

AGENTI ANTIBATTERICI E MECCANISMI RESISTENZA

TERMINOLOGIA...

Spettro antibatterico – Intervallo di attività di un antibiotico sui batteri. Un antibiotico a **largo spettro** può inibire una grande varietà di batteri gram-positivi e gram-negativi, mentre un farmaco a **spettro ristretto** è attivo soltanto su una limitata varietà di microorganismi.

Attività batteriostatica – Il livello di attività antibatterica che inibisce la crescita di un microorganismo. Viene determinata *in vitro* saggiando una concentrazione standard di microorganismi con una serie di diluizioni di antibiotico. La più bassa concentrazione che inibisce la crescita del microorganismo è definita la **minima concentrazione inibente (MIC)**.

Attività battericida – Il livello di attività antimicrobica che uccide il microorganismo saggiato. È determinata *in vitro* esponendo concentrazioni standard del microorganismo ad una serie di diluizioni dell'antibiotico. La più bassa concentrazione che uccide il 99,9% della popolazione viene considerata la **minima concentrazione battericida (MBC)**.

Combinazione di antibiotici – Si possono usare combinazioni di antibiotici (1) per ampliare lo spettro antibatterico per una terapia empirica o per il trattamento di infezioni polimicrobiche, (2) per prevenire la comparsa di microorganismi resistenti alla terapia e (3) per ottenere un effetto sinergico di uccisione.

Sinergismo antibiotico – Combinazioni di due antibiotici che hanno un'attività battericida aumentata quando sono saggiati insieme rispetto all'attività dei singoli antibiotici.

Antagonismo antibiotico – Combinazione di antibiotici in cui l'attività di un antibiotico interferisce con l'attività dell'altro (per esempio, la somma dell'attività è minore dell'attività dei singoli farmaci).

Beta-lattamasi – Un enzima che idrolizza l'anello beta-lattamico degli antibiotici beta-lattamici, inattivando così l'antibiotico. Gli enzimi specifici per penicilline e cefalosporine sono rispettivamente le **penicillinasi** e le **cefalosporinasi**.

I farmaci antibatterici sono attivi per la loro tossicità selettiva = capacità di uccidere/danneggiare i batteri senza danno per le cellule dell'ospite.

I farmaci vengono suddivisi in gruppi con meccanismi d'azione e caratteristiche biochimiche comuni:

5 GRUPPI

1. parete



Sintesi della parete
Beta-lattamici
Vancomicina
Bacitracina
Isoniazide
Etambutolo
Cicloserina
Etionammide

4. acidi nucleici



Replicazione del DNA
Chinoloni
Metronidazolo

Sintesi dell'RNA
Rifampicina
Rifabutina

3. membrane



Alterazione membrane cellulari:
Polimixina
Colistina

2. sintesi proteica



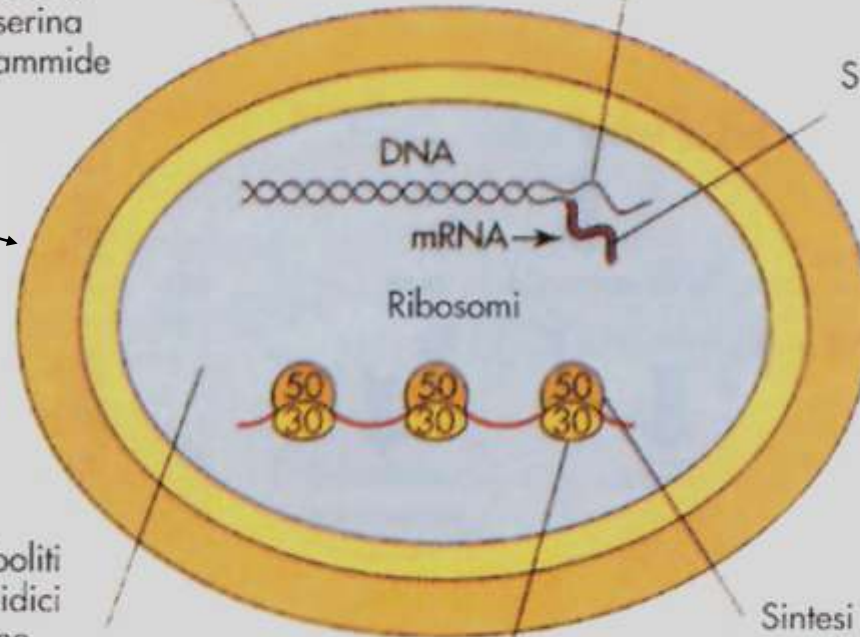
Sintesi proteica (ribosomi 30S)
Amminoglicosidi
Tetraciline

