

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).

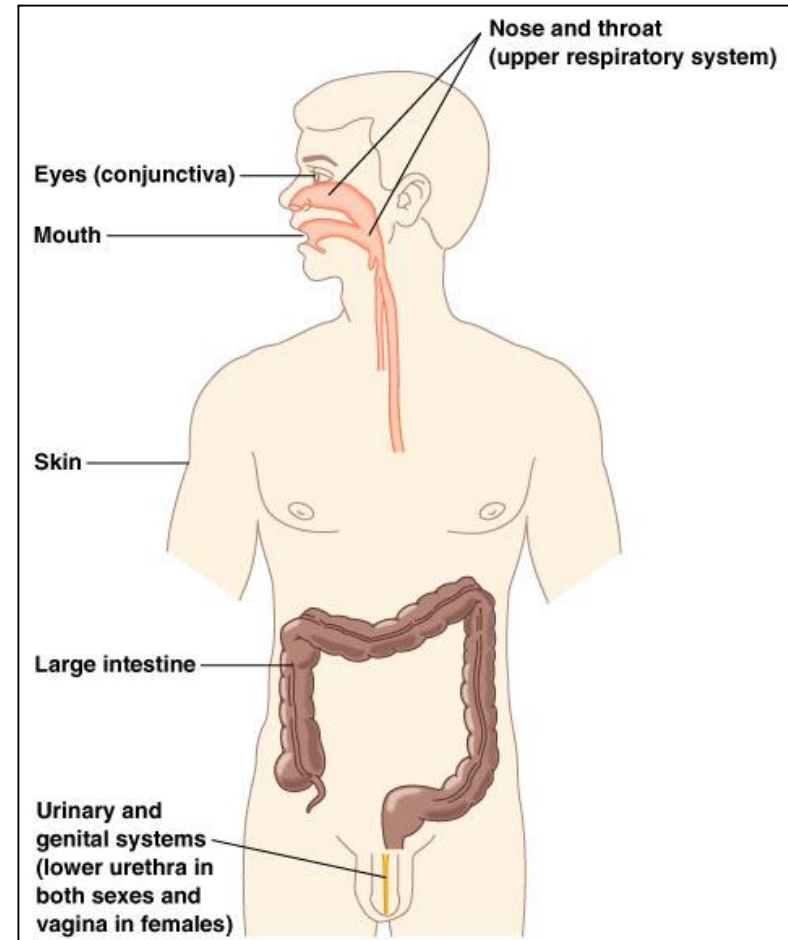
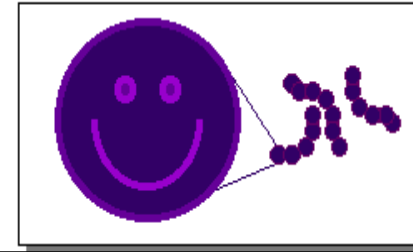
La Flora Microbica Normale =

Microrganismi normalmente associati al tessuto sano.

Si trova soprattutto sulla pelle ($\sim 2 \text{ m}^2$) e sulle mucose (epiteli esposti indirettamente all'ambiente esterno, es. bocca, tratto gastro-intestinale, app. respiratorio, ecc.) ($\sim 400 \text{ m}^2$).

Il nostro corpo è colonizzato da moltissimi batteri. Si stima che abbiamo più cellule batteriche ($=10^{14}$) che cellule umane ($=10^{13}$). Di solito questa flora batterica vive sulla pelle e nell'intestino. La composizione di questa flora varia da persona a persona. A volte questi batteri possono diventare patogeni se acquisiscono fattori di virulenza (es. *Escherichia coli*) o se vengono introdotti in siti sterili (es. *Stafilococco aureo*).

The Normal Flora

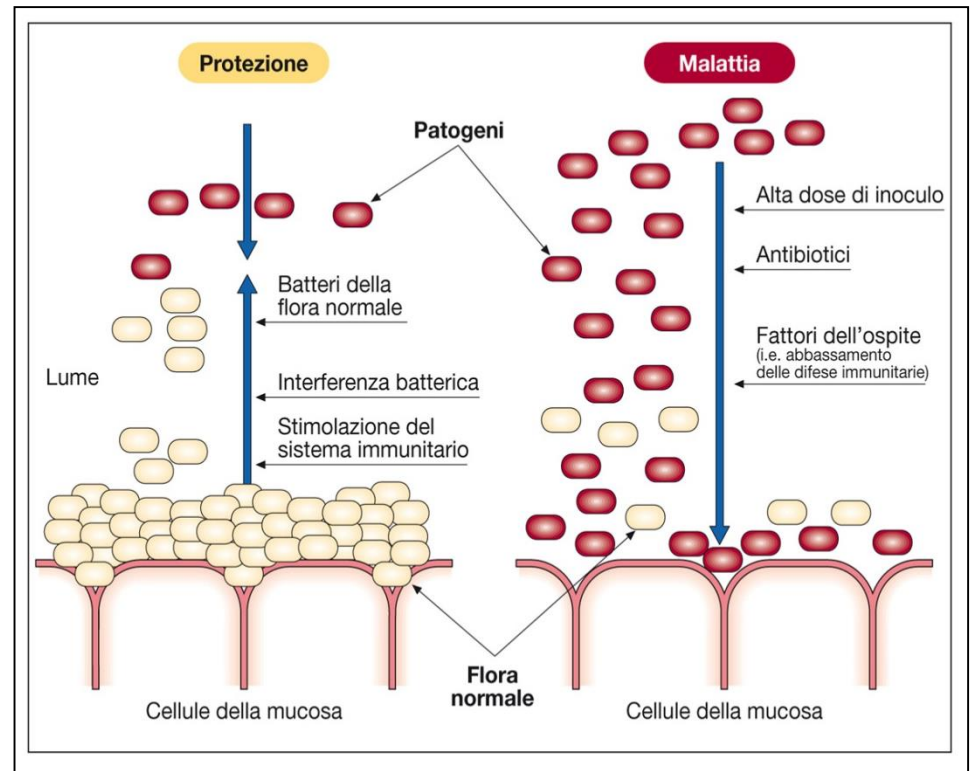


Distribuzione della flora microbica normale:

Non c'è negli organi interni, sangue, sistema linfatico; microrganismi in queste sedi indicano di solito una malattia in corso. Intestino = contiene un enorme numero di batteri (~ 1/3 delle feci).

La flora normale è utile:

- previene la colonizzazione da parte di organismi patogeni,
- è responsabile di molte reazioni metaboliche,
- produce sostanze essenziali (es. vitamina K prodotta nell'intestino).



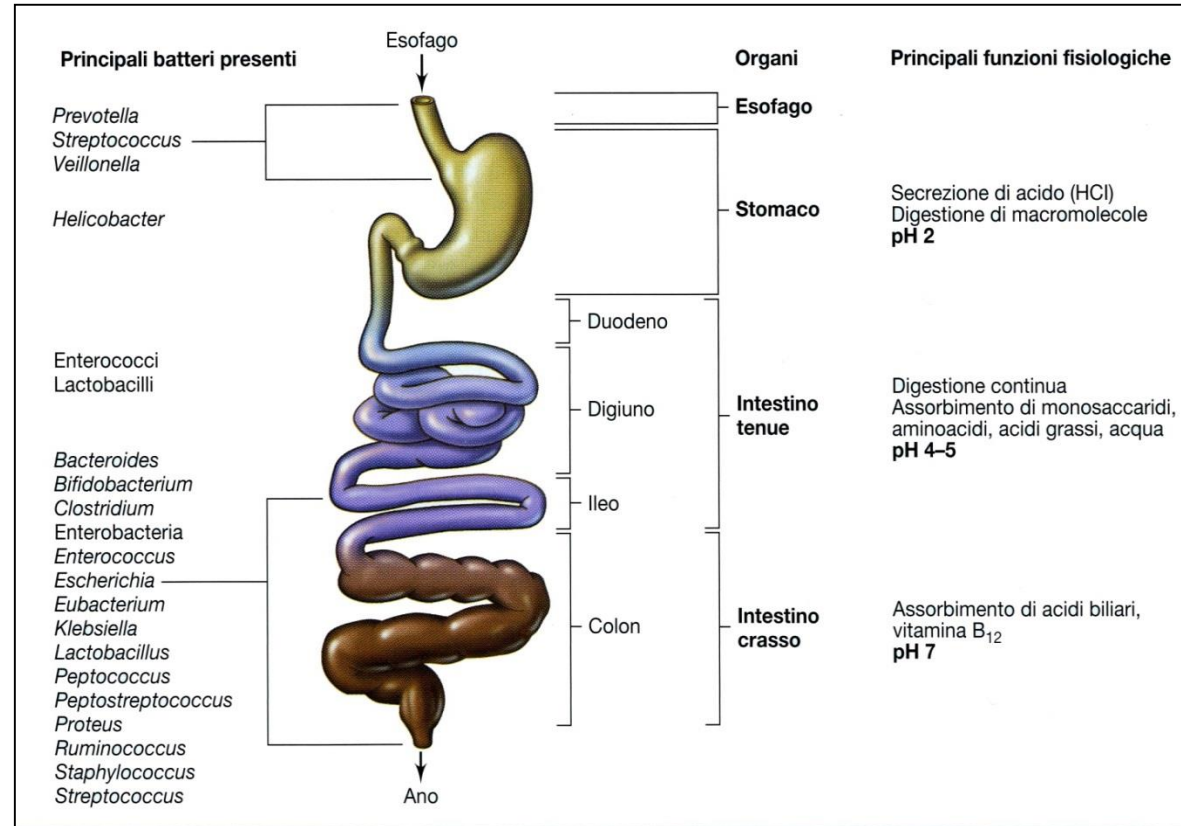
Gli antibiotici, oltre che i patogeni, inibiscono anche la flora normale → perdita dei batteri commensali → microrganismi opportunisti (es. *Stafilococco aureo*, *Candida albicans*) che normalmente non riescono a competere con la flora normale, possono crescere e dare malattie.

Intestinal microbes provide multicellular hosts with nutrients and confer resistance to infection... in mice, a short-chain fatty acid, butyrate, produced by commensal microorganisms during starch fermentation, facilitated extrathymic generation of T-reg cells. ... [It was concluded] that bacterial metabolites mediate communication between the commensal microbiota and the immune system, affecting the balance between pro- and anti-inflammatory mechanisms." (Nature, November 2013)

Flora microbica normale



Coltura da un
tampone eseguito su
cute sana



**N.B. QUASI TUTTI I MICRORGANISMI
POSSONO ESSERE TRASPORTATI
TRANSITORIAMENTE CON LE MANI,
ANCHE SE NON FANNO PARTE
DELLA FLORA MICROBICA NORMALE
DELLA PELLE.**

**Flora microbica normale
del tratto digerente**

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

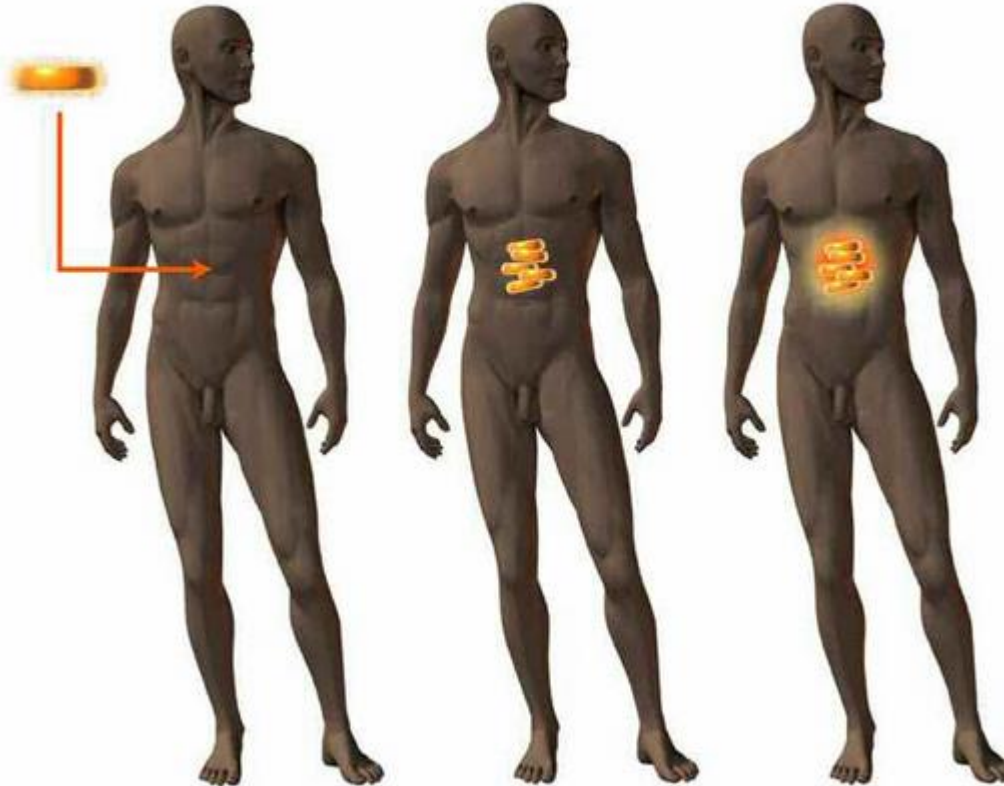
- ➔ Virulenza: grado di patogenicità, dato dalla capacità di moltiplicarsi in vivo e dalla invasività (diffusione del patogeno nel corpo)
- ➔ Tossigenicità o produzione di tossine

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**

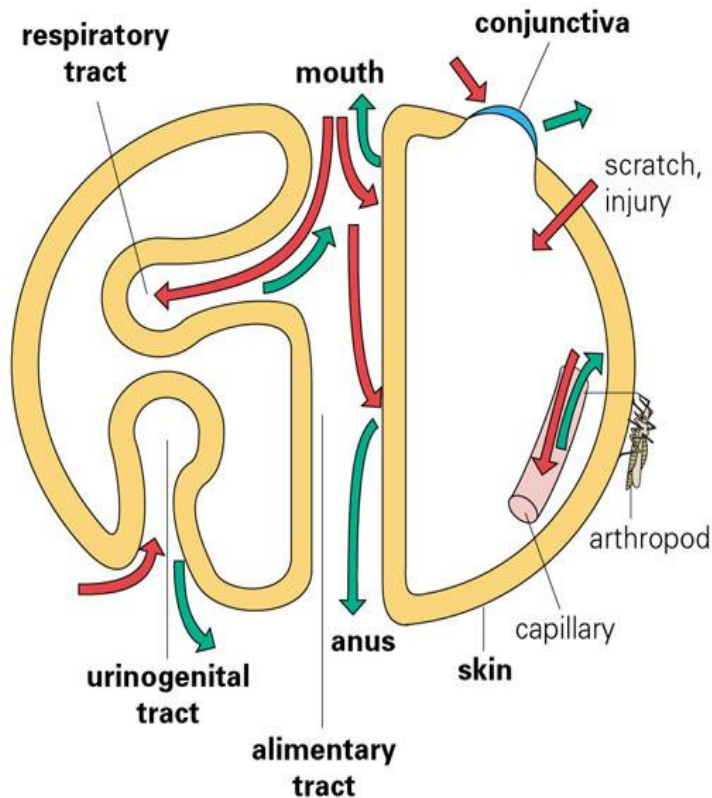
► **Animali**

► **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

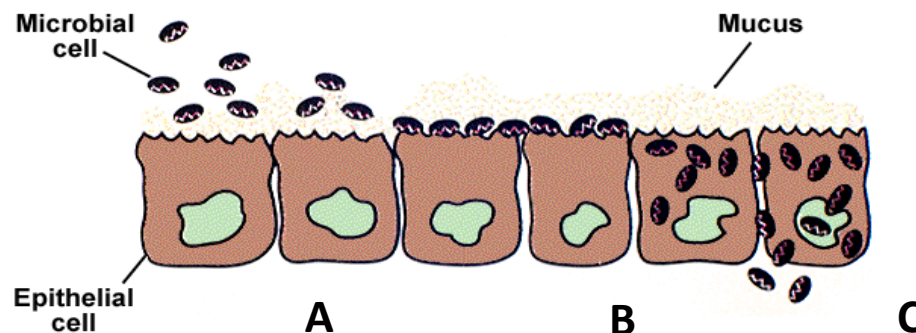
Siti di ingresso per i batteri

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.



