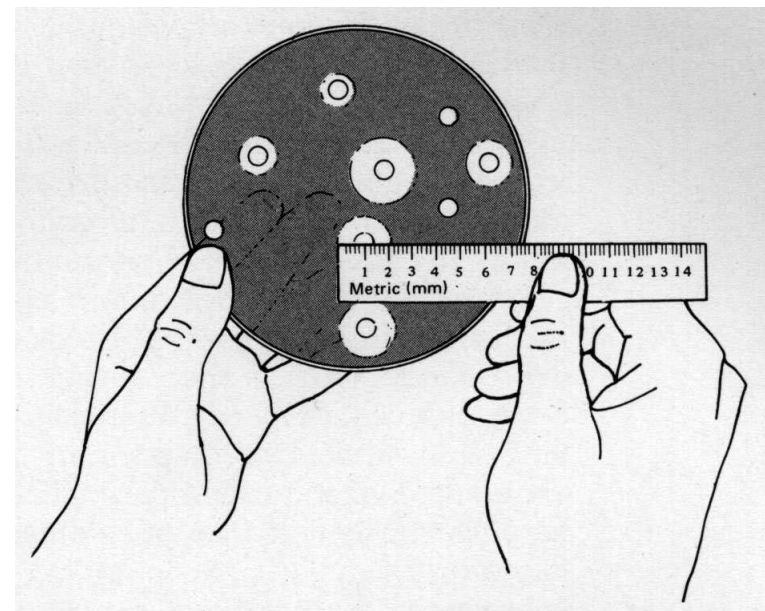
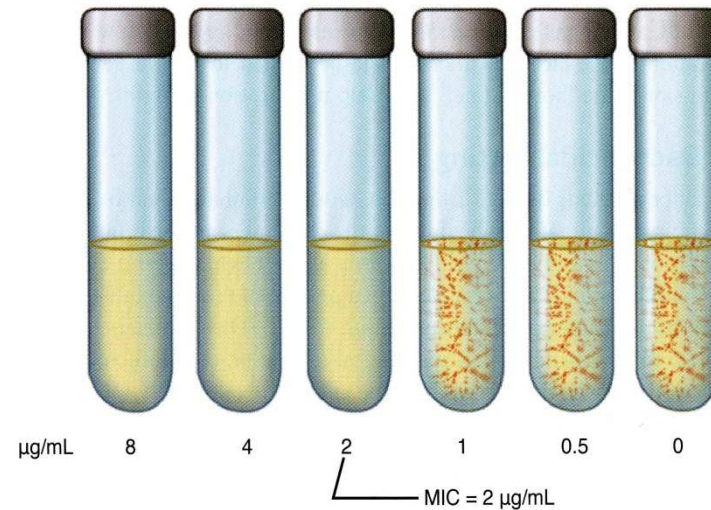
ANTIBIOGRAMMA DIRETTO: eseguito direttamente sul materiale patologico. Ha il vantaggio di una maggiore velocità (non è necessario isolare il batterio patogeno) ma se crescono specie batteriche diverse - di cui una sola patogena - ci sono problemi nella valutazione del risultato.

SCELTA DEI FARMACI ANTIBATTERICI

La capacità del farmaco di inibire la crescita batterica viene espressa come *concentrazione minima inibente* (MIC), la più bassa concentrazione di farmaco in grado di inibire la crescita del batterio.

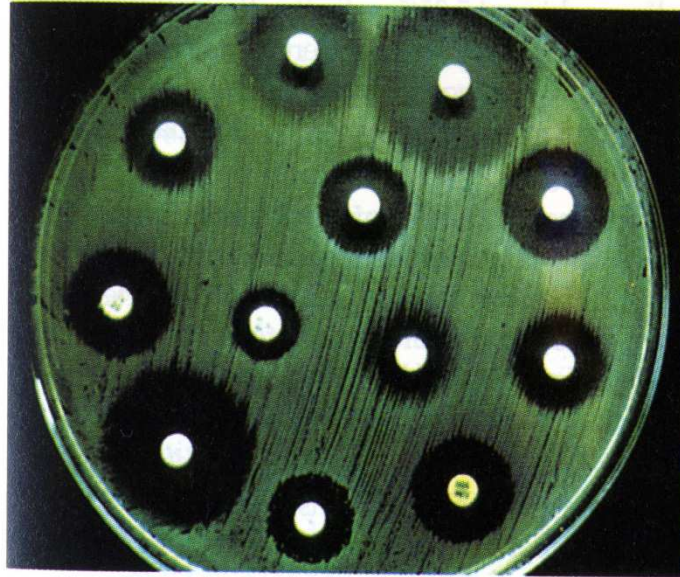
Per determinare la MIC si inocula la stessa quantità di batteri in provette (o micropiastre) contenenti concentrazioni scalari del farmaco oppure si piastra su terreno agarizzato utilizzando apposite strisce con gradienti predefiniti del farmaco (Etest).

In pratica, esiste una relazione lineare fra MIC e alone di inibizione della crescita nell'antibiogramma.