Sintesi proteica (ribosomi 50S)
Cloramfenicolo
Macrolidi
Clindamicina

5. metabolismo



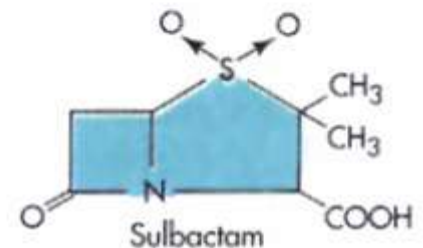
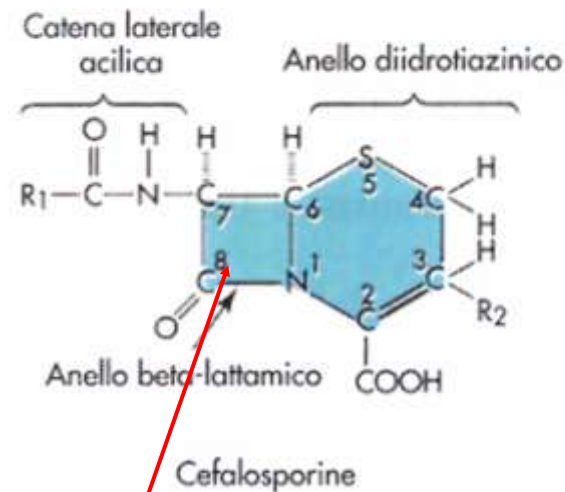
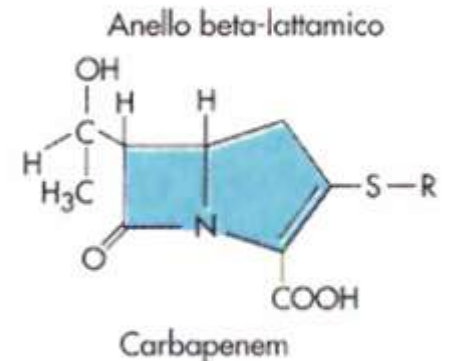
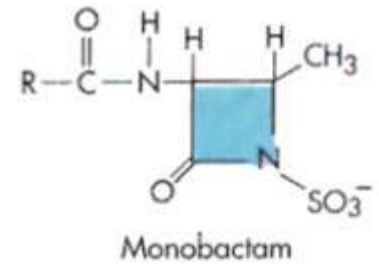
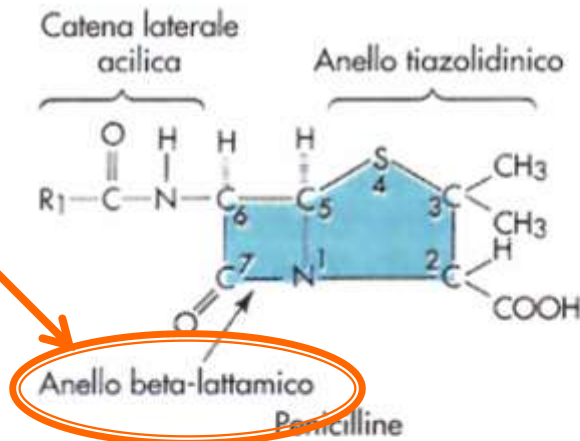
Antimetaboliti
Sulfamidici
Dapsone
Trimethoprim
Acido-*p*-amminosalicilico



1-INIBIZIONE SINTESI PARETE

Antibiotici beta-lattamici

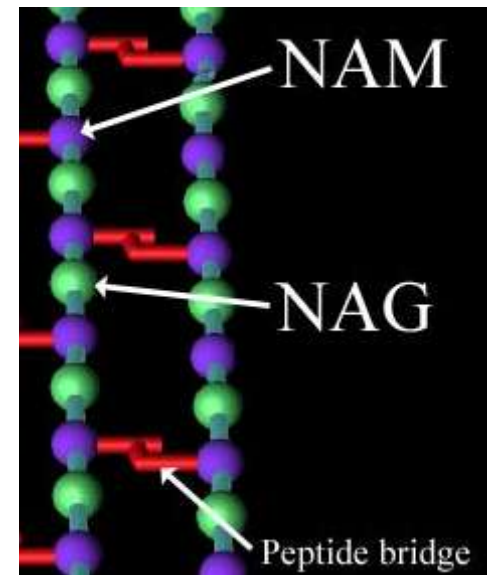
- Penicilline
- Cefalosporine e Cefamicine
- Carbapenemici e Inibitori delle beta-lattamasi (acido clavulanico)



Beta-lattamasi

MECCANISMO DI AZIONE

Gli antibiotici beta-lattamici agiscono *legandosi agli enzimi che catalizzano le reazioni di transpeptidazione* (formazione di legami crociati) tra pentapeptidi e nei ponti pentaglicinici. Questi enzimi (*transpeptidasi, transglicosidasi, endopeptidasi e carbossipeptidasi*) sono definiti **proteine leganti la penicillina (PBP, penicillin-binding proteins)** e sono presenti sulla membrana cellulare.



PENICILLINE

PENICILLINE NATURALI

Benzilpenicillina (penicillina G)
Fenossimetil penicillina (penicillina V)

PENICILLINE PENICILLINASI-RESISTENTI

Nafcillina
Meticillina
Oxacillina
Cloxacillina
Dicloxacillina

PENICILLINE AD AMPIO SPETTRO

Amminopenicilline (ampicillina, amoxicillina)
Carbossipenicilline (carbenicillina e ticarcillina)
Ureidopenicilline (mezlocillina, piperacillina)

Le **naturali** sono attive solo contro Gram+; azione limitata contro stafilococchi e bacilli Gram-

Penicilline **penicillinasi-resistenti** (es: meticillina) sono attive anche contro gli stafilococchi.

Penicilline ad **ampio spettro** (es: ampicillina) sono attive anche contro bacilli Gram-

CEFALOSPORINE E CEFAMICINE

Prima e seconda generazione attiva contro Gram+ ed alcuni Gram-

Terza generazione attiva contro Gram+ e maggiore attività contro Gram -

AGENTI A SPETTRO RISTRETTO (PRIMA GENERAZIONE)

Cefalexina	Cefapirina
Cefalotina	Cefradina
Cefazolina	

AGENTI A SPETTRO ESTESO (SECONDA GENERAZIONE)

Cefaclor	Cefuroxime
Cefamandolo	Cefotetan
Cefonicid	Cefoxitina

AGENTI AD AMPIO SPETTRO (TERZA GENERAZIONE)