L'efficacia con la quale i batteri patogeni superano le difese immunitarie è in parte legata alla dose infettante. In generale, patogeni presenti in serbatoi ambientali o animali possono attaccare le difese innate in numero consistente, così come quei patogeni che vengono veicolati nel cibo in cui hanno potuto replicarsi. Patogeni che non hanno un serbatoio o mancano della possibilità di amplificazione hanno trasmissione interumana con dosi infettanti molto basse, che consentono un'efficace passaggio da un individuo all'altro.

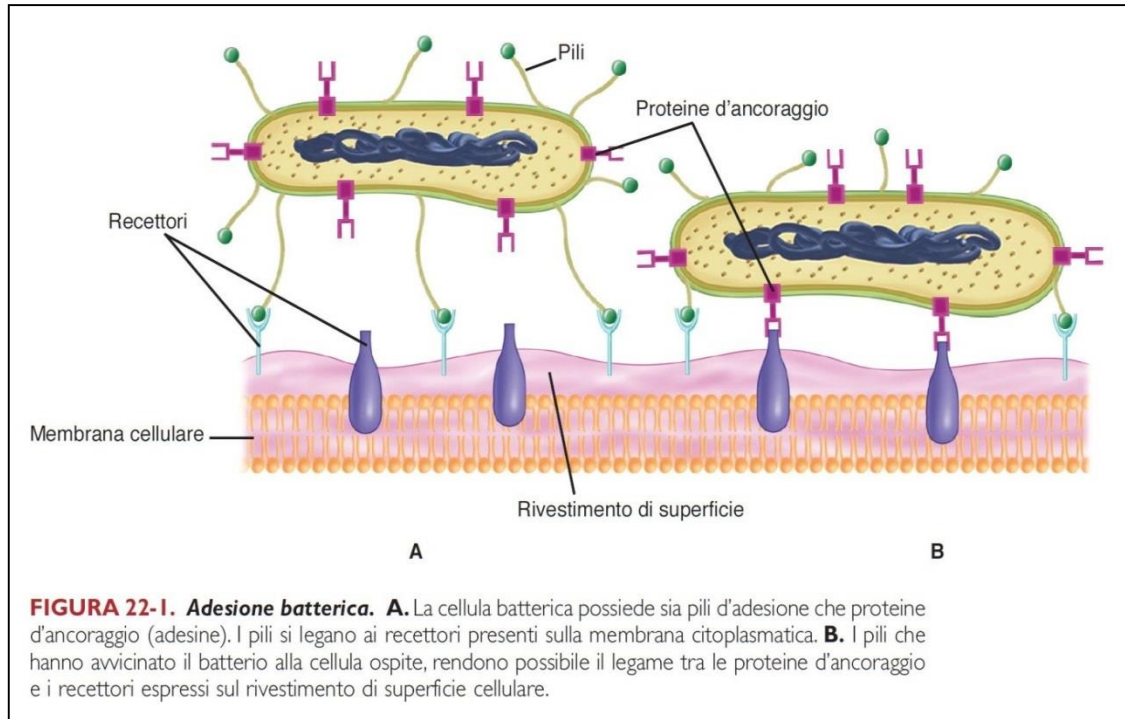
TABELLA 22-2

Dose di microrganismi necessari per riprodurre un'infezione in soggetti umani volontari

MICROORGANISMO	VIA D'INGRESSO	DOSE INFETTANTE
<i>Salmonella typhi</i>	Orale	10^5
<i>Shigella spp.</i>	Orale	10-1000
<i>Vibrio cholerae</i>	Orale	10^8
<i>V cholerae</i>	Orale in ambiente alcalino (HCO_3^-)	10^{4a}
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Inalazione	1-10

^a Una dose infettante minore riflette la neutralizzazione del bicarbonato della barriera acida dello stomaco.

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* enteropatogeno 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 epitelii 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. *Streptococcus mutans* → carie).

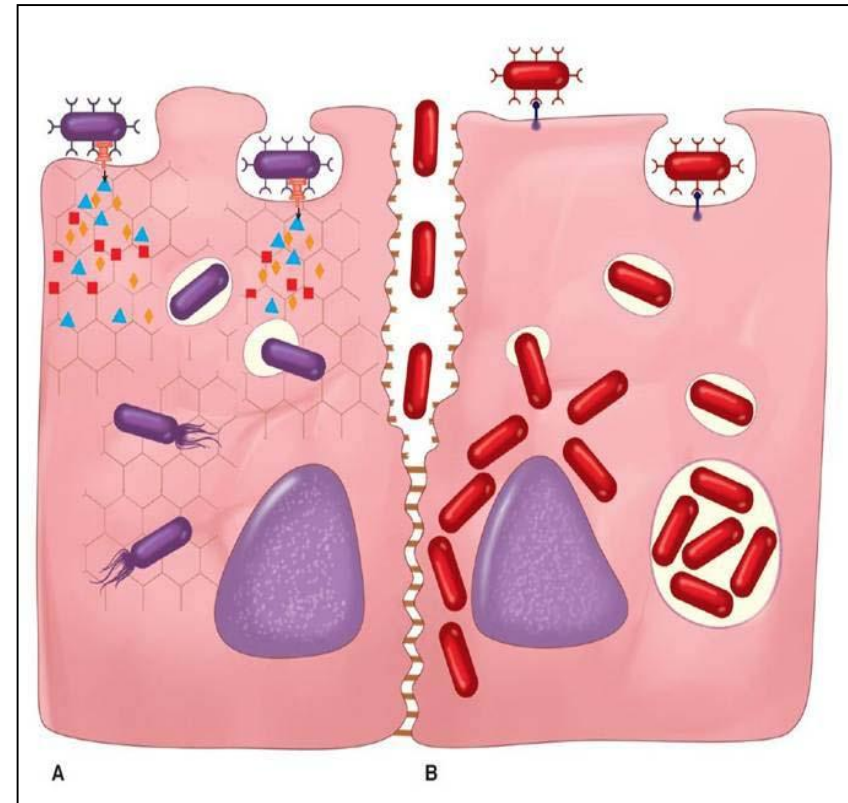
Una volta che il batterio si è adeso deve persistere per dare malattia. I patogeni che producono tossine generalmente rimangono all'esterno della cellula, ma molti patogeni devono trasferirsi all'interno della cellula o attraversarla.

Pochi batteri sono parassiti intracellulari obbligati; altri sono patogeni intracellulari facoltativi. I patogeni invasivi utilizzano adesine per ancorarsi alla superficie delle cellule bersaglio e molecole dette **invasine** che permettono l'entrata nella cellula.

Il batterio entra per endocitosi favorita dal riarrangiamento del citoscheletro ad opera di proteine batteriche iniettate nel citosol (A) o semplicemente dal legame con il recettore di membrana (B).

Una volta entrati nella cellula due possibilità:

- A) Alcuni batteri lisano il fagosoma, replicano nel citosol ed infettano cellule adiacenti (es. *Listeria* e *Shigella*).
- B) Altri restano nel fagosoma e replicano all'interno di esso in quanto dotati di un sistema enzimatico in grado di impedire la fusione del fagosoma-lisosoma o di modificarne il pH impedendo l'attività enzimatica digestiva (*M. tuberculosis*, *Salmonella typhi*).



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.

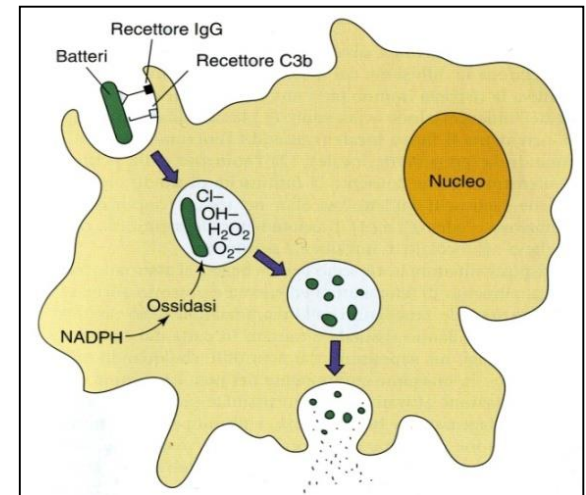
CAPACITA' DI SOPRAVVIVERE ALL'INTERNO DEI FAGOCITI: *Brucelle, Micobatteri, Stafilococchi, Salmonelle* resistono all'interno delle cellule fagocitarie.

I batteri fagocitati vengono uccisi da un sistema formato da ossidasi, H_2O_2 , ed un alogenuro.

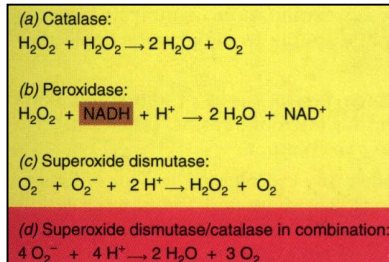
Nel fagolisosoma ossidasi + H_2O_2 ossidano l'alogenuro ad alogeno \rightarrow denaturazione delle proteine.

Si forma anche l'anione superossido (O_2^-); $O_2^- + H_2O_2 \rightarrow$ ione Idrossile (OH^-) \rightarrow danno a tutte le molecole biologiche.

I batteri che sopravvivono alla fagocitosi sono in grado di inibire tale sistema mediante la produzione di enzimi quali :



Catalasi,
perossidasi
Superossidodismutasi



Altri batteri inducono apoptosi delle cellule fagocitarie: così facendo inattivano il fagocita e riducono il numero delle cellule del sistema immunitario in grado di contrastare l'invasione batterica, evitando l'accumulo di citochine e chemochine presenti in caso di necrosi.

Aggressive sono anche:

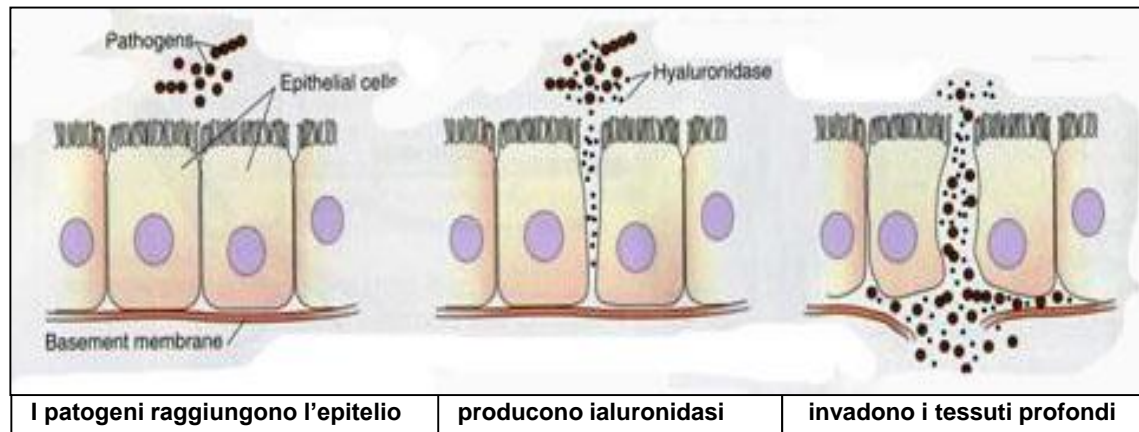
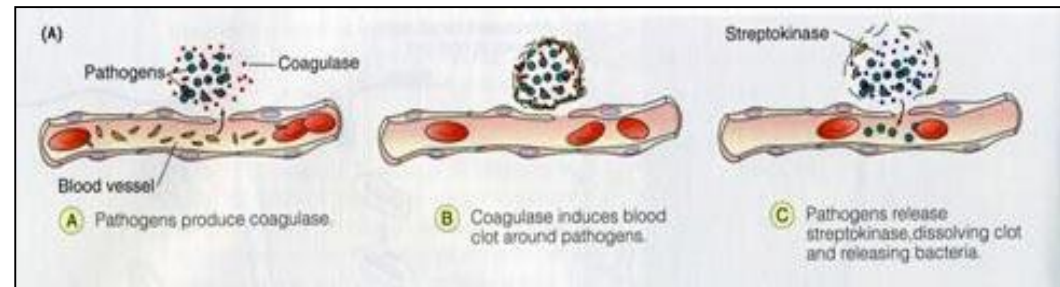
LEUCOCIDINE (simili alle esotossine) = danneggiano linfociti e macrofagi inducendone l'apoptosi.

COAGULASI = precipita il fibrinogeno intorno al batterio → resistenza alla fagocitosi (*Stafilococcus aureus*)

IALURONIDASI =

depolimerizza l'acido ialuronico, componente del connettivo (*Clostridium perfringens*, gangrena gassosa; *S. pyogenes*, fascite necrotizzante),

COLLAGENASI (dissolve il collagene del tessuto muscolare)



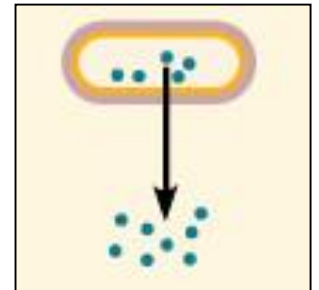
MIMETISMO ANTIGENE = Alcuni batteri hanno strutture di superficie molto simili ad antigeni presenti in cellule dell'ospite (es. *S. pyogene* ha la capsula di acido ialuronico).
Spiega il TROPISMO DI SPECIE: *Salmonella typhimurium* ha antigeni in comune con tessuti del topo (è molto patogena) ma non umani (è poco patogena).

TOSSINE

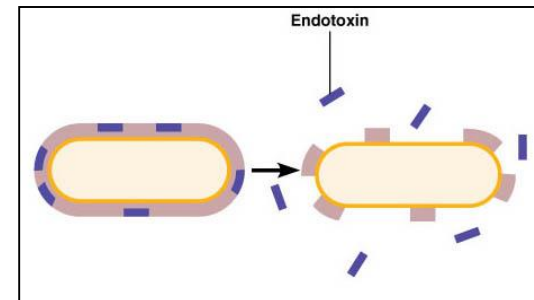
TOSSINA = sostanza tossica (veleno) responsabile del quadro clinico della malattia e del potere patogeno di molti batteri.

La differenza fra aggressine e tossine è molto sfumata; generalmente le aggressine 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 = veleni che si liberano nell'ambiente mentre vengono prodotti; 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 del batterio.



Differenze fra Eso- ed Endotossine

ESOTOSSINE

Proteine

Termolabili

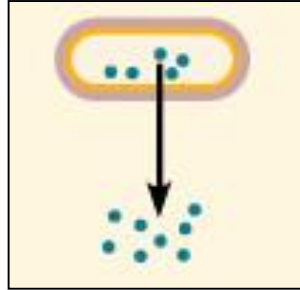
Gram + (ma anche Gram-)

Per lo più secrete

Neutralizzate dall'anticorpo
specifico

Trasformabili in anatossine

Effetto caratteristico di ciascuna



ENDOTOSSINE

Lipidi (lipide A di LPS)

Termostabili (all'autoclavatura)

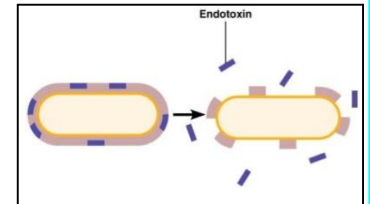
Solo Gram-

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 batterico ma è presente nel genoma di un fago temperato (profago) (es. *Corynebatteri difterici*, enterotossina di *Stafilococco aureo*, tossina eritrogenica di *Streptococco pyogenes*, ecc.).