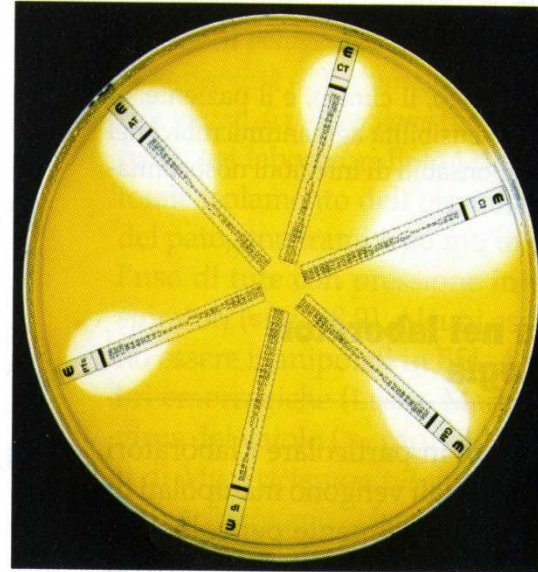
SCelta DEI FARMACI ANTIBATTERICI

Metodo Kirby-Bauer

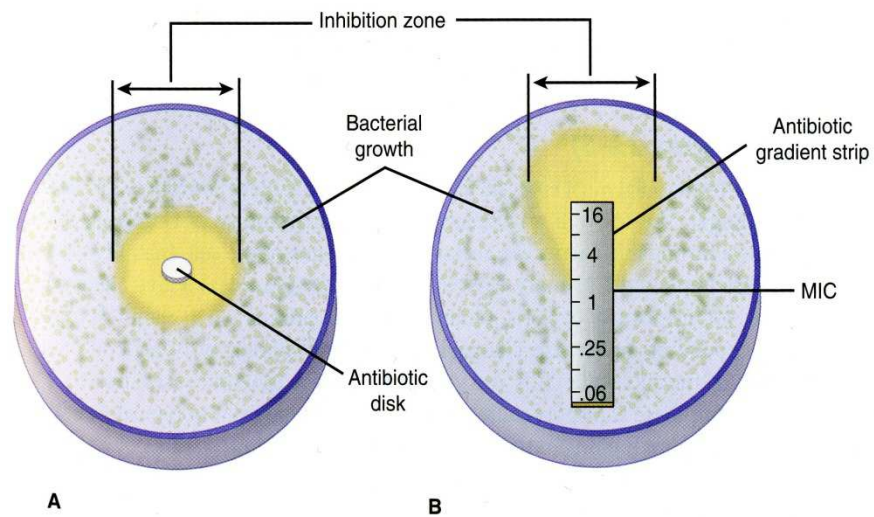


Miles/ScienceVu

Etest

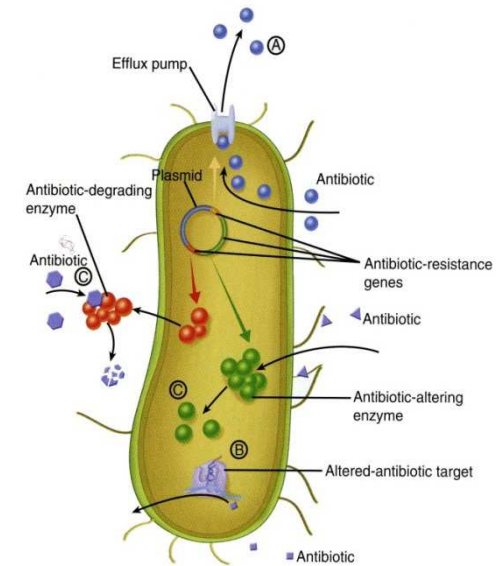


AB BIODISK



MECCANISMI DI RESISTENZA

1. La struttura inibita dall'antibiotico può essere assente es. i micoplasmi non hanno la parete, e sono insensibili alle penicilline.
2. Produzione di un enzima che altera il farmaco, rendendolo inattivo; es. stafilococchi hanno β -lattamasi che rompono l'anello lattamico di molte penicilline.
3. Modificazione della struttura su cui il farmaco agisce.
4. Modificazione della permeabilità cellulare, es. i Gram negativi sono impermeabili alla penicillina G.
5. Aumentata produzione di un metabolita antagonista del farmaco.
6. Utilizzazione di una linea metabolica alternativa a quella inibita.



PRINCIPI DI DIAGNOSI DELLE MALATTIE BATTERICHE

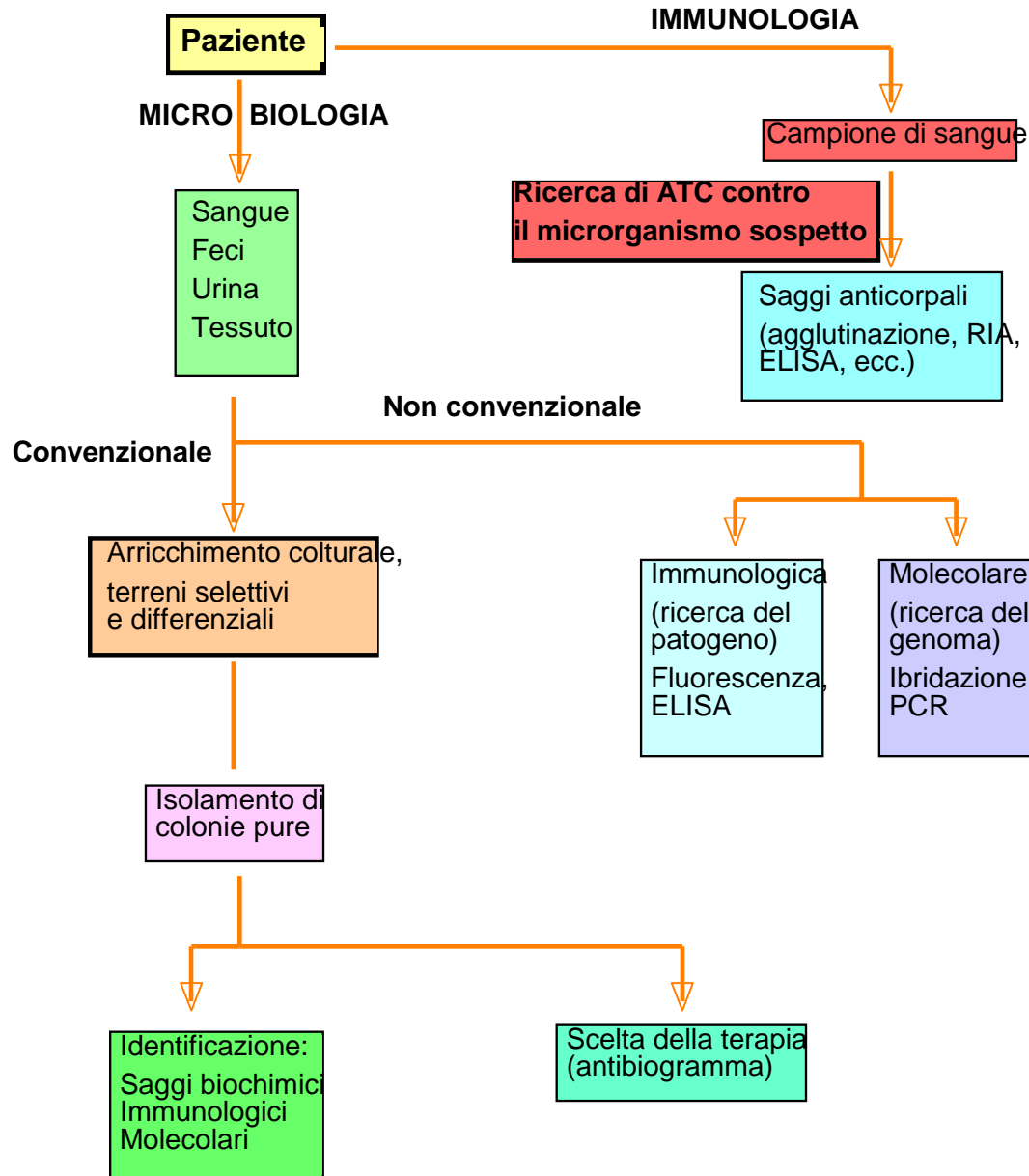
Diagnosi di laboratorio di malattia infettiva → DIRETTA mediante identificazione dell'agente patogeno