Cefepime	Cefotaxime
Cefixime	Ceftazidime

ALTRI ANTIBIOTICI BETA-LATTAMICI

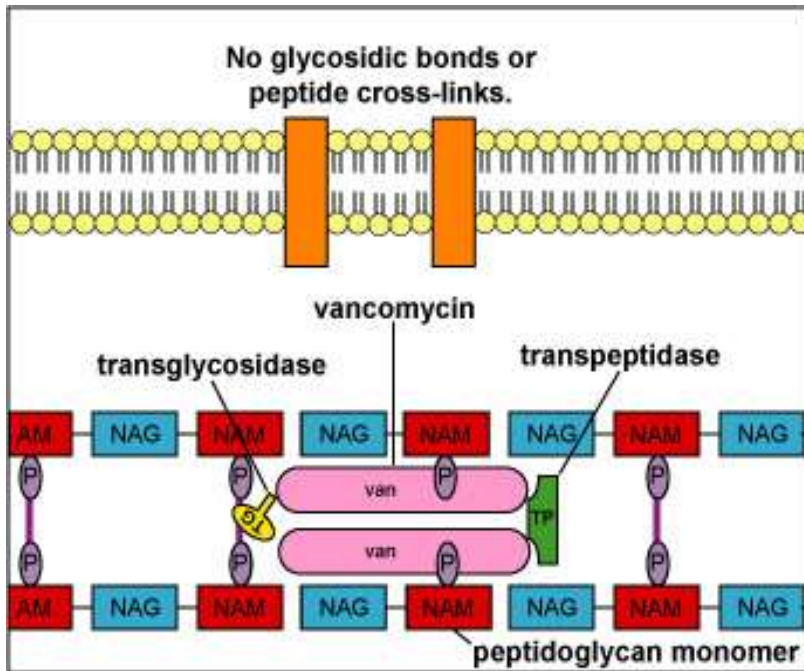
Carbapenem
Imipenem
Meropenem
Monobactam
Aztreonam
Inibitore di beta-lattamasi/beta-lattamico
Acido clavulanico/amoxicillina
Acido clavulanico/ticarcillina
Sulbactam/ampicillina
Tazobactam/piperacillina

Carbapenemici: ad **ampio spettro**, attivi contro la maggior parte dei Gram+ e dei Gram-,

Inibitori beta-lattamasi (Acido clavulanico) vengono combinati con β -lattamici per trattare

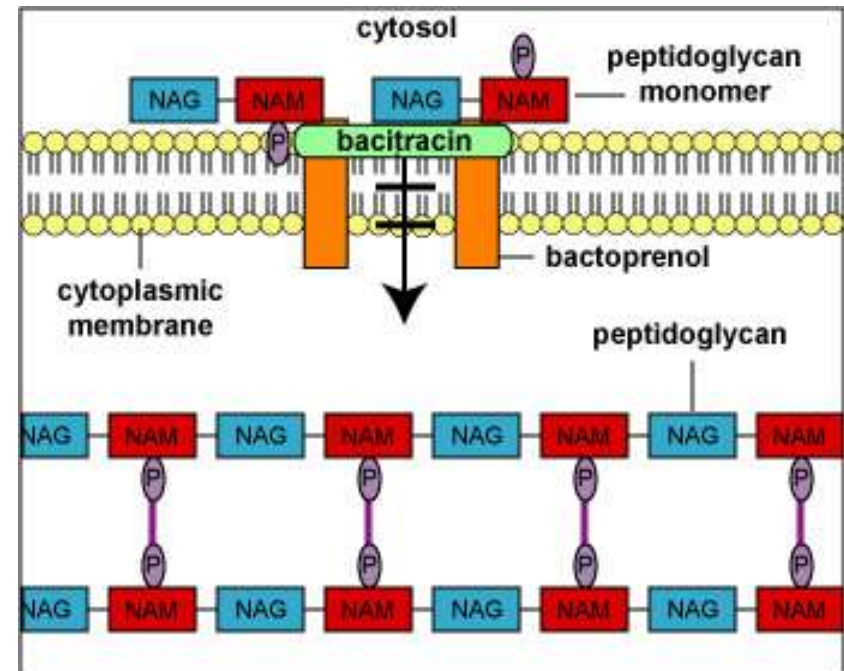
batteri che producono beta-lattamasi. Gli inibitori legano e inattivano le beta-lattamasi e permettono ai β -lattamici di entrare nella cellula batterica senza subire la degradazione enzimatica.

ANTIBIOTICI NON BETA-LATTAMICI



VANCOMICINA. Interagisce con la D-ala-D-ala terminale delle catene laterali penta-peptidiche interferendo con la formazione dei ponti. Attiva contro stafilococchi oxacillina-resistenti e altri Gram+ resistenti ai beta lattamici. Inattiva sui Gram- (molecola grande che non passa la membrana esterna dei Gram-).

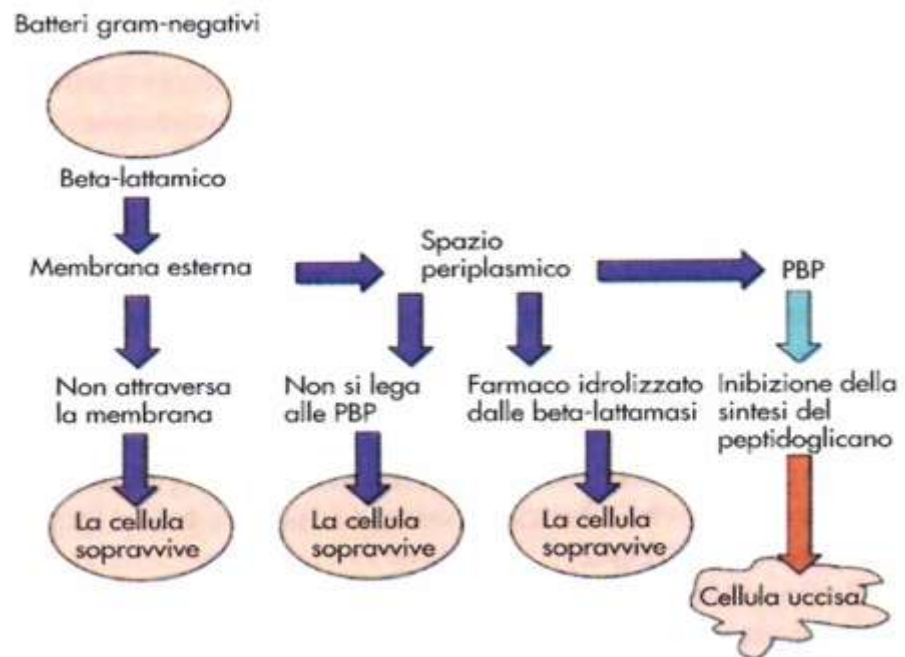
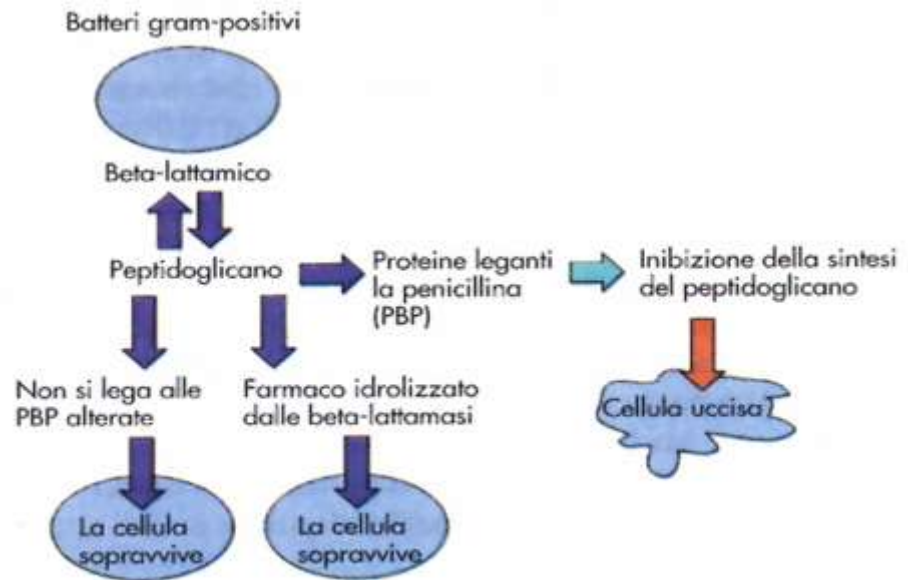
Resistenza: sostituzione di una D-ala con un D-lattato che non lega l'antibiotico.