Le esotossine hanno un elevato potere antigene. 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 antigene →

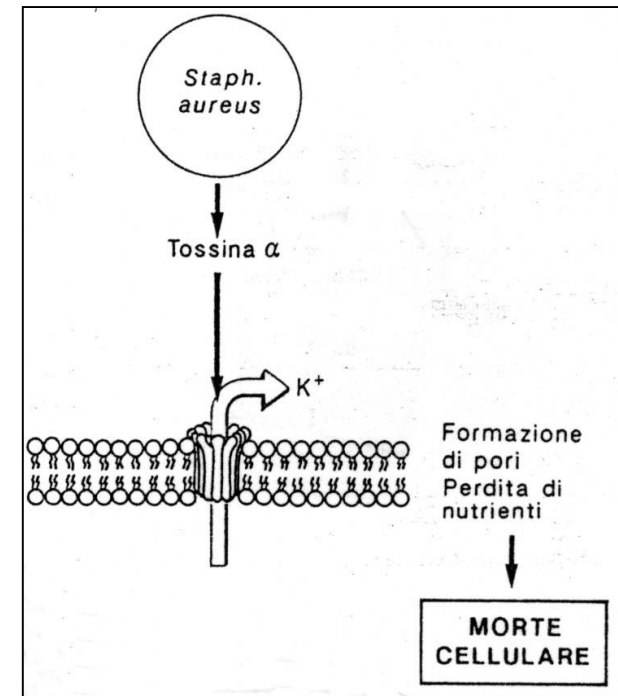
anatotossine, utilizzate per:

1. Indurre immunità attiva (vaccini)
2. Preparare sieri immuni antitossici

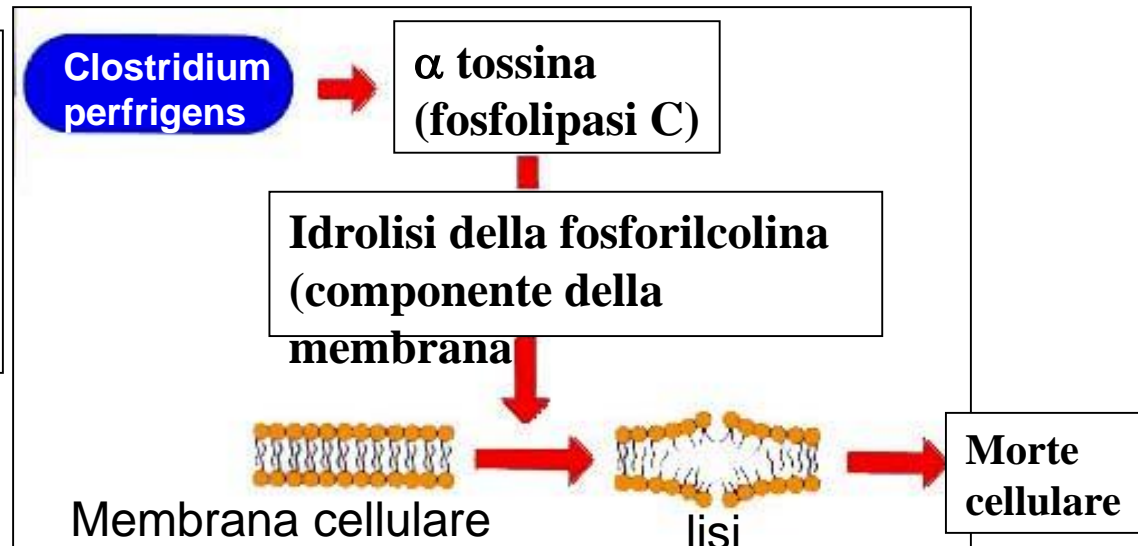
Alcune Tossine sono **CITOLITICHE**

Hanno azione tossica sulla membrana cellulare provocando la lisi e la morte della cellula. I principali meccanismi d'azione sono due:

1) formazione di pori o canali (es. emolisina O di *S. pyogenes*, emolisine α , δ di *S. aureus*) che alterano gli scambi cellulari interno-esterno.



2) azione fosfolipasica: idrolizzano i fosfolipidi di membrana (es. *Clostridium perfringens*) con conseguente lisi e morte della cellula.



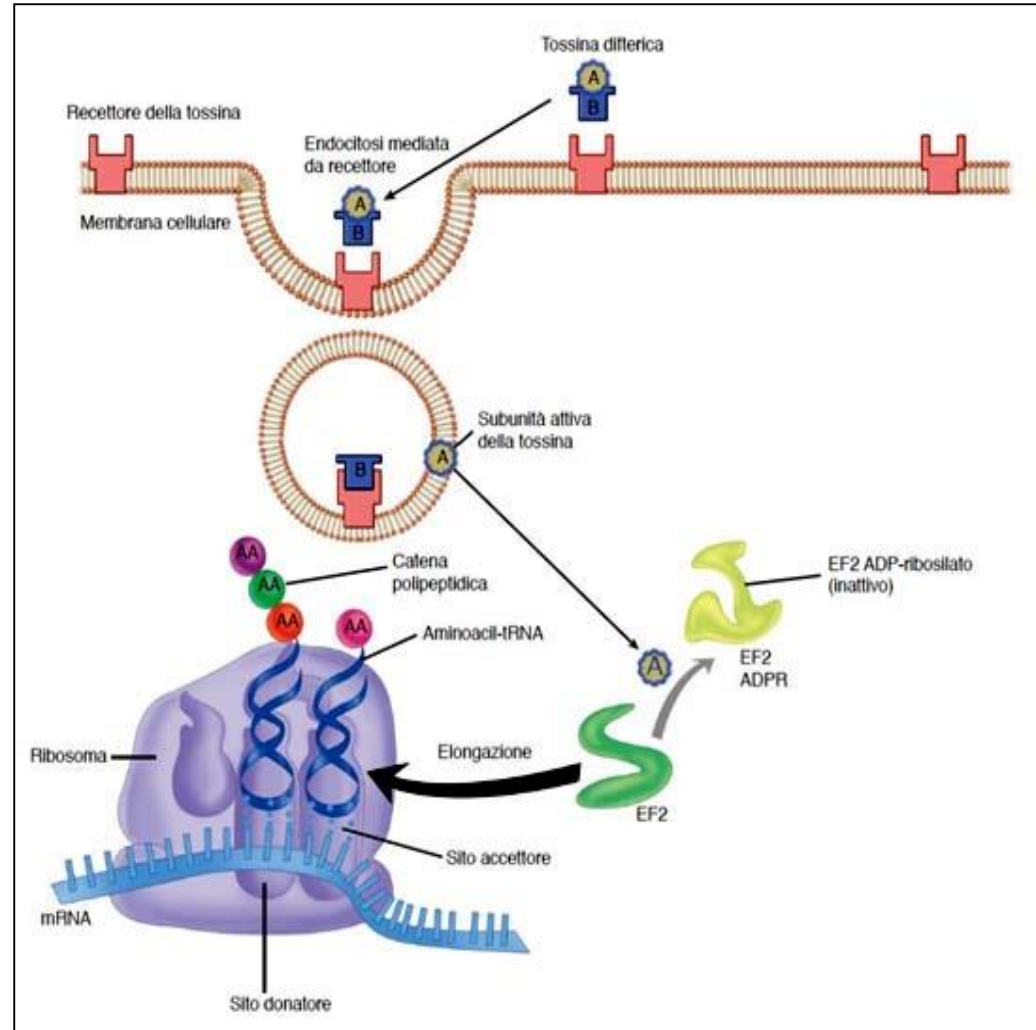
Altre sono PANTROPE, ad azione sistemica. Inibiscono la sintesi proteica. Esempi:

- tossina difterica

-Tossina di *Pseudomonas aeruginosa*

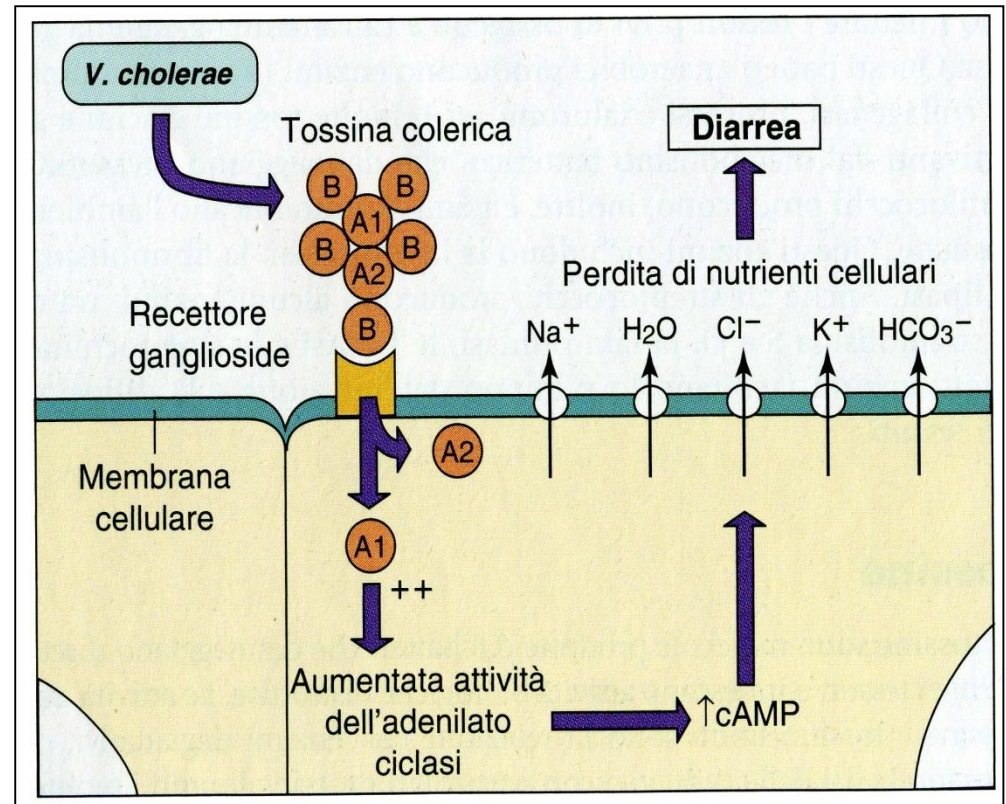
-Tossina shiga di *Shigella dysenteriae*

inibiscono il fattore EF2
necessario per l'allungamento
della catena polipeptidica a
livello ribosomiale.



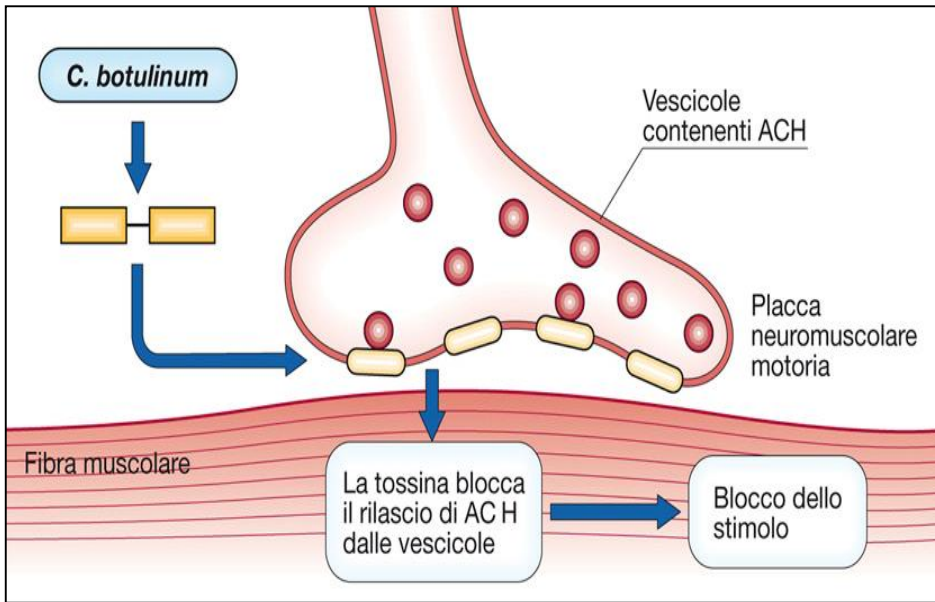
Altre Tossine sono ENTEROTOSSICHE, hanno effetto enteropatogeno (diarrea, vomito) → sono attive soprattutto a livello delle cellule dell'intestino tenue. Agiscono tramite l'attivazione di adenilato ciclasti e formazione di AMP- ciclico, che interviene nella regolazione degli scambi idrici ed elettrolitici.

- Enterotossina di *V. cholerae*
- Tossina termolabile di *E. coli*/enterobatteri
- Enterotossina termostabile di *St. aureus*

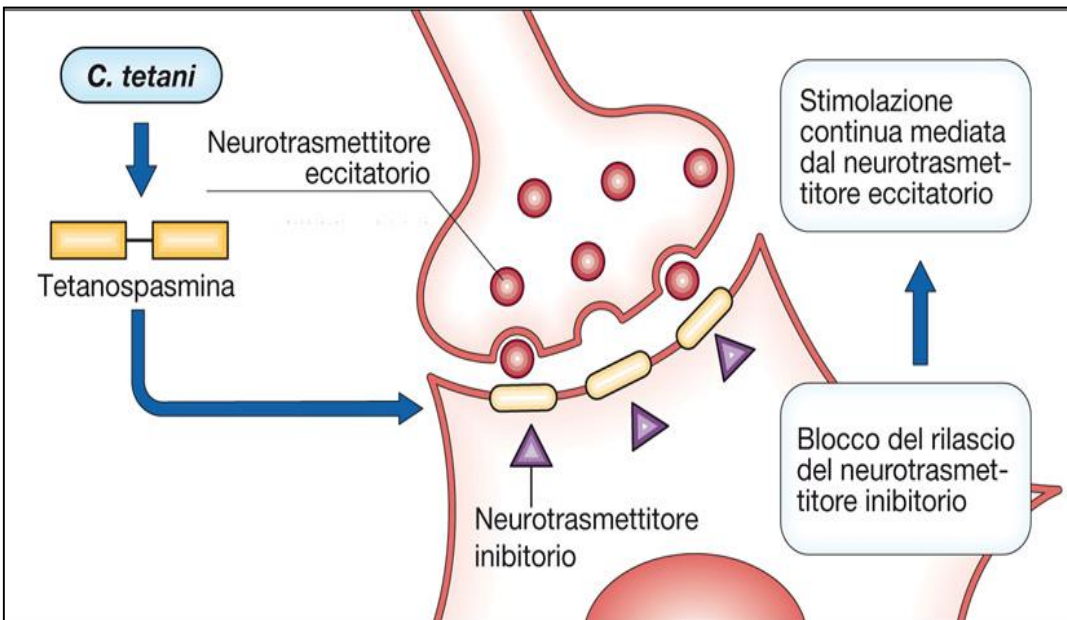


NEUROTROPE

Esotossine-5



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.



ESOTOSSINA TETANICA → sistema nervoso centrale → blocco della liberazione dei neurotrasmettitori inibitori → paralisi spastica.