→ INDIRETTA mediante identificazione di anticorpi (Atc) specifici

ACCERTAMENTO DIRETTO:

1. Esame microscopico
2. Mediante tecniche immunologiche
3. Ricerca colturale
4. Mediante tecniche di biologia molecolare

Metodi per la diagnosi delle malattie infettive



Il materiale patologico necessario per l'accertamento diretto, varia secondo la malattia ed il decorso dell'infezione.

E' PERO' SEMPRE MOLTO IMPORTANTE COME SI ESEGUONO IL PRELIEVO, IL TRASPORTO E LA CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE DA ESAMINARE:

- 1) Il materiale prelevato deve essere rappresentativo dell'infezione (es. sangue in una setticemia, liquor in una meningite, urina in una cistite, feci in un'enterite) e se possibile eseguito prima dell'inizio della terapia antibiotica.**
- 2) Il prelievo deve sempre essere eseguito in condizioni di asepsi e conservato in contenitori sterili.**
- 3) Il momento del prelievo è critico per alcuni materiali patologici: es. il prelievo di sangue per un emocoltura andrebbe eseguito durante gli accessi febbrili, mentre l'urina della prima minzione del mattino è la più indicata per un'urinocoltura.**
- 4) Il materiale prelevato deve essere trasportato al laboratorio nel più breve tempo possibile ed immediatamente esaminato. Se non è possibile, occorre mantenerlo a temperature adeguate (da +4°C a -70°C a seconda del patogeno ricercato).**

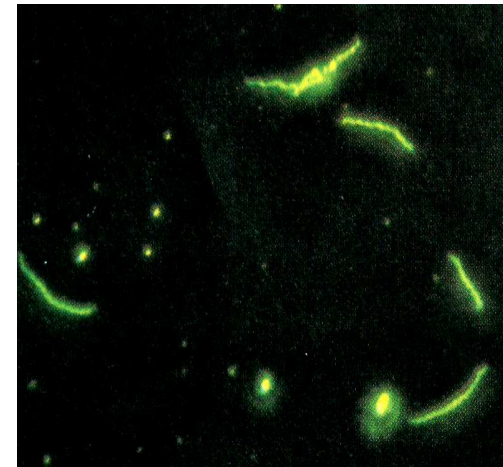
1. Esame microscopico

→ Con microscopio ottico dopo COLORAZIONE. Ad es. la colorazione di Gram serve per orientare la prosecuzione delle analisi.

Per certi campioni già la presenza di batteri nel campione indica la patologia in atto (es. batteri nel sangue o nel liquido cefalorachidiano, in quanto normalmente sono sterili).

Dopo colorazione di Ziel Nielsen in caso di sospetta tubercolosi polmonare (la colorazione è diagnostica per i micobatteri).