BACITRACINA. Miscela di polipeptidi per uso topico (creme, unguenti, spray) per il trattamento delle infezioni della pelle causata dai Gram+. Defosforila il trasportatore dei precursori del peptidoglicano.

MECCANISMI DI RESISTENZA AI BETA-LATTAMICI

1. Alterazione delle PBP
2. Idrolisi da parte delle beta-lattamasi
3. Alterazione permeabilità di membrana (Gram-)



2-INIBIZIONE SINTESI PROTEICA

➤ Amminoglicosidi

➤ Tetraciclina

➤ Cloramfenicolo

➤ Macrolidi

30S

50S

30S - AMMINOGLICOSIDI E TETRACICLINE

Si legano irreversibilmente alle proteine dei ribosomi **30S**.

Due effetti: produzione di proteine aberranti e interruzione della sintesi per rilascio prematuro del mRNA.

Ampio spettro.

Prima scelta per bacilli Gram-.

Amminoglicoside

Streptomicina

Neomicina

Gentamicina

Kanamicina

Tobramicina

Amikacina

Netilmicina

Amminociclitolio

Spectinomicina

RESISTENZA

- Mutazione del sito legante il ribosoma
- Ridotta penetrazione nella cellula batterica
- Modificazione enzimatica dell'antibiotico mediante fosforilazione, adenilazione o acetilazione dei gruppi amminici e idrossilici

Tetracicine

Tetraciclina

Doxiciclina

Minociclina

50S - MACROLIDI E CLORAMFENICOLO

Macrolidi
Eritromicina
Claritromicina
Azitromicina
Spiramicina

Macrolidi: ad **ampio spettro** contro batteri Gram + ed alcuni Gram- (*neisseria*, *legionella*, *treponema*, *mycoplasma*, *chlamydia*).

RESISTENZA: Metilazione dell'RNA ribosomale, che impedisce il legame dell'antibiotico; distruzione enzimatica dell'anello lattonico; efflusso attivo dell'antibiotico.

Cloramfenicolo: ad ampio spettro. Effetto **BATTERIOSTATICO** con inibizione della sintesi proteica e blocco dell'allungamento del peptide. Usato solo nel trattamento della febbre tifoide perchè alle concentrazioni attive risulta **tossico** per le cellule del midollo.

RESISTENZA: Acetilazione del gruppo ossidrilico della molecola antibiotica che altera il legame alla subunità 50S.

3-ALTERAZIONE DELLE MEMBRANE CELLULARI

Polimixine e Colistine: sono **detergenti** che distruggono le membrane dei batteri Gram(-).

Sono però **nefrotossici** e usati principalmente nel trattamento topico (otiti, infezioni dell'occhio e della pelle).

Le preparazioni iniettabili o per aerosol devono essere somministrate sotto controllo e in soggetti con normale funzionalità renale.

4-INIBITORI DELLA SINTESI DEGLI ACIDI NUCLEICI (DNA E RNA)

- **Chinoloni e Metronidazolo (DNA)**
- **Rifampicina e rifabutina (RNA)**

CHINOLONI

Inibiscono le **DNA girasi** e le **topoisomerasi** necessari per rilassare e superavvolgere il DNA batterico .

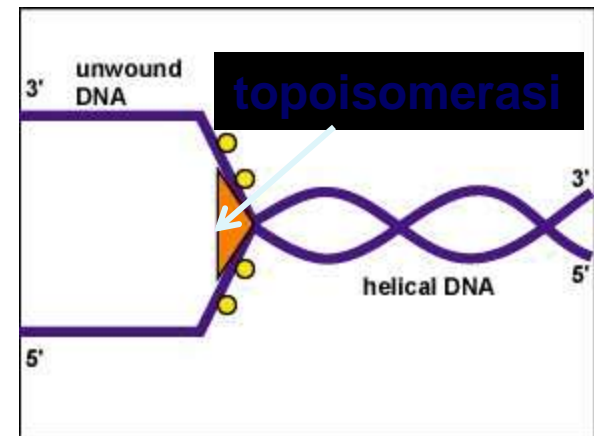
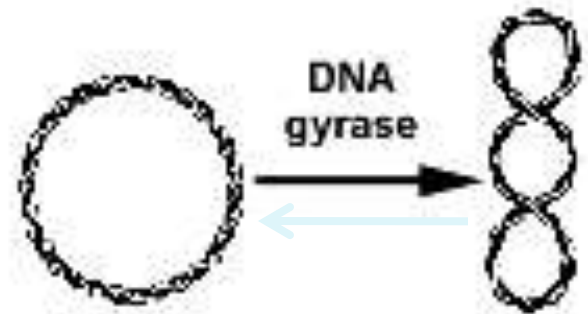
Spettro ristretto (ac. Nalidixico) attivi contro bacilli G-, no G+.