Esotossina carbonchiosa

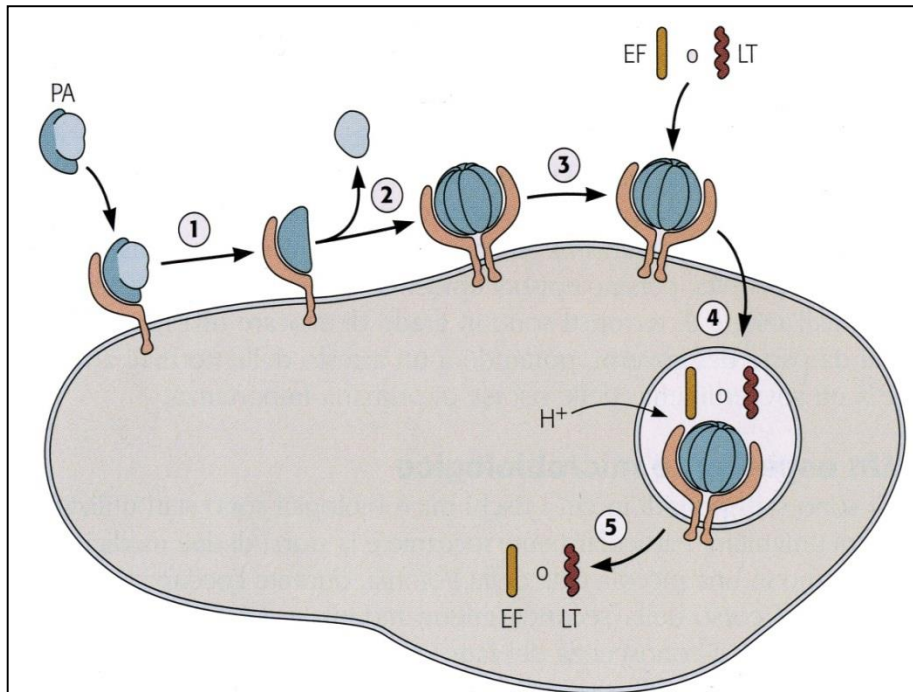


Figura 22.1

Modalità con cui la tossina dell'antrace penetra nelle cellule. La tossina consiste di tre molecole. Una di queste, detta antigene protettivo, o PA, si lega ai recettori espressi sulle cellule suscettibili e, dopo essersi scissa (1), multimerizza in una struttura simile a un poro (2) a cui si lega la componente tossica (fattore edema, o EF, e la tossina letale, o LT) (3). Il complesso viene internalizzato in una vescicola (4) che, al momento dell'acidificazione, rilascia le molecole tossiche EF e LT nel citoplasma (5), dove annientano la funzione cellulare.

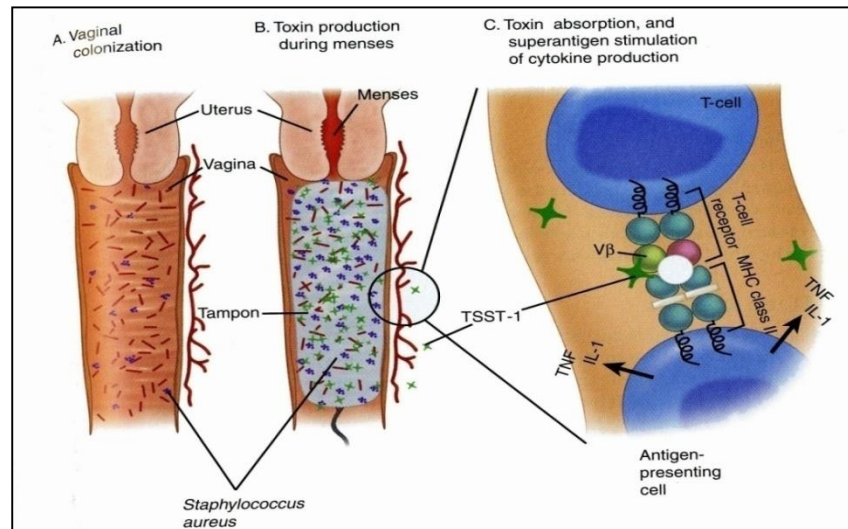
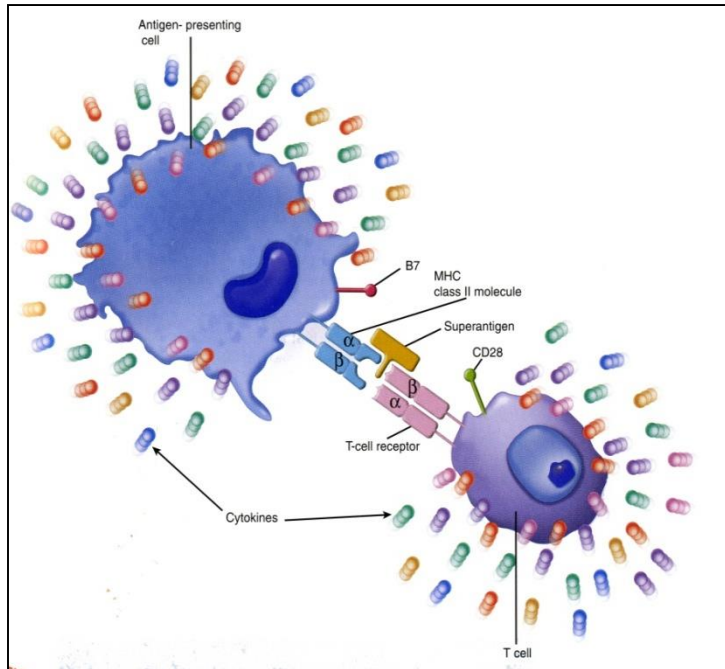
E' formata da tre componenti: 1) antigene protettivo (PA), 2) fattore edema (EF), 3) fattore letale o tossina letale (LF o LT). I tre fattori sono secreti separatamente dal batterio. Responsabili della tossicità sono EF e LF mentre PA rende possibile l'ancoraggio e la successiva penetrazione dei fattori EF e LF nella cellula.

Il fattore EF fa aumentare l'AMPc intracellulare provocando edema che evolve in lesione cutanea e pustole. Il fattore LF è una metalloproteasi che interagisce soprattutto con le cellule macrofagiche attivandole con conseguente liberazione di interleuchine coinvolte nella patogenesi dello shock.

Esotossine come superantigeni

Esotossine-7

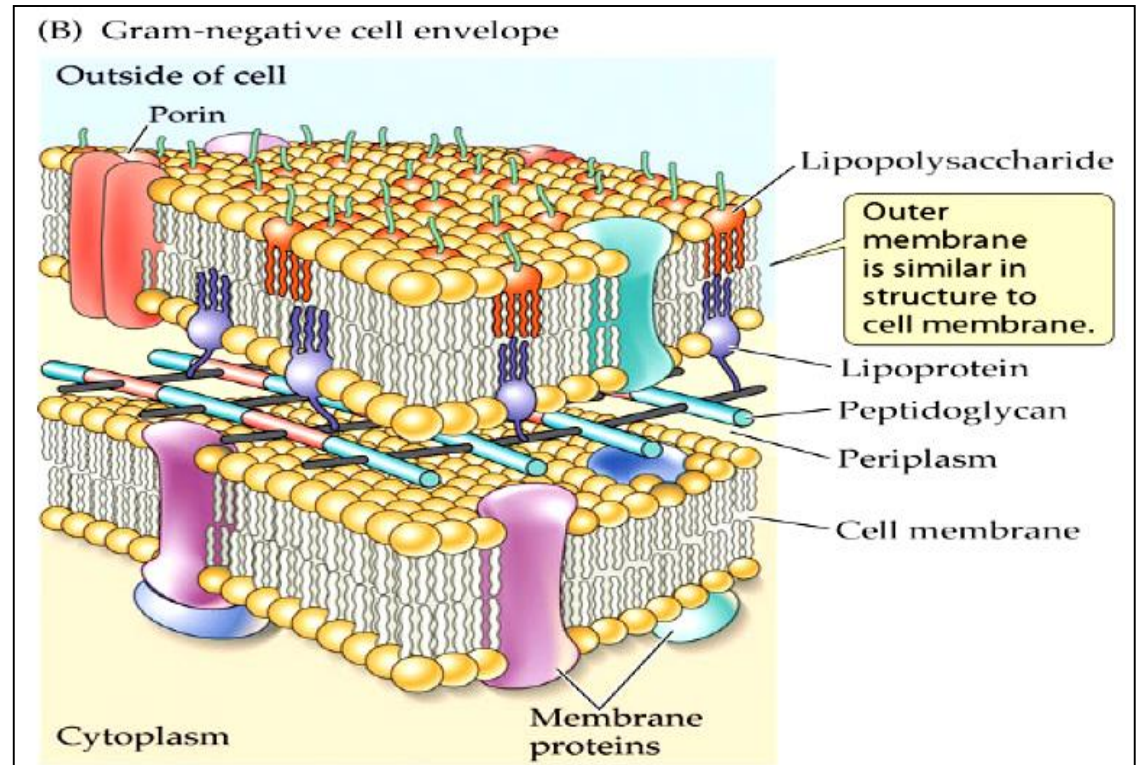
Gli antigeni convenzionali attivano uno o al più pochissimi cloni di linfociti T; vengono captati da monociti, macrofagi, linfociti B che li elaborano e li presentano ai linfociti T helper specifici che vi si legano provocandone l'attivazione. I superantigeni fanno parte di un gruppo particolare di tossine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



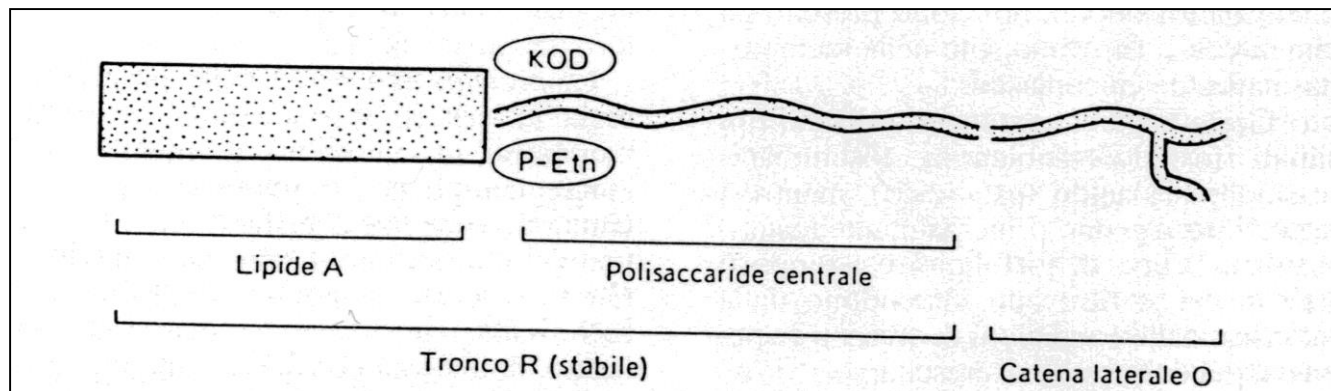
ENDOTOSSINA

I batteri Gram - 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-.



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



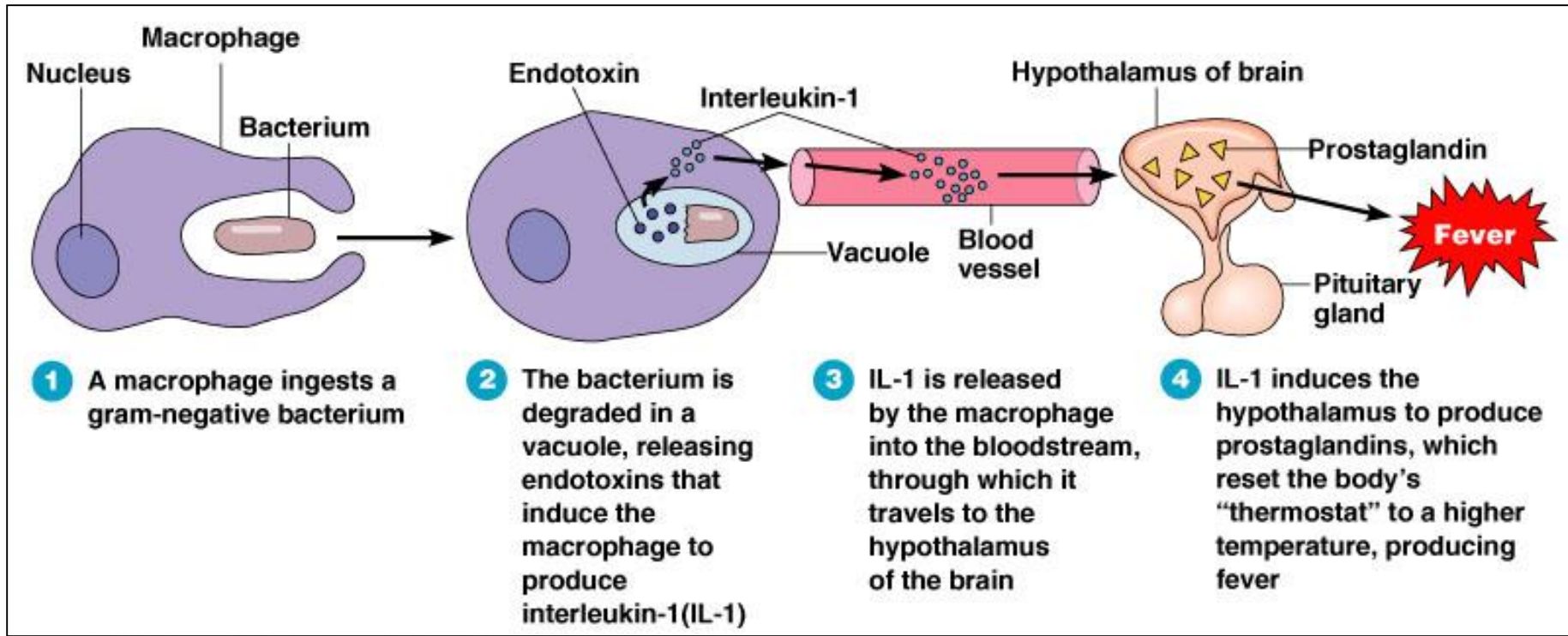
In piccole quantità LPS attiva monociti, macrofagi e molti mediatori dell'infiammazione [piccolissime quantità di LPS assorbite quotidianamente stimolano positivamente i sistemi cellulari, particolarmente il sistema immunitario]. I batteri Gram- fanno parte della flora microbica intestinale normale e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

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

EFFETTI delle ENDOTOSSINE:

PIROGENICITA' (induzione della febbre)

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

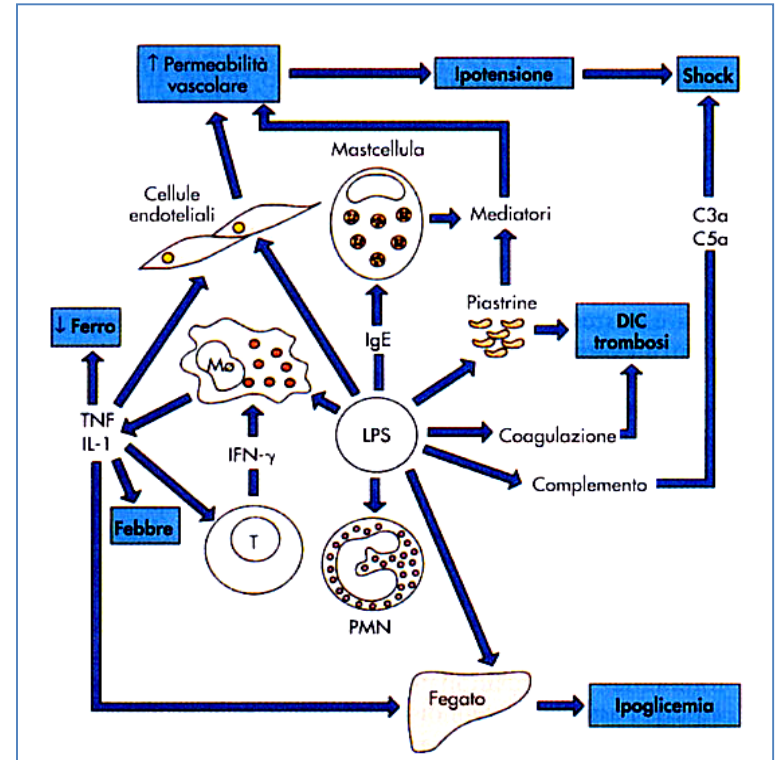


ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO, accumulo di C3a e C5a → azione proinfiammatoria → danno agli endoteli vascolari → shock emodinamico

ATTIVAZIONE DELL'AZIONE PROCOAGULANTE DEI LINFOMONOCITI → aggregazione piastrinica e attivazione della via intrinseca della cascata coagulativa con possibilità di trombi intravasali → **DIC**.