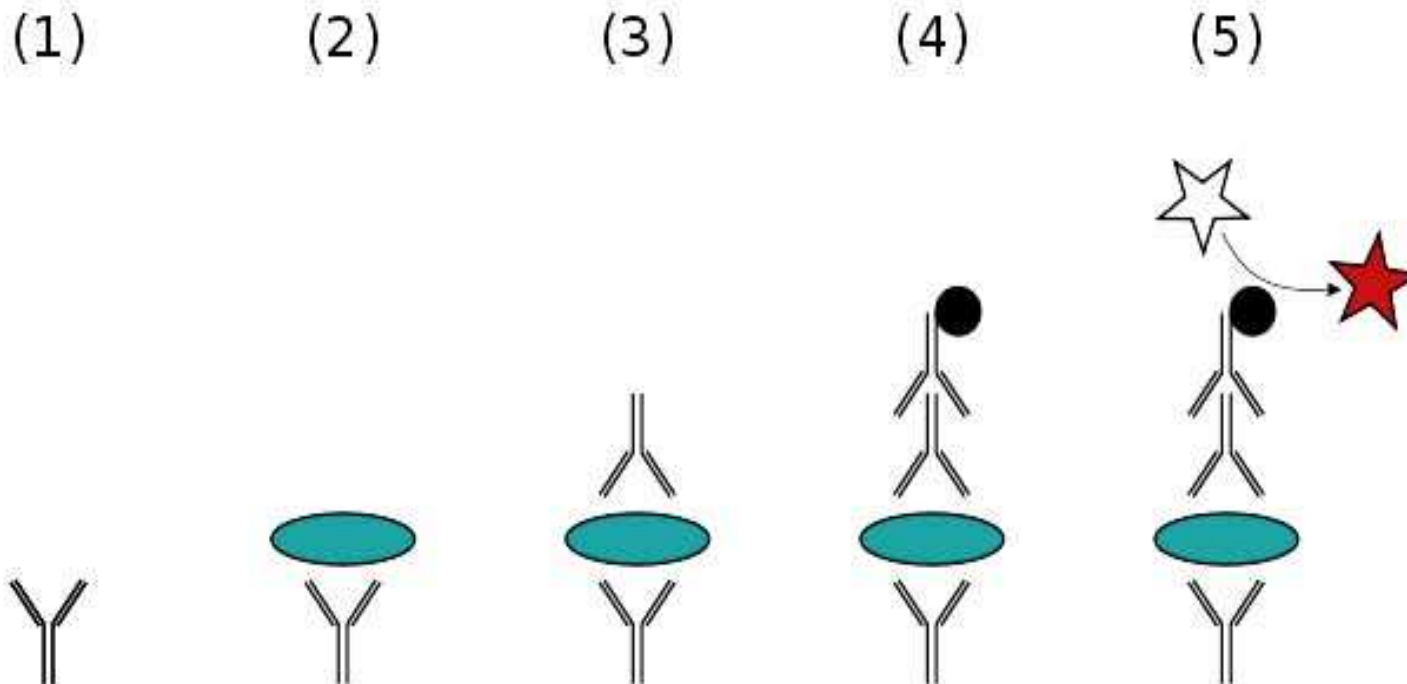
→ Con microscopio ottico dopo IMMUNOFLUORESCENZA utilizzando anticorpi monoclonali marcati con fluoresceina.



Treponema pallidum evidenziato mediante Ab monoclonali marcati con isotiocianato di fluoresceina

2. Tecniche immunologiche:

→ abbinando l'impiego di anticorpi monoclonali a tecniche immunoenzimatiche (ELISA) o radioimmunologiche (RIA).



Esempio di ELISA (a sandwich) per la ricerca di ATG. Il legame dell'ATG nel siero del paziente all'ATC specifico legato alla piastra è rivelato mediante il legame di un ATC secondario specifico e di un anti-IgG (o IgM) marcato con un enzima. La formazione del complesso viene evidenziata tramite l'aggiunta del substrato cromogeno

REAZIONI IMMUNOENZIMATICHE (ELISA): gli Atc possono essere coniugati con alcuni enzimi (es.:perossidasi, fosfatasi alcalina) senza alterarne la capacità di combinazione con gli Atg corrispondenti. La formazione dell'immunocomplesso viene rivelata aggiungendo il substrato ed i reattivi necessari ad evidenziare l'attività dell'enzima, il quale deve essere in grado di catalizzare una reazione il cui composto terminale sia colorato. Si possono evidenziare sia Atg che Atc

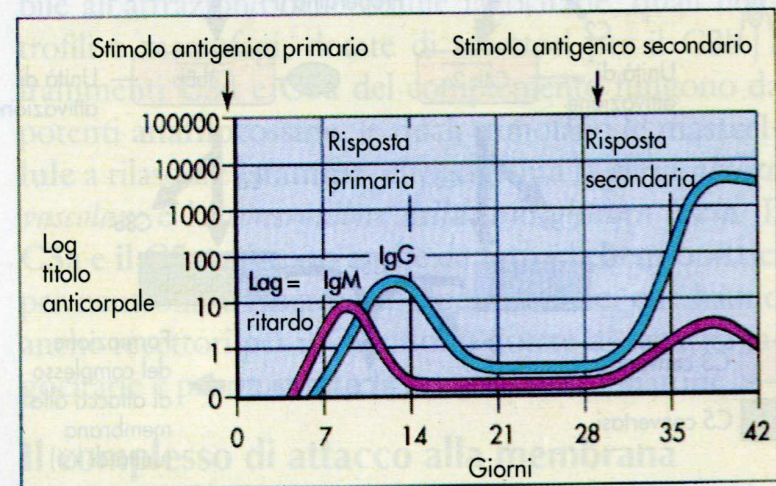
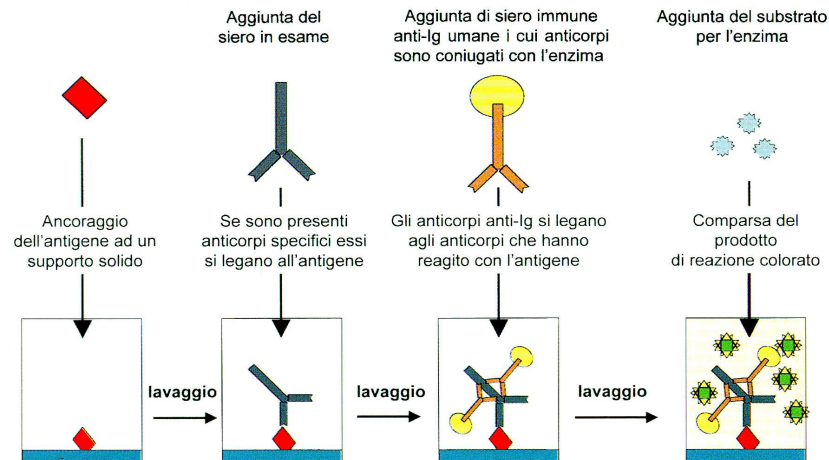
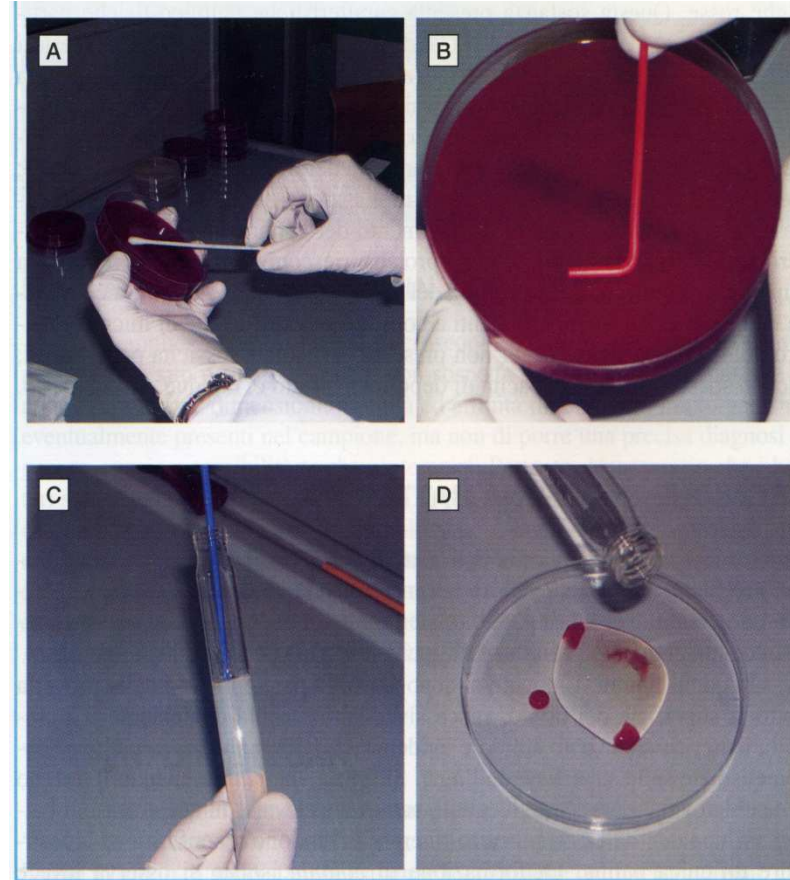
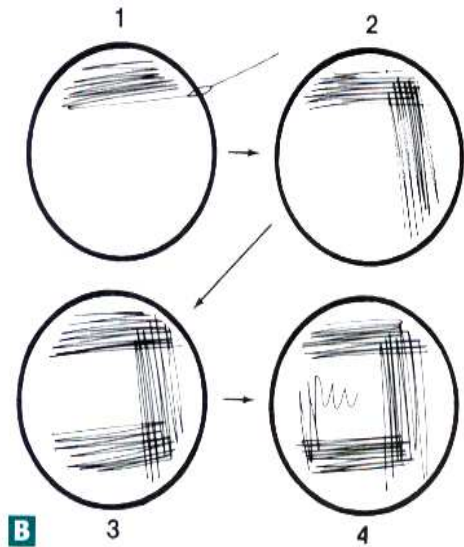