Ampio spettro (ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina) attivi contro batteri G+ e G-.

Resistenza: Ridotto ingresso del farmaco per alterazione delle porine di membrana.

Modificazione della DNA girasi.

Acido nalidixico	Levofloxacina
Norfloxacina	Lomefloxacina
Ciprofloxacina	Sparfloxacina
Ofloxacina	



RIFAMPICINA

Si lega all'RNA polimerasi DNA-dipendente ed inibisce l'inizio della **sintesi dell' RNA** (trascrizione).

E' battericida per *Mycobacterium tuberculosis*.

RESISTENZA

Mutazione dell'RNA polimerasi DNA-dipendente.

I Gram- sono naturalmente resistenti poiché l'antibiotico idrofobico non supera la parete esterna.

5-ANTIMETABOLITI

Sulfamidici

Meccanismo: Attività antimetabolica o antagonismo competitivo.

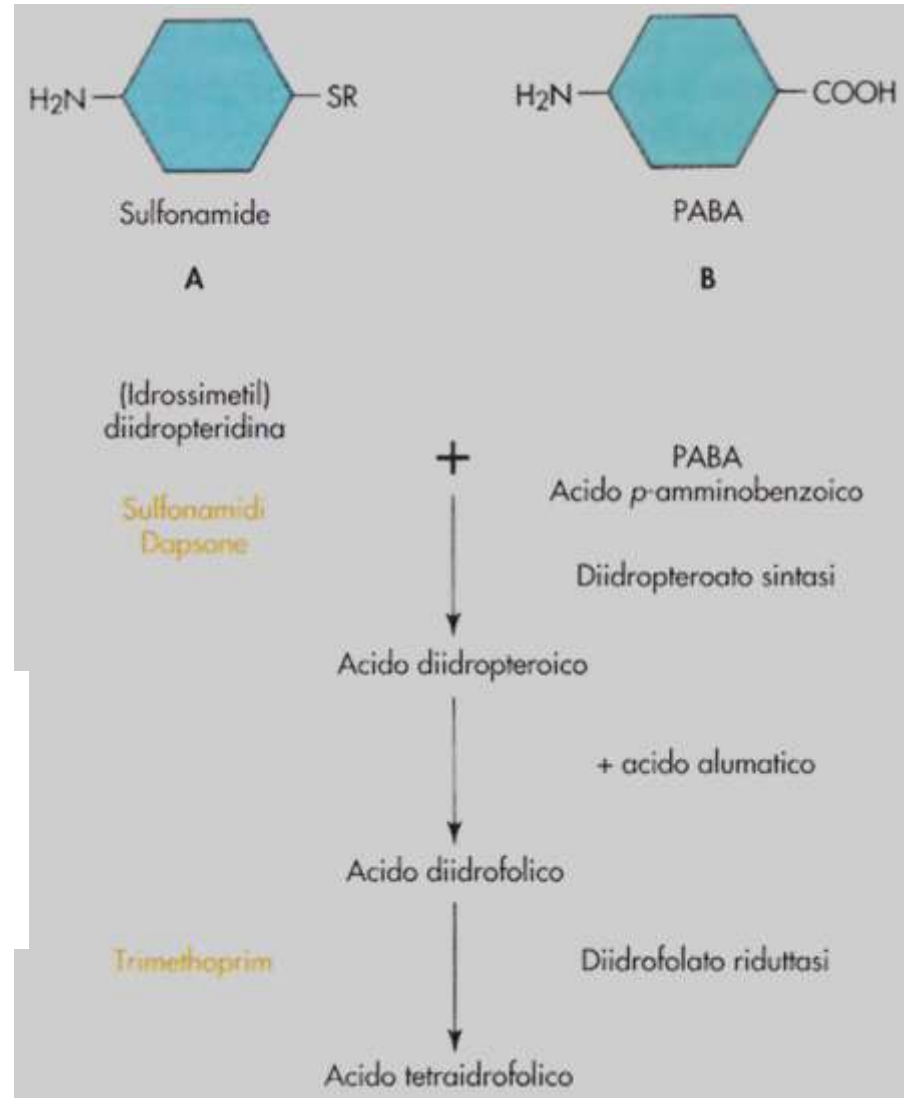
Competono con l'acido *p*-amminobenzoico impedendo la sintesi di acido folico.

Ampio spettro.

Farmaci di elezione per il trattamento di infezioni acute del tratto urinario provocate da batteri sensibili come *E. coli*

RESISTENZA

Barriere di impermeabilità;
Ridotta affinità per la idrofolato riduttasi.



TRATTAMENTO DELLA TUBERCOLOSI

Attivi sulla parete cellulare:

Isoniazide e etionammide:

influenzano la sintesi dell'acido micolico.

Etanbutanolo: interferisce con la sintesi di arabinogalattano.

Cicloesirina: inibisce due enzimi, la D-alanina sintetasi e l'alanina racemasi, che catalizzano la sintesi della parete.

Attivi sulla sintesi degli acidi

nucleici:

Rifampicina

Macrolide (levofloxacina)

RESISTENZA


Ridotto ingresso dei farmaci

Alterazione dei siti bersaglio

LA RESISTENZA AI FARMACI

ANTIBATTERICI: L'ASPETTO BIOLOGICO

I principali meccanismi di resistenza ai farmaci antibatterici sono:

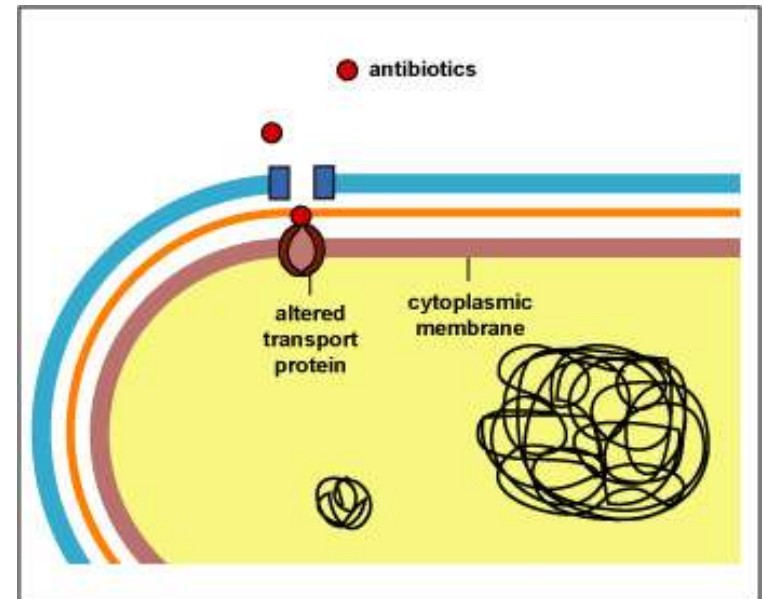
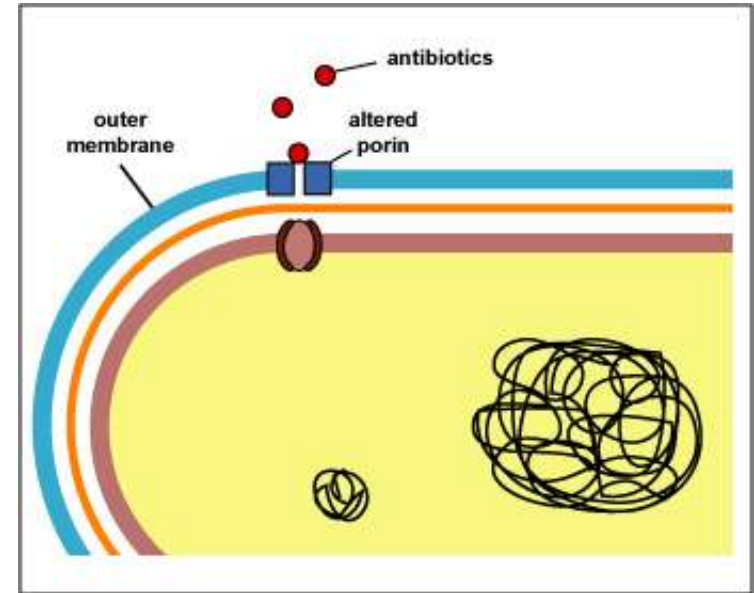
- 1. Alterazione ed interferenza nel trasporto del farmaco**
 - 2. Attivazione di pompe di efflusso**
 - 3. Modificazione del sito bersaglio dell'antibiotico**
 - 4. Distruzione o inattivazione del farmaco**
 - 5. Modulazione dell'espressione genica per produrre un maggior numero di siti bersaglio (competizione con il substrato)**
- 

1. Alterazione ed interferenza nel trasporto del farmaco

ALTERAZIONI PORINE. Modificazioni nelle proteine che formano le pareti dei pori possono alterare le dimensioni e la carica dei canali e provocare l'esclusione dell'antibiotico

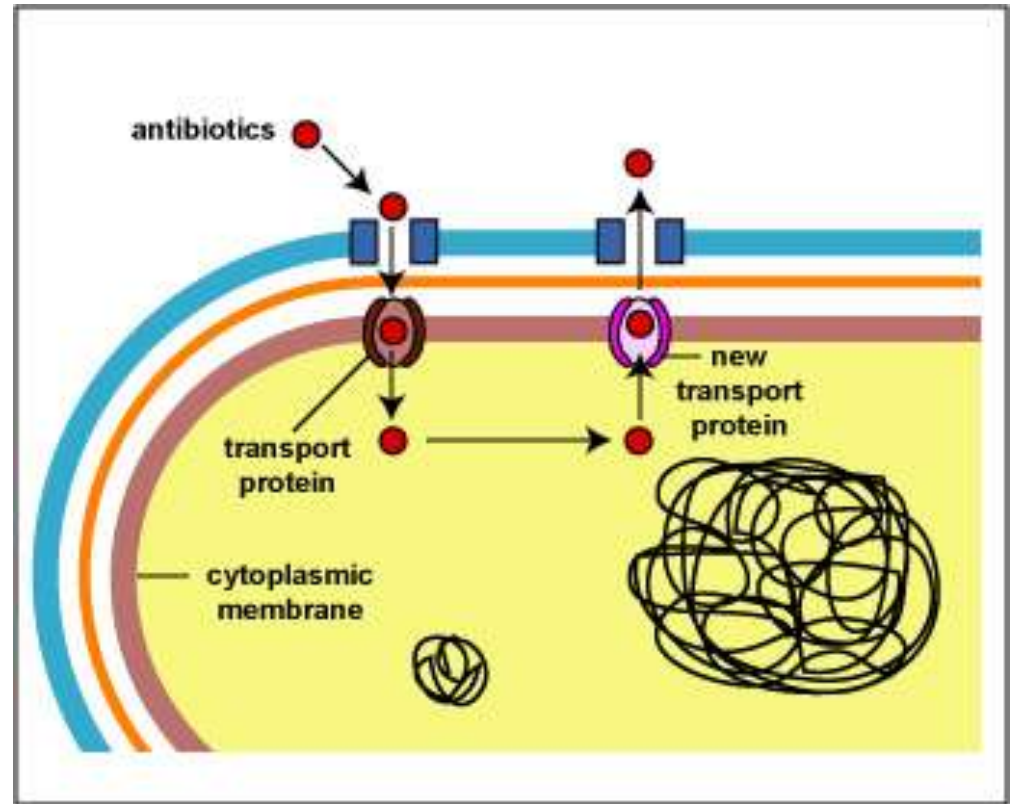
ALTERAZIONE PROTEINE DI TRASPORTO. Alterato trasporto attraverso la membrana cellulare

*Meccanismo di resistenza contro:
Beta lattamici, Bacitracina, Farmaci contro la parete dei micobatteri, Amminoglicosidi, Chinoloni, Rifampicina, Antimetaboliti*