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

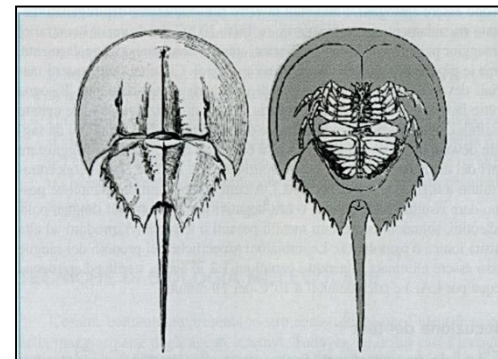
AZIONE MITOGENA sui LINFOCITI T con aumento di IFN gamma → **AUMENTO DEL CATABOLISMO PROTEICO**



Legenda: DIC = coagulazione intravasale diffusa, IFN = interferone, IL = inter-leuchina; MO = macrofago; PMN = leucocita polimorfonucleato; TNF tumor necrosis factor

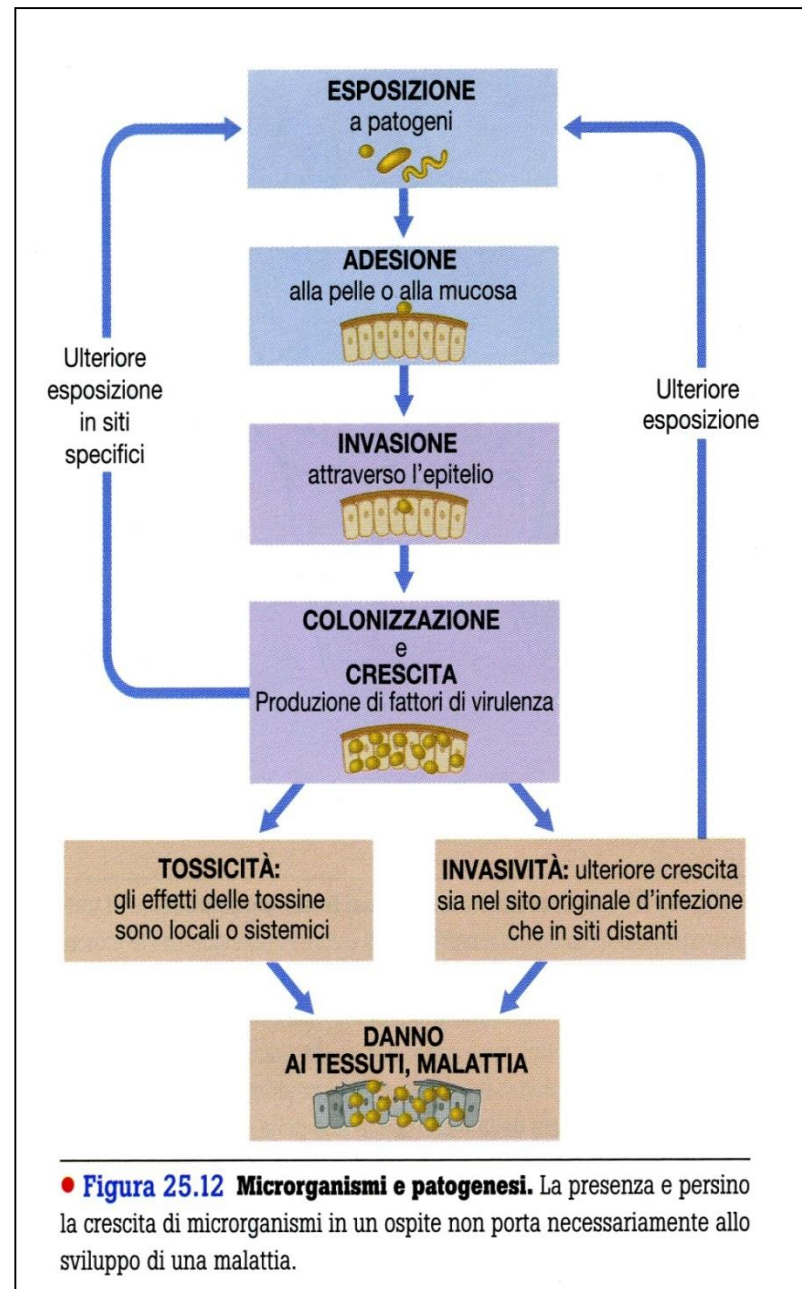
LPS attiva quasi tutti i meccanismi immunitari e la coagulazione.

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: fossile vivente (artropode risalente al Triassico inferiore= ca 210 milioni di anni fa)

Dopo che il batterio si è ancorato alla mucosa e trova le condizioni metaboliche opportune, nelle prime fasi dell'infezione il batterio deve avere strutture o produrre sostanze (aggressive) che contrastano le difese antibatteriche dell'organismo → inizia a moltiplicarsi → formazione di una colonia → concentrazione di prodotti tossici (tossine, esoenzimi, ecc; la produzione di tossine è regolata dal "quorum sensing") in una zona limitata → danneggiamento della mucosa → penetrazione dei batteri nei tessuti profondi, danno all'organismo.

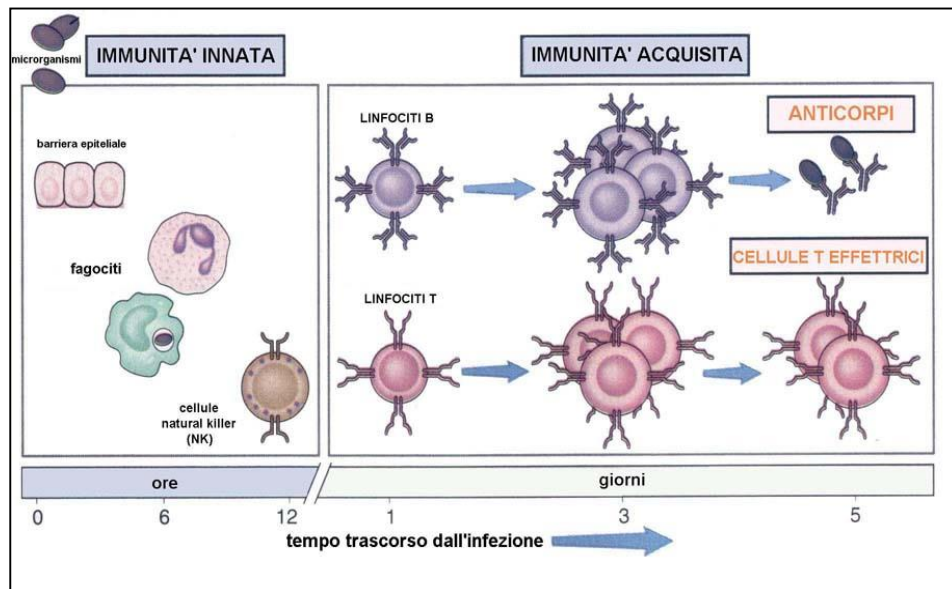
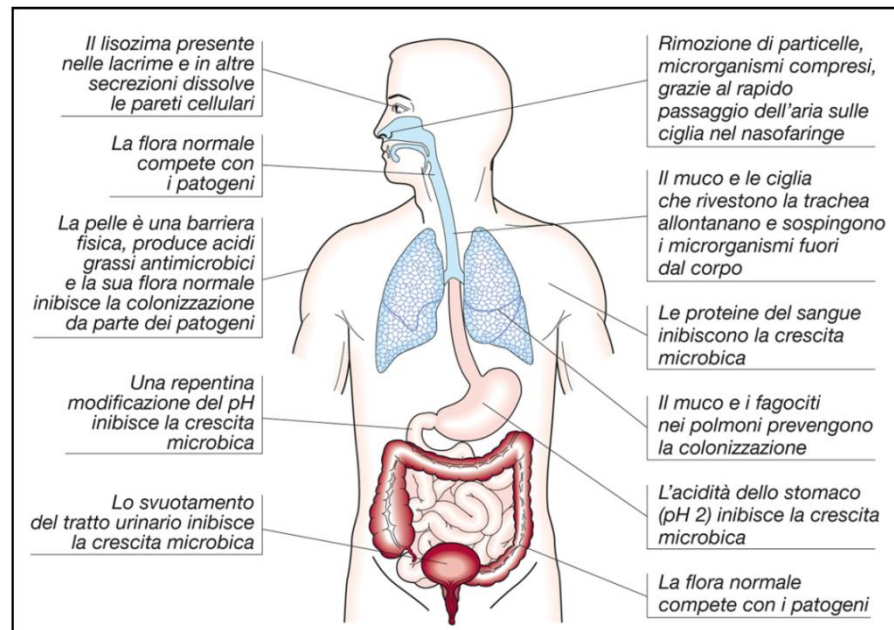


● **Figura 25.12 Microrganismi e patogenesi.** La presenza e persino la crescita di microrganismi in un ospite non porta necessariamente allo sviluppo di una malattia.

Difese antimicrobiche

Barriere naturali (cute, muco, acidità gastrica)

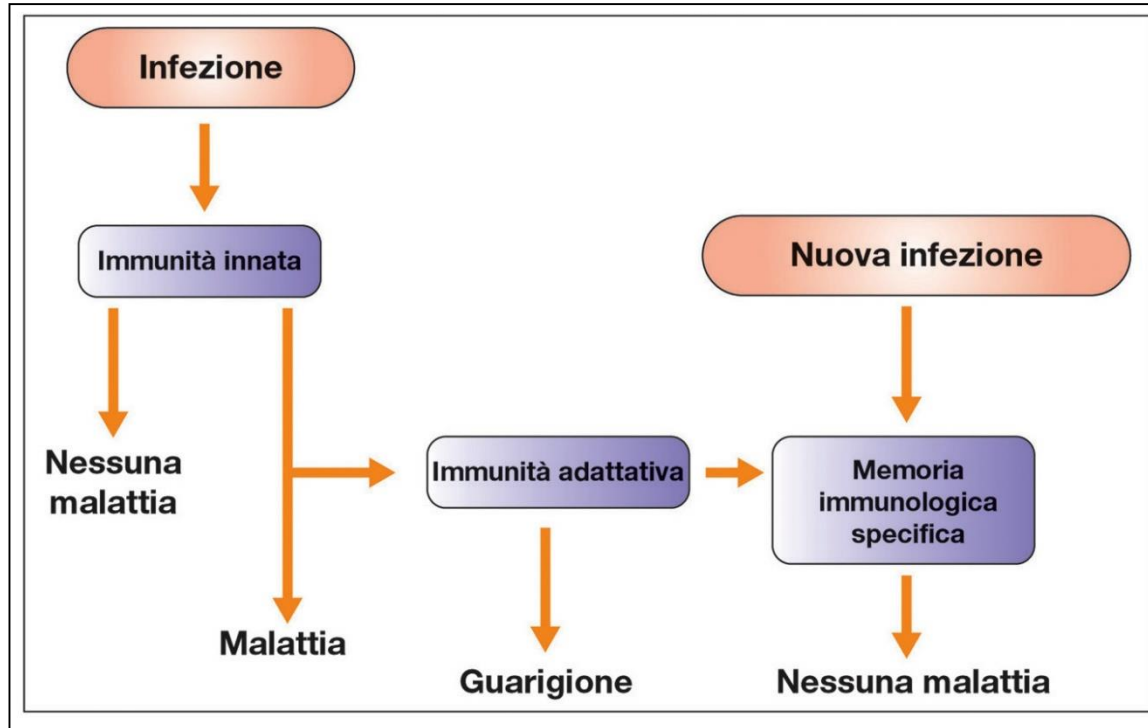
Difese immunitarie innate NON antigene-specifiche (cellule NK, IFN, febbre, macrofagi)



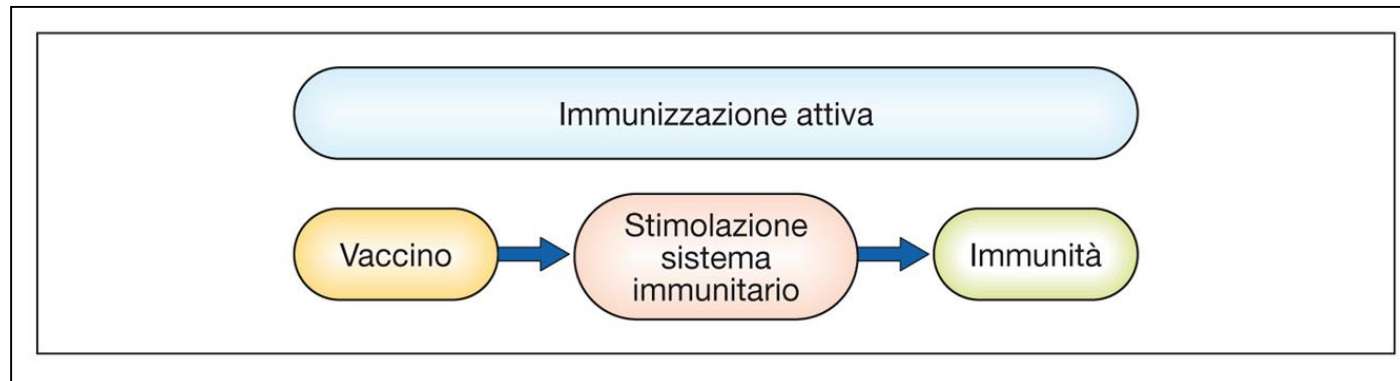
Difese immunitarie adattative antigene-specifiche (anticorpi, linfociti T)

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

Immunizzazione da infezione naturale



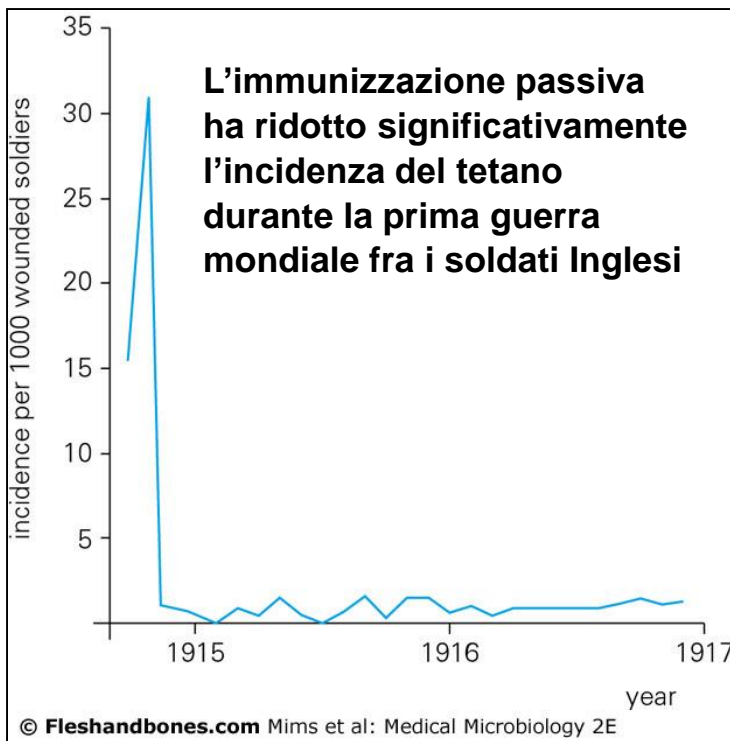
Immunizzazione in seguito a vaccinazione



Immunizzazione Passiva

Mediante sieri o anticorpi purificati. Si pratica a scopo terapeutico dopo l'esposizione all'agente patogeno, o in pazienti già malati; oppure a scopo protettivo (profilassi) in individui con alto rischio di infettarsi (es. turisti).