FIGURA 12-7 Fasi della risposta immunitaria. la risposta primaria compare dopo un periodo di latenza (ritardo = "lag"). La risposta di tipo IgM è la risposta più precoce. La risposta secondaria (risposta anamnestic) raggiunge titoli più elevati, dura più a lungo ed è prevalentemente una risposta di tipo IgG.

3. Ricerca colturale



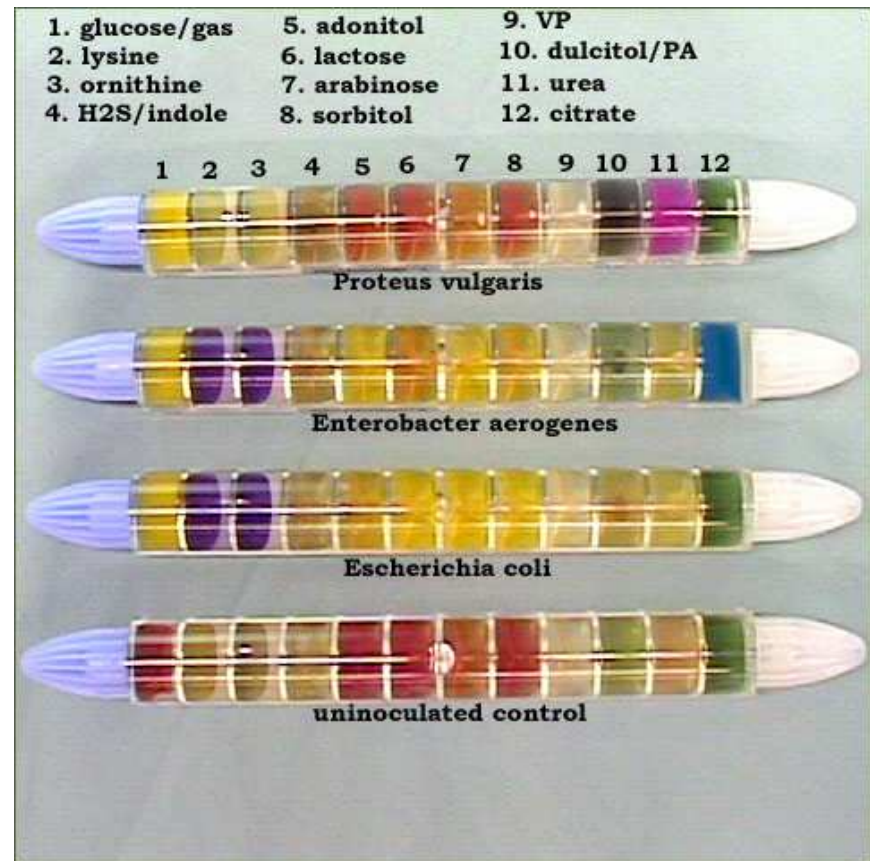
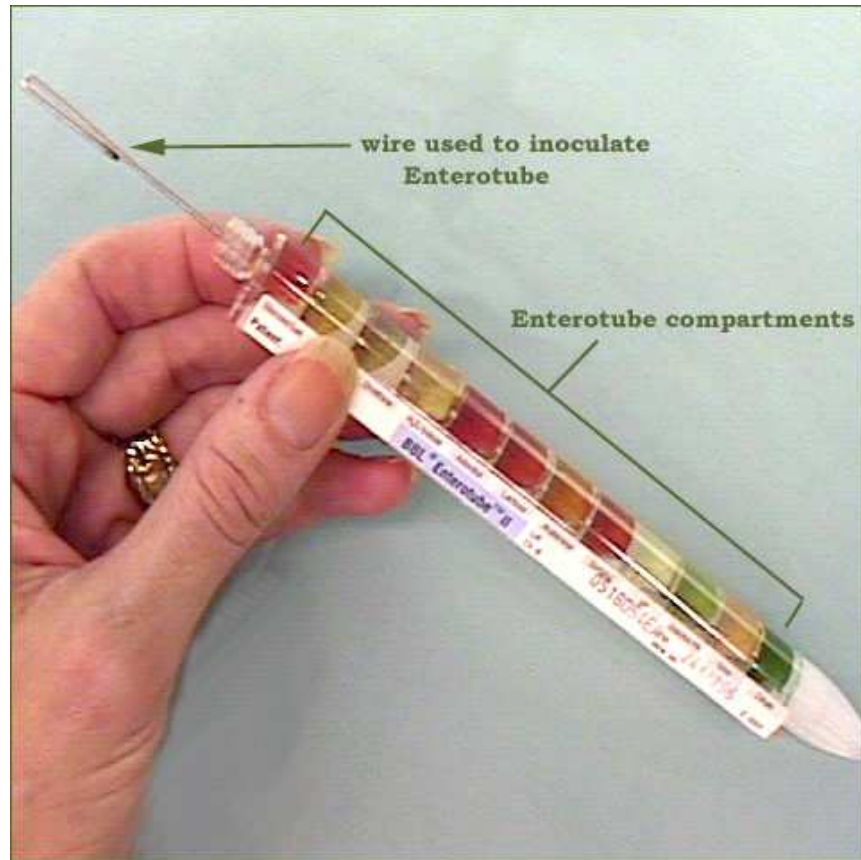
Tecniche di semina: A) strisciamiento, B) spatolamento, C) Infissione, D) Inclusionione