2. Attivazione di pompe di efflusso

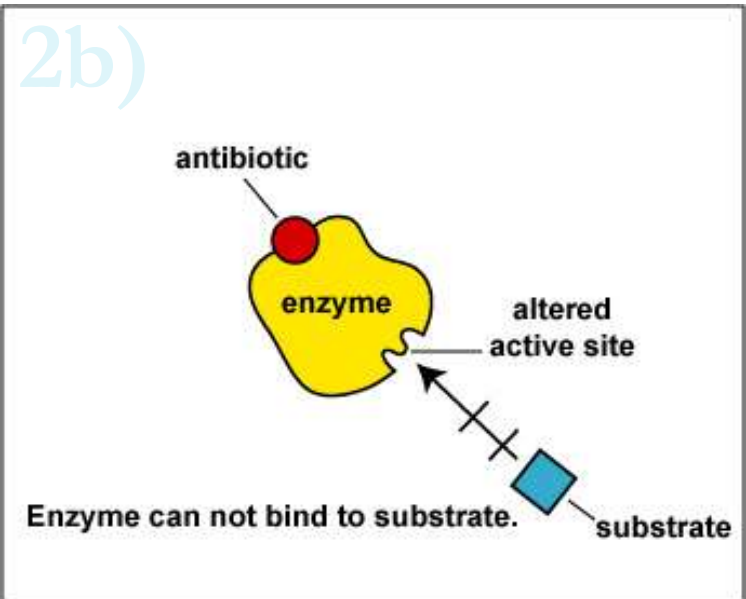
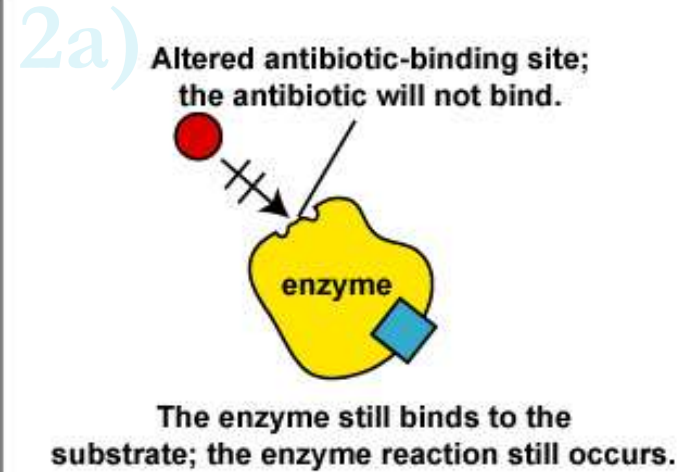
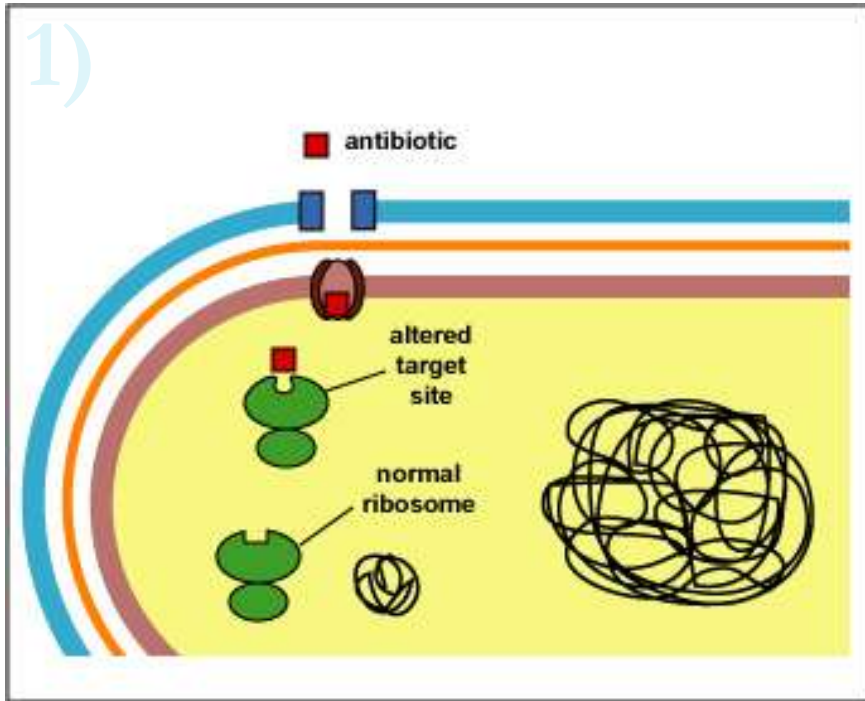
Pompe di efflusso che eliminano il farmaco espellendolo attivamente dalla cellula.