I neonati sono immunizzati passivamente, con gli anticorpi materni passati attraverso la placenta o presenti nel latte. Dura circa 6 mesi dalla nascita (a volte fino a 1 anno).

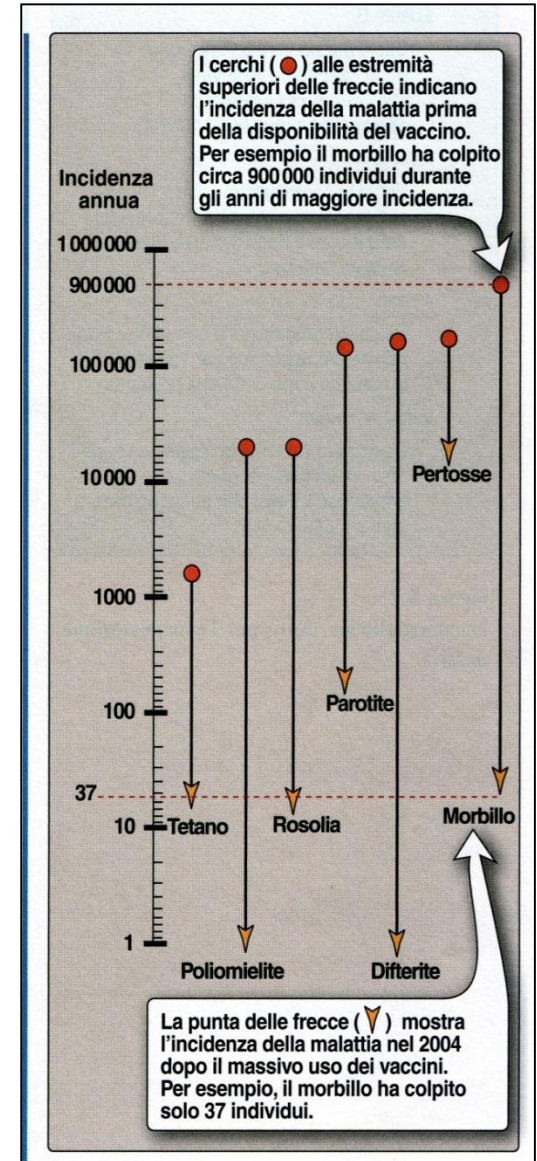
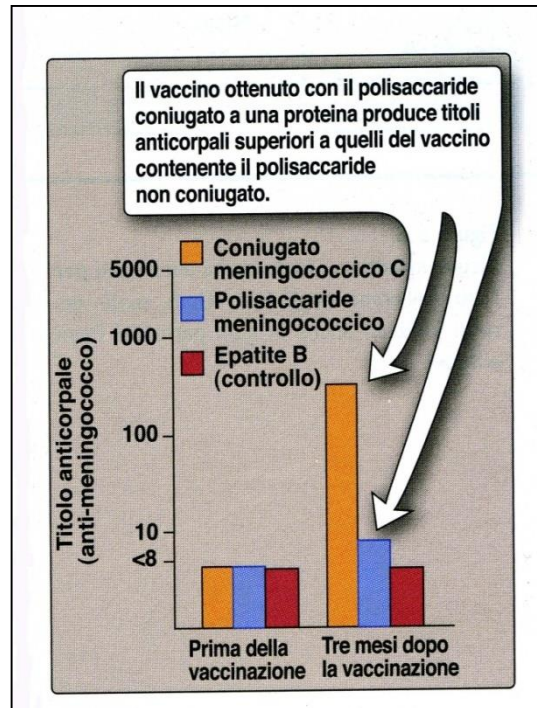
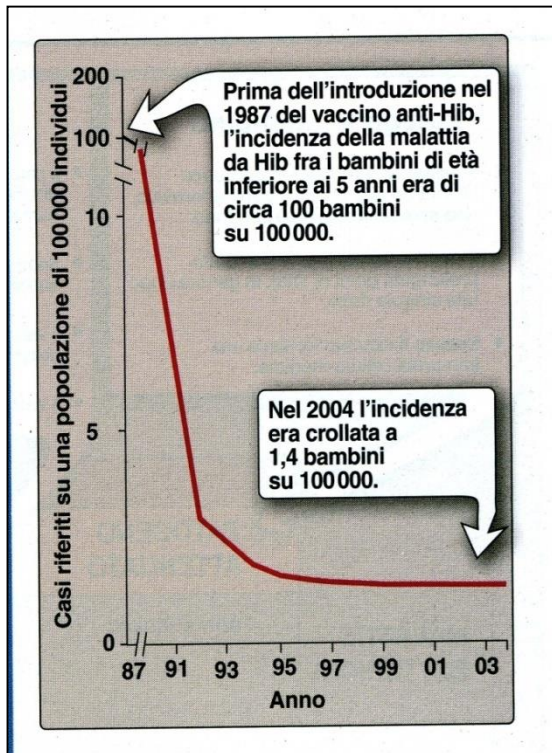


SPECIFIC PASSIVE IMMUNOTHERAPY WITH ANTIBODY		
infection	source of antibody	indication
diphtheria	human, horse	prophylaxis, treatment
tetanus	human, horse	
varicella-zoster	human	treatment in immunodeficiencies
gas gangrene	horse	post exposure
botulism		
snake bite scorpion bite		
rabies	human	post-exposure (plus vaccine)
hepatitis B	human	post-exposure
hepatitis A	pooled human immunoglobulin	prophylaxis (travel)
measles		post-exposure

© **Flehandbones.com** Mims et al: Medical Microbiolog

Immunizzazione Attiva

Mediante vaccini che stimolano una risposta immunitaria, si pratica in via preventiva.



Vaccinazioni in Italia

Sono il mezzo più efficace e conveniente per prevenire le malattie infettive e le loro complicazioni.

Stimolano l'organismo a produrre attivamente una risposta immunitaria e lo rendono capace di resistere, così, alle infezioni. Con le vaccinazioni vengono evitati nel mondo, ogni anno, non meno di tre milioni di decessi nei bambini di età inferiore a 5 anni, ed almeno 400.000 casi di polio paralitica, malattia di cui è prossima la totale eliminazione in tutto il mondo, come è già avvenuto per il vaiolo.

Questi traguardi sono stati raggiunti grazie al "Programma Esteso di Immunizzazione" (EPI), dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Anche l'Italia, come stato membro dell'OMS, ha aderito al programma EPI e ne segue le raccomandazioni.

Le vaccinazioni in Italia.

Abolita:	vaccinazione antivaaiolosa (1888-1977), per la eradicazione dell'infezione
Obbligatorie nella prima infanzia:	poliomielite, tetano, difterite, HBV
Consigliate nella prima infanzia:	morbillo, pertosse, parotite, <i>Haemophilus influenzae di tipo b</i> (meningite) e rosolia (soggetti di sesso femminile in età prepuberale)
Previste per alcune categorie di lavoratori e/o soggetti esposti:	tifo, meningococco, tubercolosi (BCG), rabbia, varicella pneumococco, leptospirosi
Utili in particolari circostanze:	influenza (alla comparsa di varianti antigeniche significative e nei soggetti anziani, cardiopatici, etc.), epatite A, febbre gialla, colera, rabbia (viaggiatori in Paesi con infezione endemica)

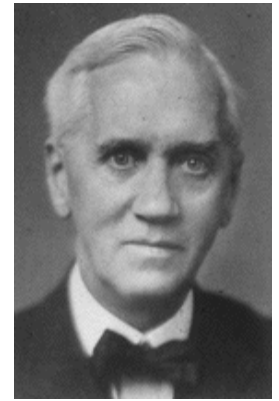
Calendario delle vaccinazioni per l'età evolutiva

VACCINO	Nascita	3° mese	5° mese	11° mese	12° mese	15° mese	3° anno	5-6 anni	11-12 anni	14-15 anni
DTP		DTP	DTP	DTP				DTP	Td	
Antipolio		IPV	IPV	IPV			IPV			
Epatite B	Epatite B-0*	Epatite B	Epatite B	Epatite B					Epatite B §	
MPR						MPR ^{oo}			MPR#	
Hib		Hib	Hib	Hib						

ANTIBIOTICI



Fotografia della piastra originale di Fleming del 1928



Alexander Fleming

ANTIBIOTICO = sostanza antibatterica naturale prodotta da microrganismi.

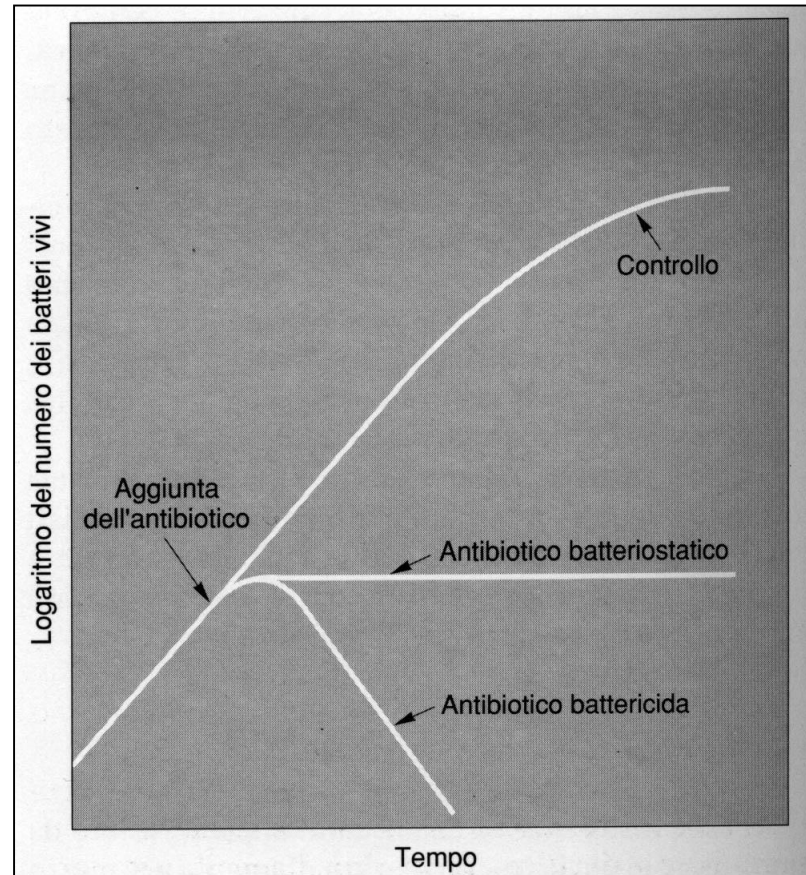
CHEMIOTERAPICO = antibatterico prodotto per sintesi.

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

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.



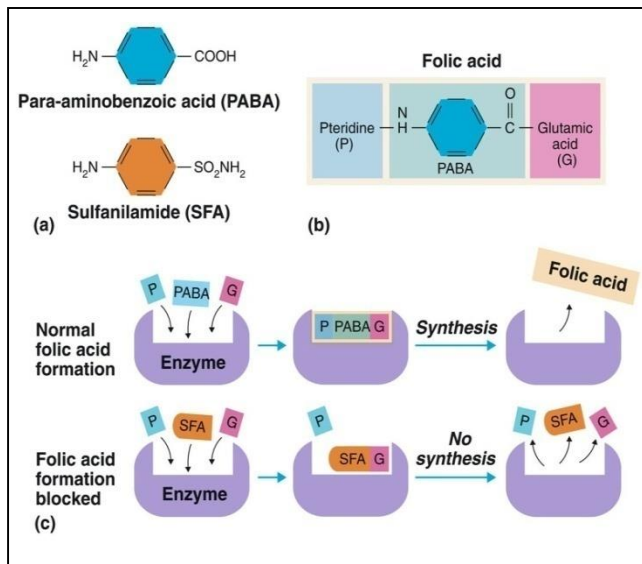
CHEMIOTERAPICI

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 Aa.



Gerhard Domagk
1935: prontosil (un colorante composto da sulfanilamide) per la cura della sifilide
1939: Nobel

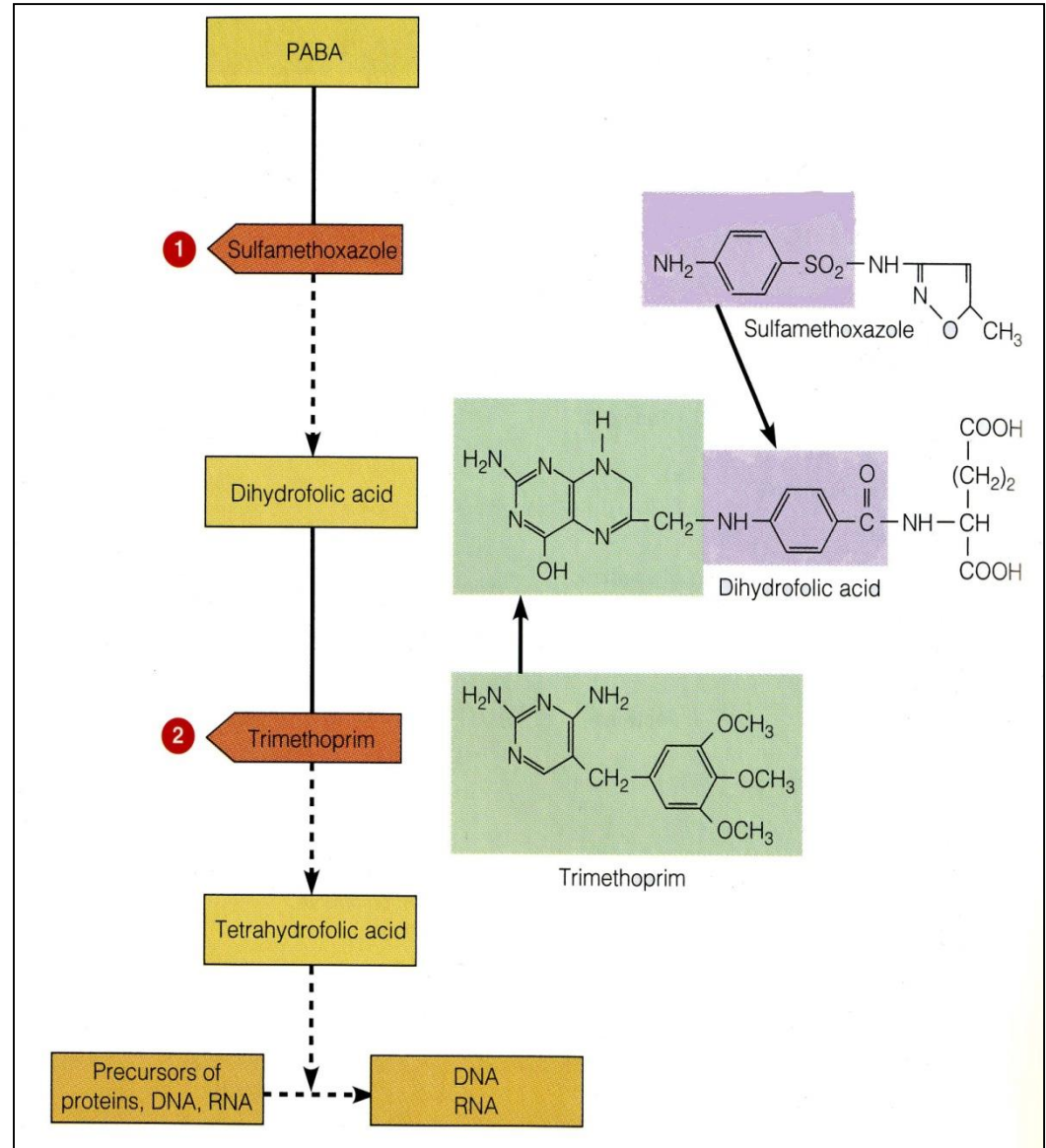


Hanno una tossicità selettiva (limitata ai batteri) perché le cellule animali utilizzano gli acidi folici che sono presenti nella dieta (o sintetizzati da batteri intestinali). I batteri invece non riescono ad assorbire gli acidi folici dell'ambiente → li devono sintetizzare. (eccezione: enterococchi,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

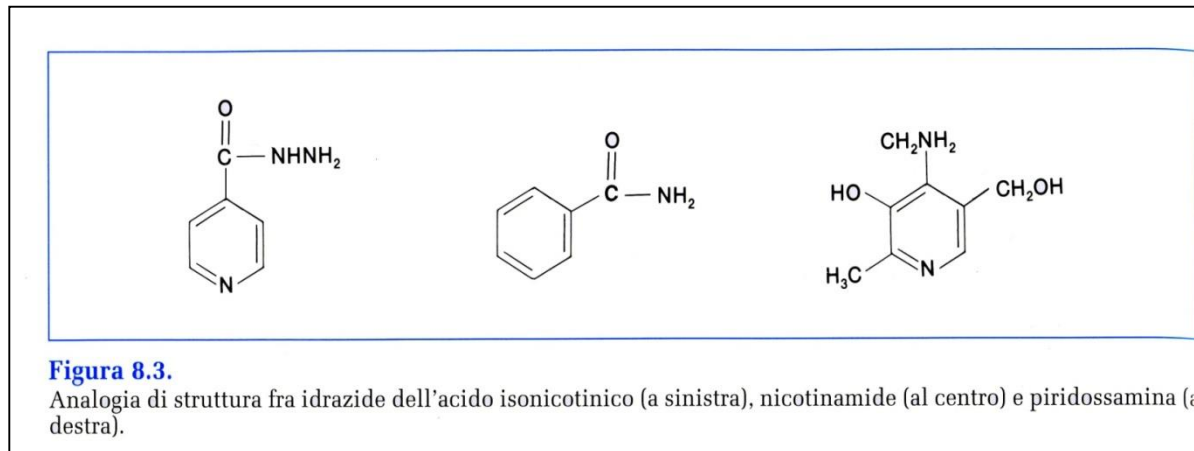
L'azione dei sulfamidici ha sempre un tempo di latenza, necessario perché i batteri esauriscano le riserve di PABA.