Lo scopo della ricerca colturale è l'isolamento del microrganismo patogeno in coltura pura. L'isolamento in coltura pura è il **REQUISITO INDISPENSABILE** per procedere all'identificazione dell'agente infettante.

Uso di terreni appropriati, generalmente solidi, insemenzati con la giusta concentrazione di inoculo → sviluppo di colonie separate. Prelevando le singole colonie, si possono allestire poi colture pure.

Prove di fermentazione e altre proprietà biochimiche:

Enterotubo (identificazione batteri enterici)



Prove di fermentazione e altre proprietà biochimiche:

API E20 - sistema per identificare gli enterobatteri

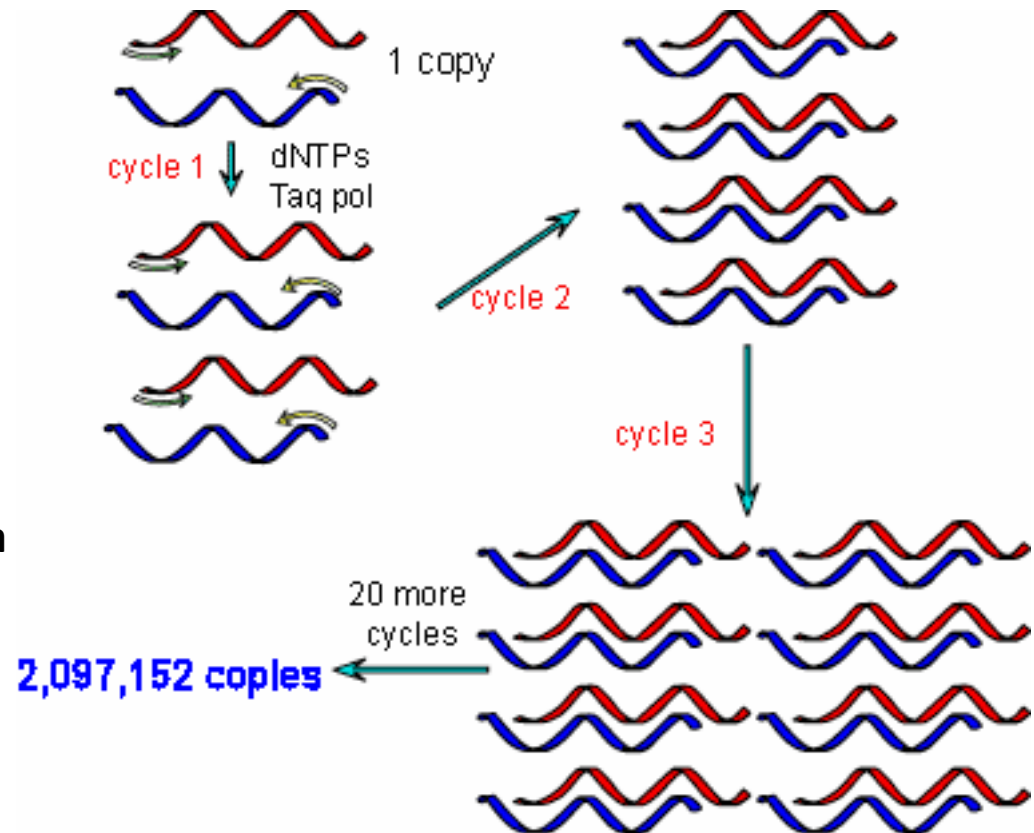
Una striscia di plastica con 20 mini-provette viene inoculata con una sospensione batterica pura in soluzione tampone. Dopo incubazione (24 h 37°C) si leggono le reazioni colorimetriche. I risultati (+, -) sono convertiti in un numero, che identifica la specie batterica (tramite manuale e sistema computerizzato)



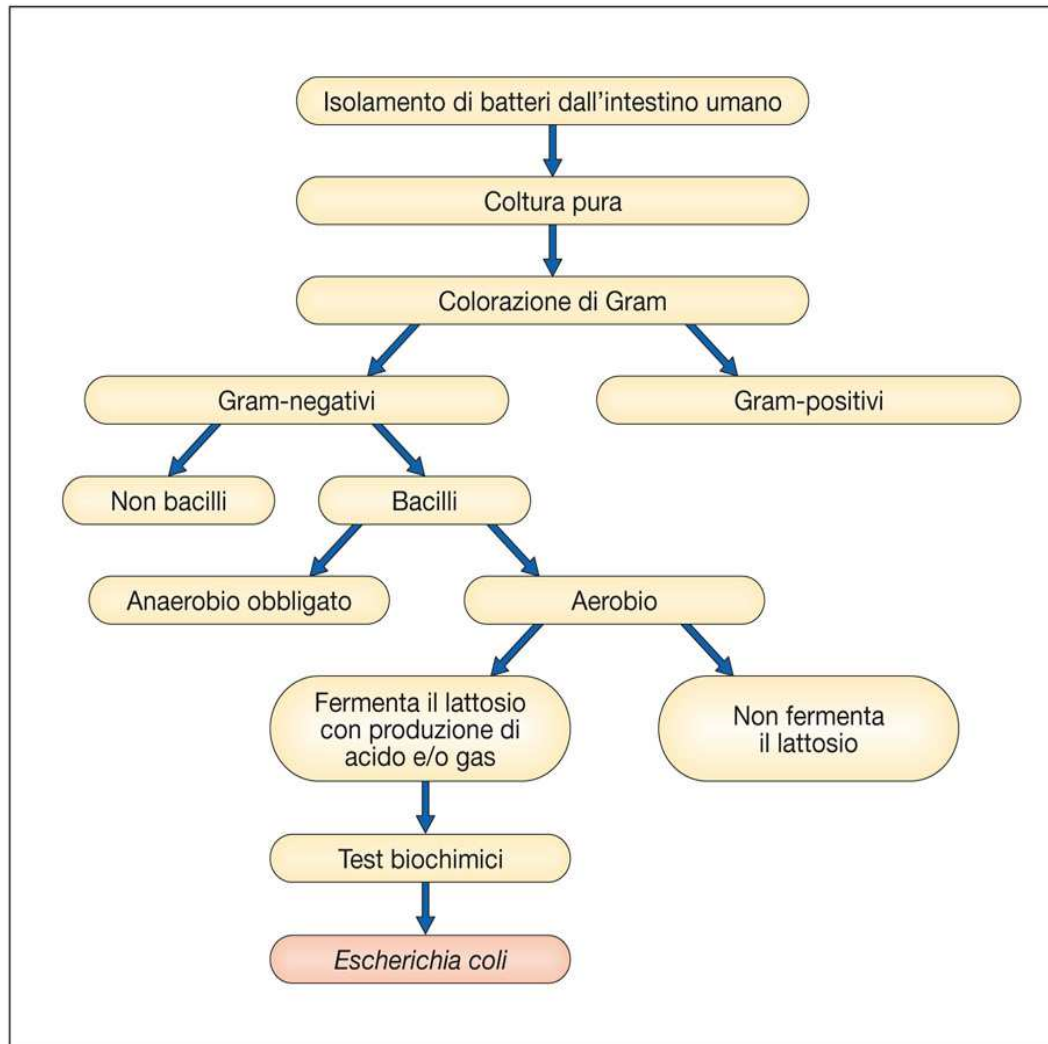
4. Mediante tecniche di biologia molecolare

→ **PCR AMPLIFICAZIONE DI ACIDI NUCLEICI = reazione di polimerizzazione a catena. Consente di sintetizzare sequenze di DNA in vitro.**

Si utilizzano corte sequenze di oligonucleotidi (primers) che ibridano con l'inizio e la fine del frammento di DNA che si vuole amplificare. Le due eliche di DNA vengono separate mediante calore. Ogni elica costituisce il bersaglio per un primer. La Taq polimerasi (una DNA polimerasi che funziona ad alte temperature) riconosce il primer ibridato al bersaglio e sintetizza un filamento di DNA complementare alla sequenza bersaglio, così si sintetizza un nuovo filamento di DNA, che viene a sua volta amplificato



Esempio di procedura per l'identificazione di *Escherichia coli*



DIFESE ANTIMICROBICHE:

BARRIERE NATURALI (cute, muco, acidità gastrica)

DIFESE IMMUNITARIE INNATE NON ANTIGENE- SPECIFICHE (cellule NK, interferone, febbre, macrofagi)

**DIFESE IMMUNITARIE ADATTATIVE ANTIGENE-SPECIFICHE
(anticorpi, linfociti T)**

MECCANISMI DI DIFESA DALLE INFEZIONI

Mediante le barriere naturali e le secrezioni:

Le componenti corporee a contatto con l'ambiente esterno producono secrezioni, che hanno due modalità di azione:

meccanica: es. le secrezioni dei bronchi intrappolano i batteri, e le ciglia presenti sulle cellule delle mucose le trasportano verso l'esterno

chimica: le secrezioni possono essere acide (sudore) o alcaline (bile) → il cambiamento di pH impedisce la crescita microbica. Lacrime, muco e saliva contengono sostanze antibatteriche (es. lisozima, distrugge la parete di peptidoglicano).