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.

Trimethoprim : analogo dell'acido folico, blocca la diidrofolato reduttasi. Sia le cellule animali che i batteri utilizzano la diidrofolato reduttasi per produrre acido tetrafolico (navetta metabolica essenziale per la sintesi di timidina, purine, metionina, tRNA). L'enzima batterico è 50.000 volte più sensibile all'inibitore rispetto a quello cellulare. Il trimethoprim sinergizza con i sulfamidici.



ISONIAZIDE (idrazide dell'acido isonicotinic) Analogo della nicotinamide · inibisce la sintesi del NAD. E' anche analogo della piridossiamina (vitamina B6) quindi inibisce diversi enzimi che richiedono questo cofattore. Inoltre inibisce la sintesi degli acidi micolici (componenti essenziali della parete dei Micobatteri).



CHINOLONI

Acido nalidixico (da cui i moderni chinoloni sono derivati), inattiva la girasi batterica (enzima che catalizza lo srotolamento e l'avvolgimento del DNA, necessario per la replicazione; formato da 2 subunità A e B).

I chinoloni interagiscono con la subunità A della girasi inattivando l'attività enzimatica → blocco della sintesi di DNA.

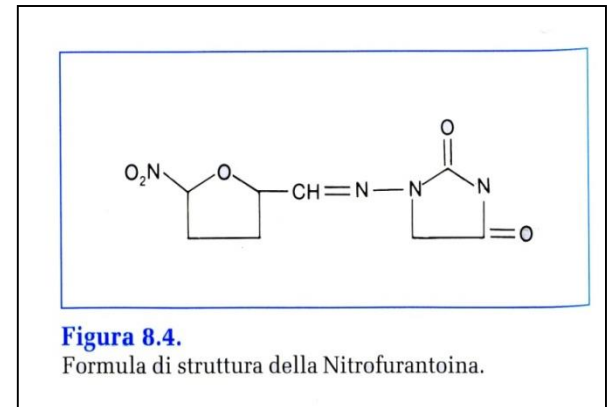
ETANBUTOLO: è batteriostatico, altera la parete dei micobatteri inibendo la sintesi degli arabinogalattani

PIRAZINAMIDE: derivato sintetico della nicotinamide, meccanismo d'azione non ancora stabilito ma sembra che blocchi la sintesi del NAD.

COMPOSTI NITROETEROCICLICI:

NITROFURANI (Nitrofurantoina): particolarmente indicati nella terapia di infezioni urinarie per la rapida ed elevata escrezione attraverso questa via.

NITROIMIDAZOLI (metronidazolo): indicati nella cura delle infezioni da batteri anaerobi obbligati



Nitrofurani e nitroimidazoli agiscono interferendo con la sintesi di DNA e RNA ed in parte provocando la degradazione del DNA preesistente.

TERAPIA ANTI-MICOBATTERI

1. ISONIAZIDE
2. ETANBUTOLO
3. PIRAZINAMIDE
4. RIFAMPICINA (derivato sintetico della rifamicina, un ATB)

1+2+3+4 = terapia iniziale per almeno 2 mesi

A questa segue la terapia di mantenimento:

Isoniazide + rifampicina = per almeno 4-6 mesi

ANTIBIOTICI

Gli antibiotici agiscono su strutture specifiche della cellula batterica e vengono suddivisi in base al loro bersaglio in:

1) INIBITORI DELLA SINTESI DELLA PARETE CELLULARE
[le cellule animali non hanno parete]

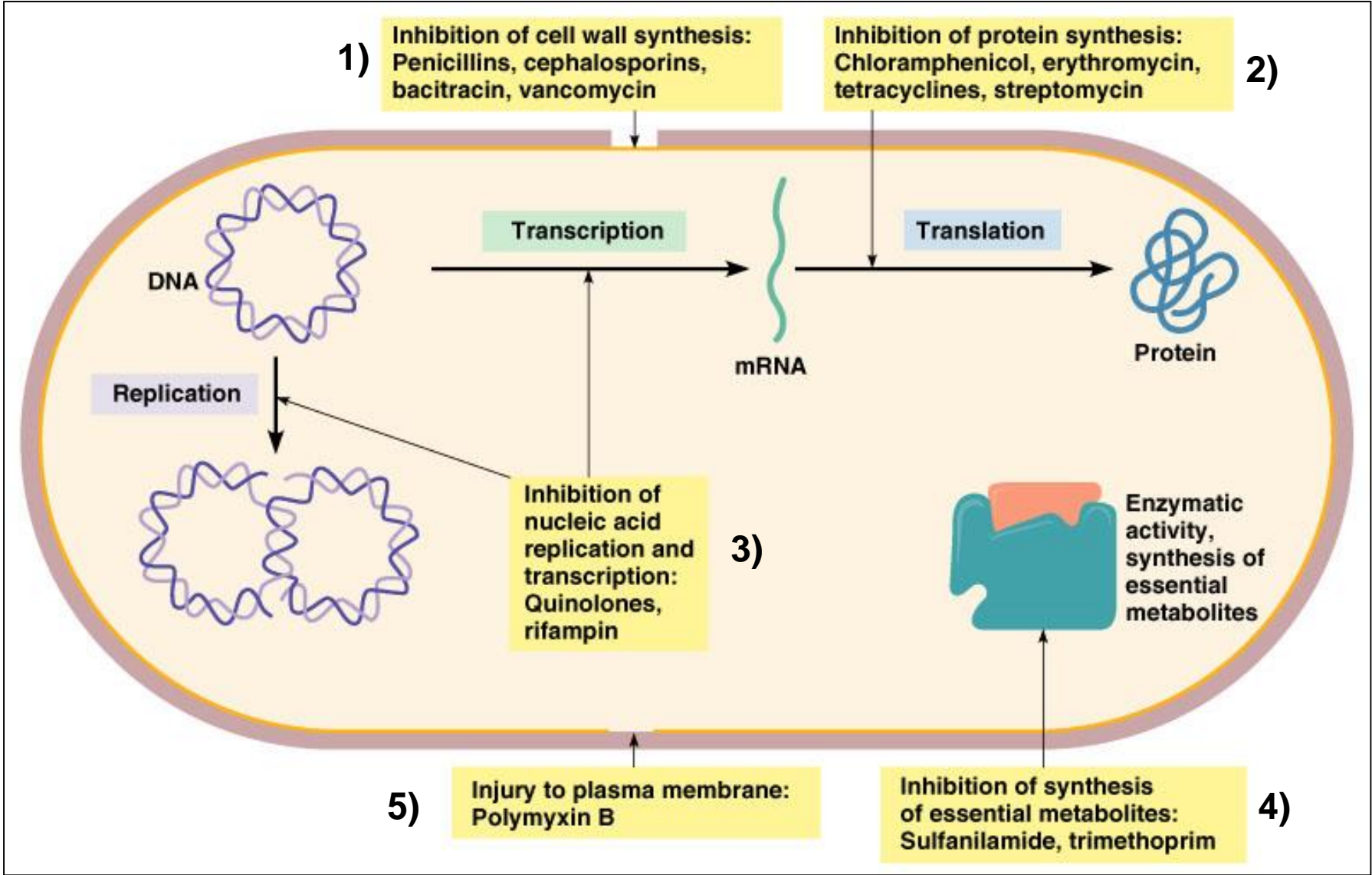
2) INIBITORI DELLA SINTESI PROTEICA
[i ribosomi batterici sono diversi da quelli eucariotici]

3) INIBITORI DELLA SINTESI DI ACIDI NUCLEICI
[bersaglio: enzimi batterici]

4) INIBITORI DELLA SINTESI DI METABOLITI ESSENZIALI
[bersaglio: processi metabolici diversi da quelli eucariotici]

**5) FARMACI CHE DISGREGANO LA MEMBRANA LIPIDICA
ESTERNA DEI GRAM- [la membrana delle cellule eucariotiche è
diversa]**

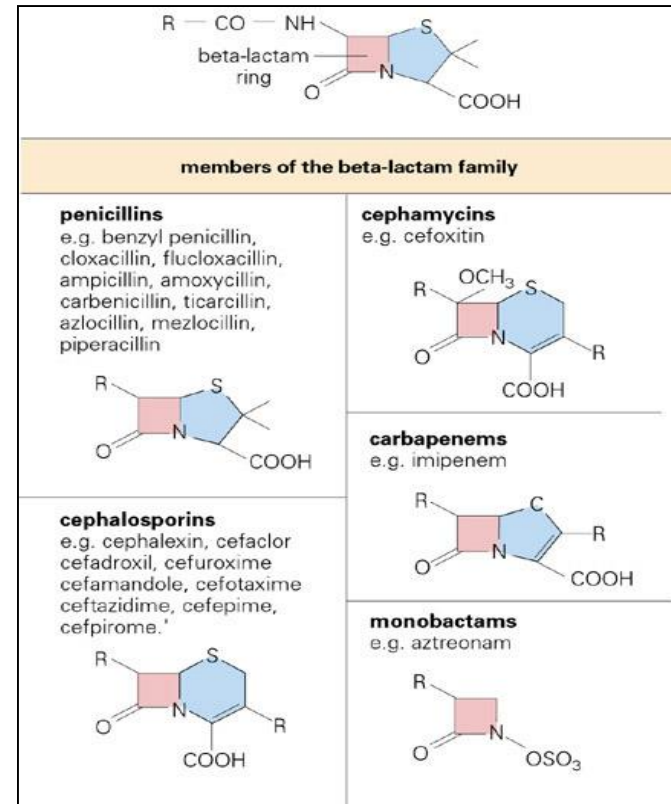
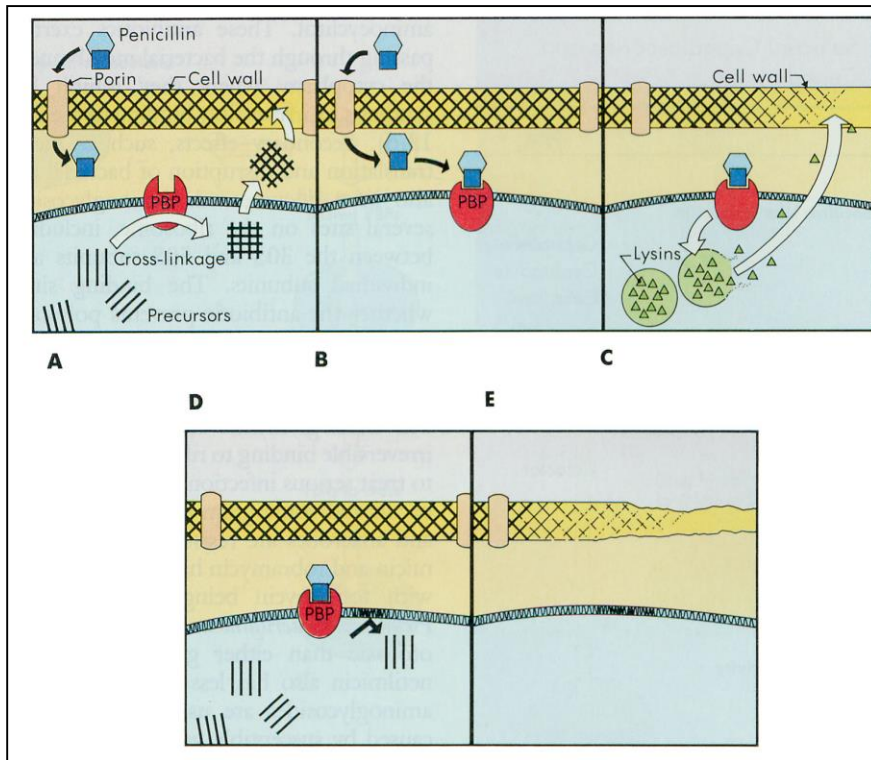
BERSAGLI DELL'AZIONE DEGLI ANTIBIOTICI



Inibitori della sintesi della parete cellulare

ANTIBIOTICI β -LATTAMICI:

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

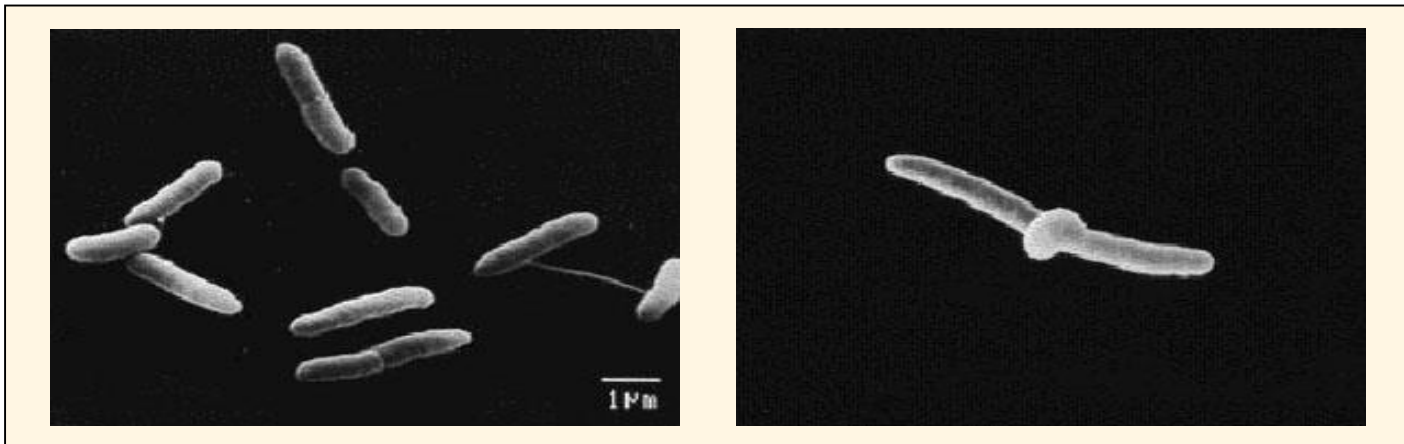


La sintesi della parete batterica è catalizzata da enzimi specifici (trans-peptidasi, carbosipeptidasi, ecc) che vengono chiamati “Penicillin Binding Proteins” (PBP), perché possono legarsi covalentemente ai farmaci β -lattamici. Questo legame impedisce il loro corretto funzionamento.