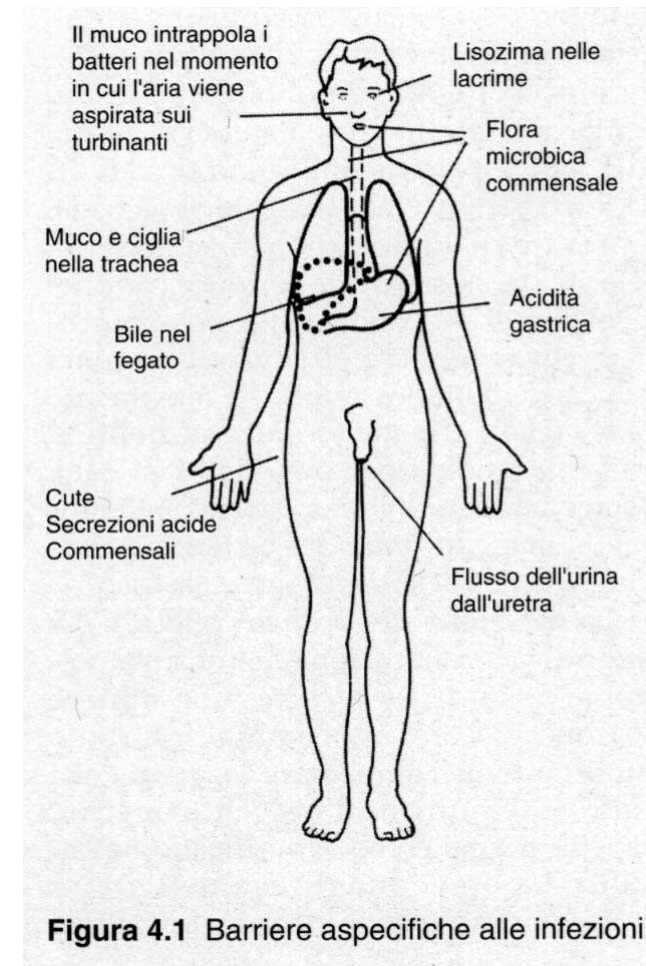
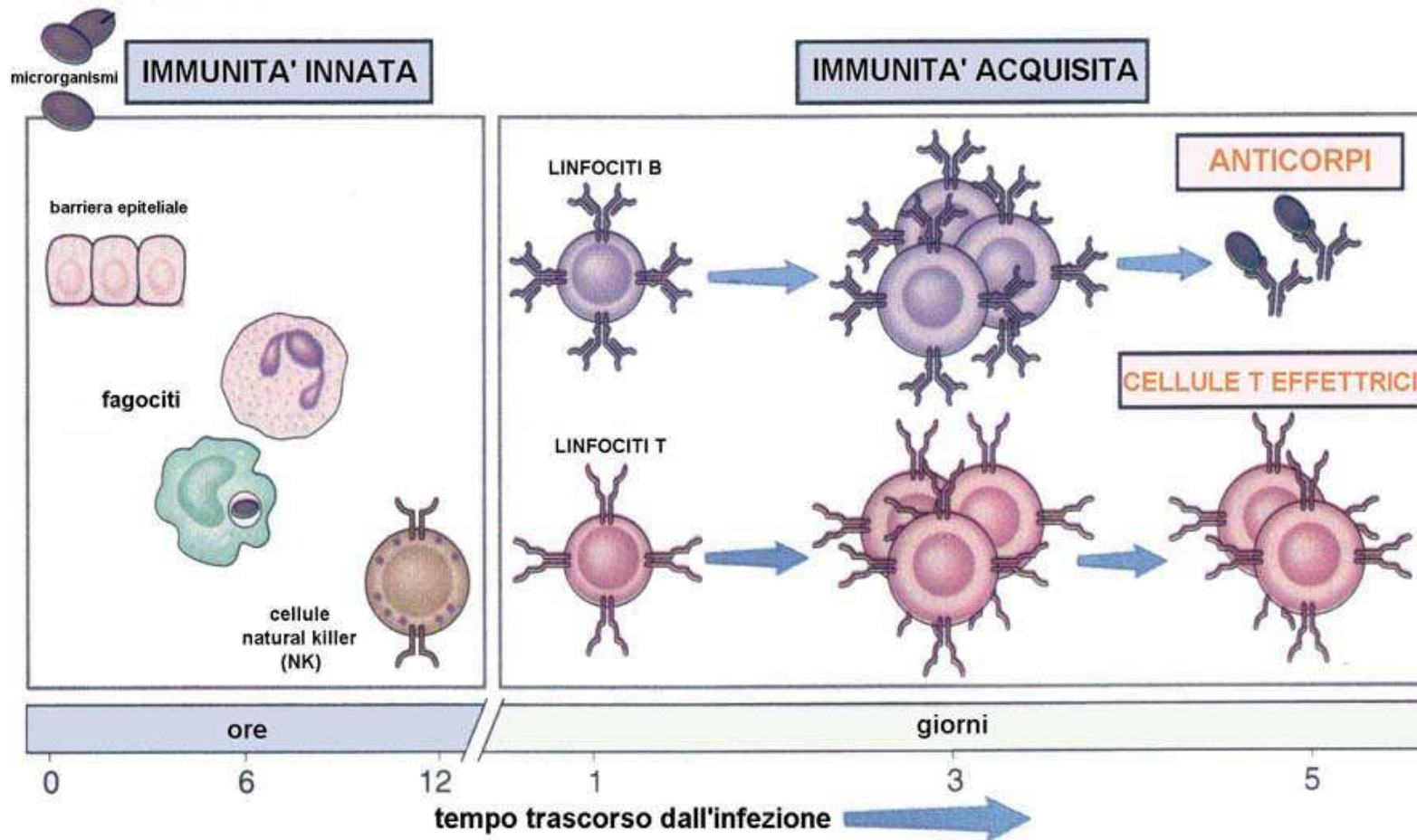


Figura 4.1 Barriere specifiche alle infezioni.



**UN MICRORGANISMO PUO' ESSERE ELIMINATO
MEDIANTE UNA INIZIALE RISPOSTA IMMUNITARIA
INNATA (O NATURALE) E UNA SUCCESSIVA RISPOSTA
IMMUNITARIA ACQUISITA (O ADATTATIVA)**