Gli antibiotici β -lattamici si legano alle PBP_s presenti nella membrana plasmatica dei batteri che sono in fase di crescita* \rightarrow inibizione della sintesi di peptidoglicano \rightarrow lisi per due diversi meccanismi:

1) rottura meccanica del peptidoglicano: non vengono più sintetizzate proteine indispensabili all'integrità della parete \rightarrow rottura della parete \rightarrow espansione del protoplasto \rightarrow fuoriuscita del protoplasto e lisi osmotica;

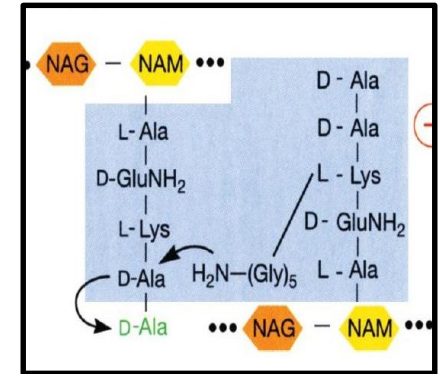
2) vengono attivati enzimi (amilasi, glicosilasi, ecc) definiti "autolisine" che degradano la parete.



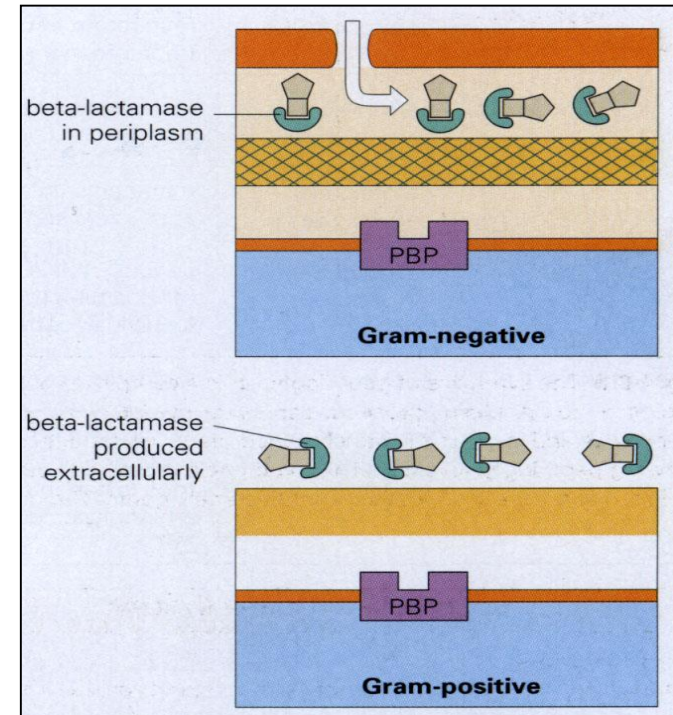
***Le penicilline sono attive solo su batteri in fase di crescita (sintesi di peptidoglicano)**

ANTIBIOTICI β -lattamici-3

Le penicilline funzionano come un analogo strutturale del dimero di D-Alanina, che forma la parte finale del pentapeptide che unisce le diverse catene di peptidoglicano. La penicillina reagisce con la transpeptidasi, formando un legame covalente stabile con conseguente inattivazione dell'enzima. Le penicilline naturali hanno diversi svantaggi: ad es., ristretto spettro di attività (solo Gram +) e suscettibilità alle β -lattamasi.



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



Sono state sviluppate penicilline semisintetiche mediante modificazioni chimiche di penicilline naturali:

Ampicillina = presenza di NH_2 nella catena laterale migliora la penetrazione attraverso la membrana esterna dei gram negativi.

Oxacillina = la presenza di un voluminoso sostituente vicino all'anello β -lattamico lo rende resistente alle β -lattamasi degli stafilococchi.

Altri antibiotici β -lattamici:

Cefalosporine: meccanismo d'azione = simile alle penicilline, ma spettro d'azione più esteso (agiscono anche su Gram - di cui penetrano la membrana esterna), e più resistente ad alcune β -lattamasi.

Acido clavulanico = scarsa attività antibatterica, ma inibisce molte β -lattamasi, con cui si combina stabilmente può essere usato in associazione con penicilline, per aumentarne l'efficacia nei batteri che producono β -lattamasi.

Carbapenemici = ampio spettro di attività e resistenti alle β -lattamasi

Monobattamici = hanno solo l'anello β -lattamico. Spettro d'azione ristretto. Un suo derivato semisintetico, l'AZ-TREONAN è molto attivo contro i Gram- anaerobi.

Altri inibitori della sintesi del peptidoglicano (non β -lattamici)

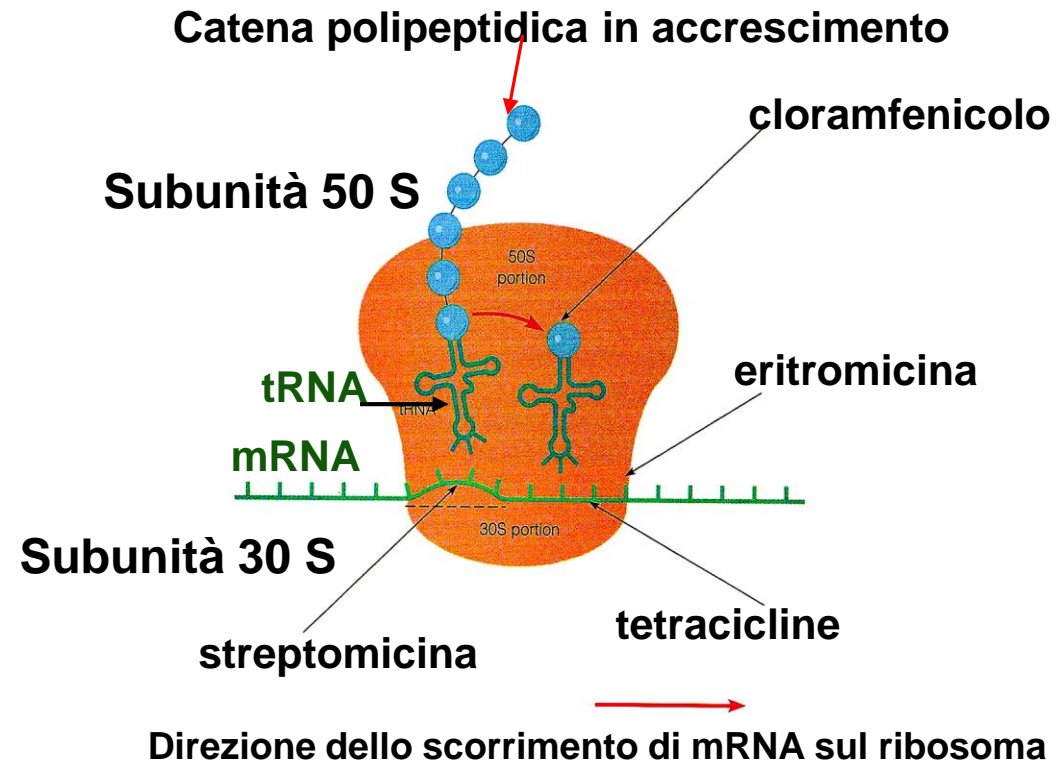
Vancomicina = glicopeptide che forma un complesso con D-Ala-D-Ala del precursore del peptidoglicano, bloccando l'estensione della catena.

Bacitracina = blocca la sintesi di NAMA, agendo su un lipide di membrana "vettore" che lega precursori del NAMA e ne permette le necessarie modificazioni chimiche.

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 è prodotta da streptomiceti (quindi da batteri) ed 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.

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

INIBITORI DELLA SUBUNITA' 50S: tutti questi ATBs competono per lo stesso sito di legame sulla subunità ribosomiale, per cui non c'è nessun vantaggio terapeutico nel loro uso associato.

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 \Rightarrow può inibire la funzione del midollo osseo \Rightarrow anemia aplastica in $\sim 1/40.000$ 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).

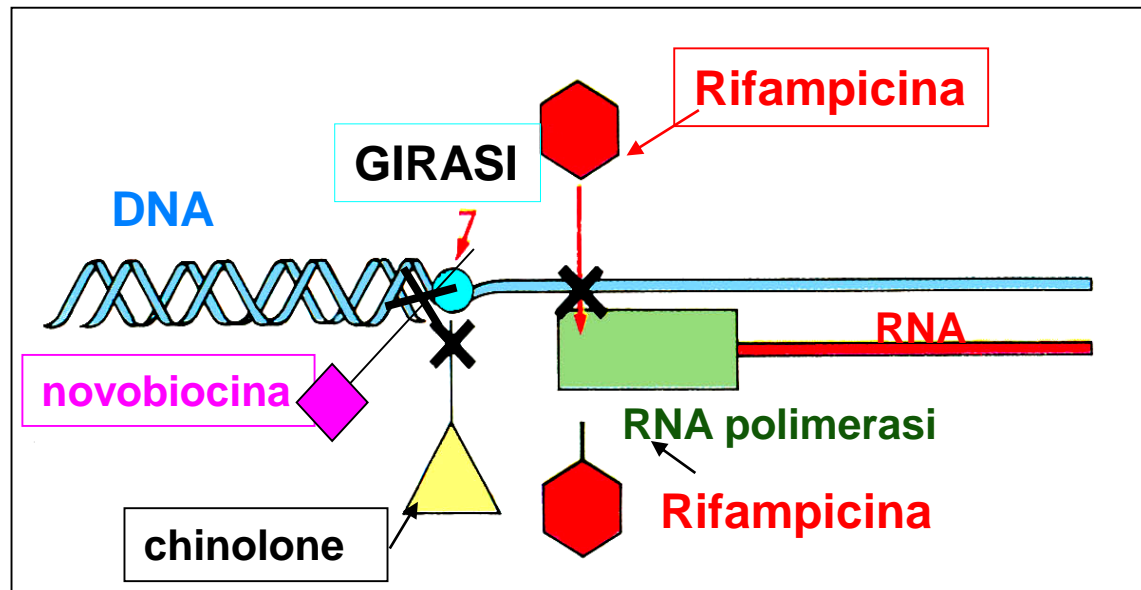
INIBITORI DELLA SINTESI DEGLI ACIDI NUCLEICI

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 \Rightarrow fuoriuscita di metaboliti. Sono selettive perché hanno molta affinità per i lipidi presenti nella membrana batterica (LPS, fosfatidiletanolamina) e poca per la fosfatidilcolina (presente nella membrana eucariotica ma non in quella batterica). Attivi anche su batteri non in fase di accrescimento.

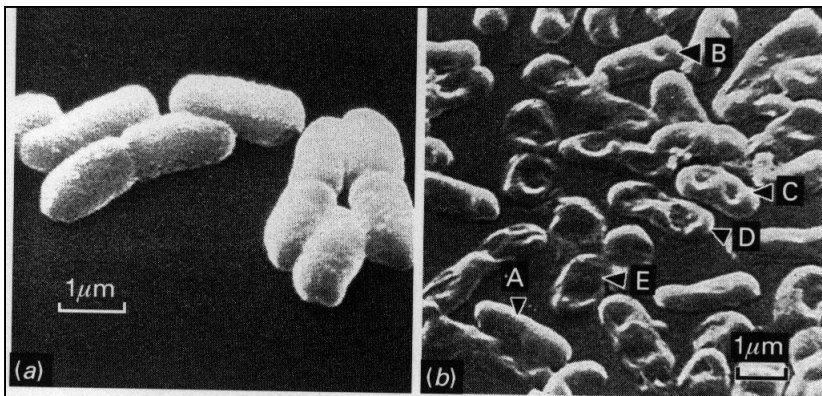
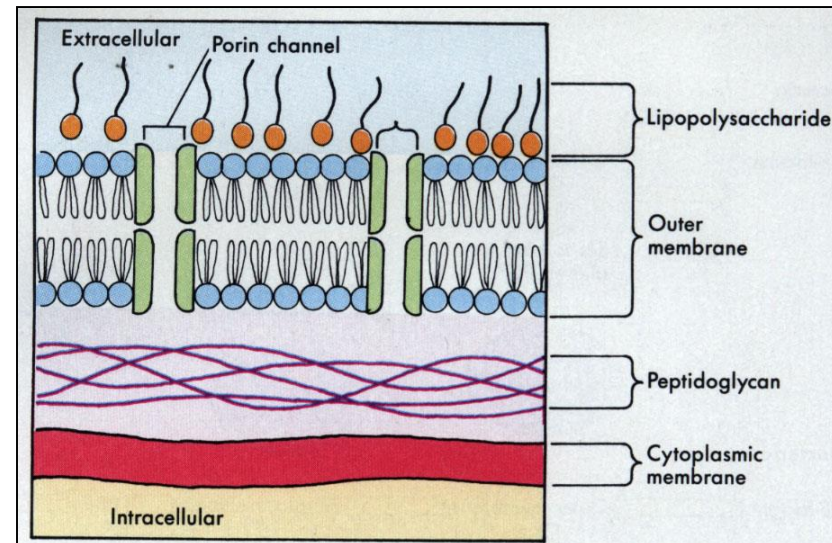
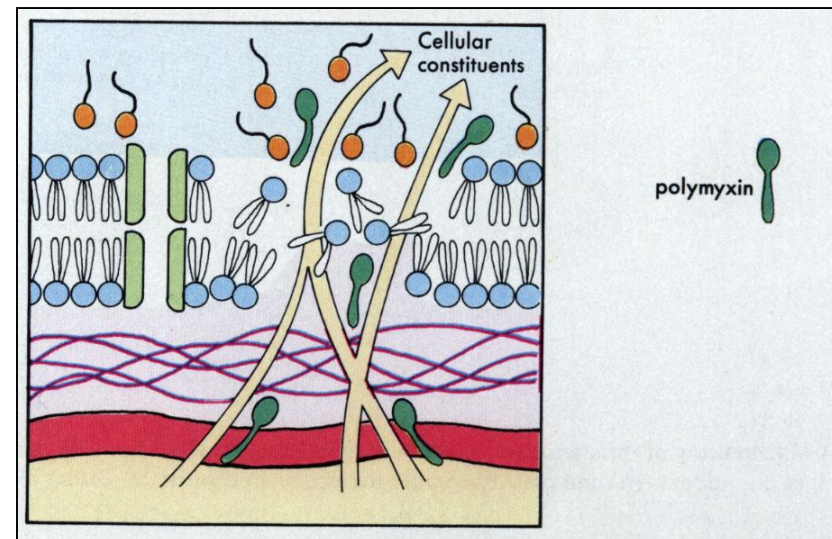


Figura 14.18

Fotografia al microscopio a scansione di *E. coli*. (a) Cellule non trattate. (b) Cellule esposte 30 minuti a 10 $\mu\text{g/ml}$ 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 naturali → Gram+; semisintetiche (i.e. oxacillina) Gram+ e Gram-
Altri β -lattamici : Cefalosporine → Gram+ e Gram-; Carbapenem e Acido clavulanico: resistenti alle penicillasi e non β -lattamici (Vancomicina)**

Inibitori della sintesi proteica:

**Ribosomi subunità 30S:
Aminoglicosidi (streptomicina)
Tetracicline**

**Ribosomi subunità 50S:
Cloramfenicolo
Macrolidi (eritromicina)**

Inibitori della sintesi di acidi nucleici:

**DNA (replicazione)
Novobiocina
(Chinoloni e Acido Nalidixico)**

**RNA (trascrizione)
Rifamicine e Rifampicine**

Sostanze che disgregano la struttura lipidica della membrana esterna dei Gram-:

Polimixine

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.