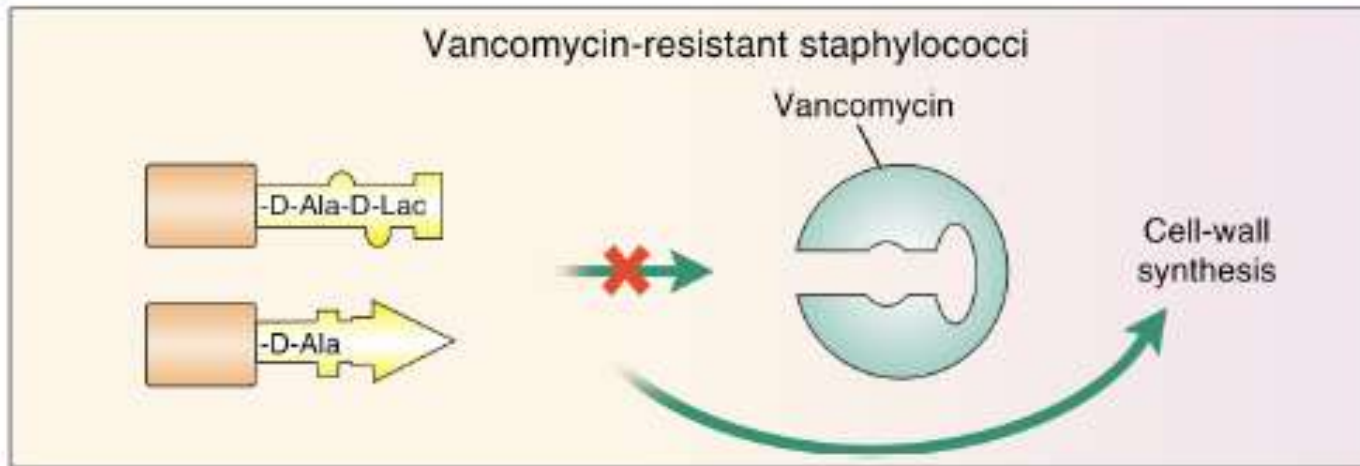
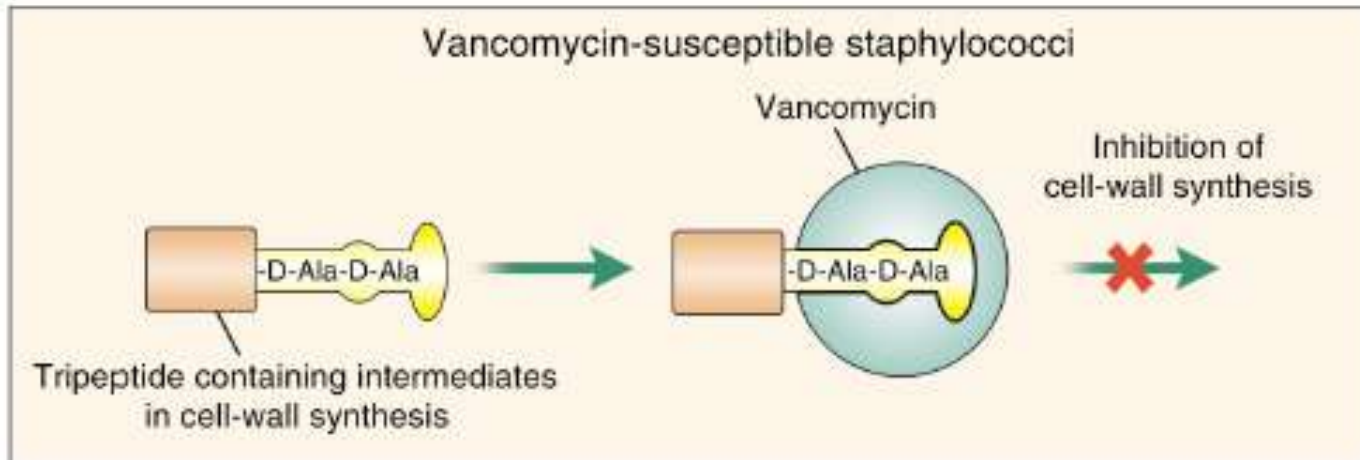
*Meccanismo di resistenza contro:
Tetracicline, Fluorochinoloni.*

3. Modificazione del sito bersaglio dell'antibiotico

Alterati ribosomi (1) ed altri targets (2a, 2b) dell'antibiotico.



ESEMPIO: Alterati targets dell'antibiotico, resistenza a vancomicina



ALTERAZIONE DEI TARGETS

Meccanismo di resistenza contro:

Beta lattamici (alterate PBP)

Vancomicina (sostituzione nel peptidoglicano del terminale del pentapeptide da D-alanina in D-lattato o D-serina)

Amminoglicosidi (mutazione del sito legante il ribosoma)

Tetracicline (produzione di proteine simili al fattore di allungamento che protegge il ribosoma 30S)

Macrolidi (metilazione dell'RNA ribosomiale 23S che impedisce il legame dell'antibiotico)

Chinoloni (alterazione delle subunità alfa della DNA girasi)

Rifampicina (modificazione della subunità beta dell'RNA polimerasi)

Sulfamidici (ridotta affinità di idrofolato riduttasi)

4. Distruzione o inattivazione del farmaco

Produzione intra ed extra cellulare di enzimi inattivanti

Meccanismo di resistenza contro:

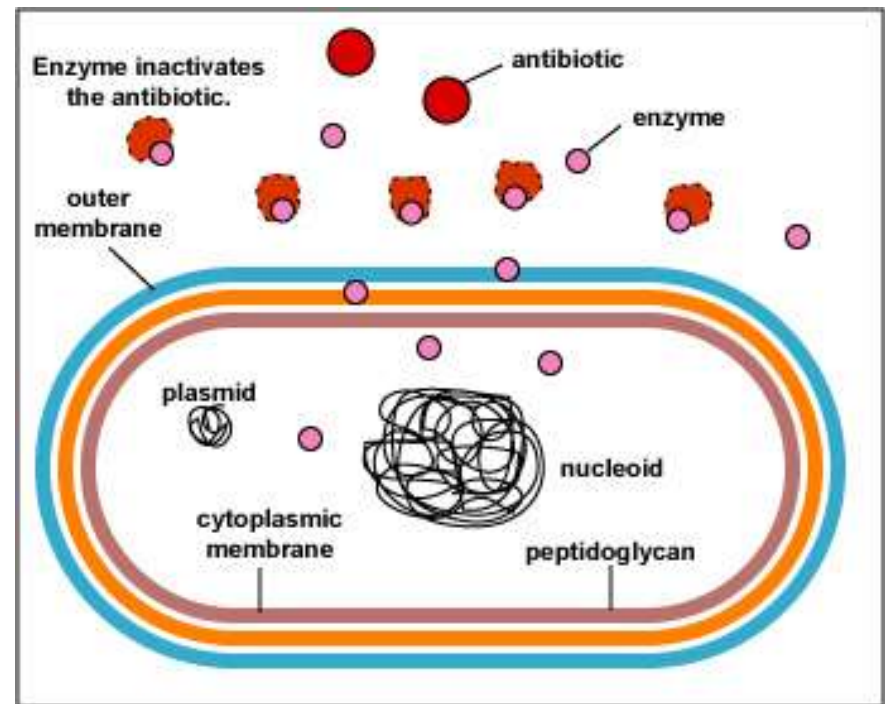
Beta lattamici (beta lattamasi)

Amminoglicosidi (fosforilazione, adenilazione e acetilazione della molecola)

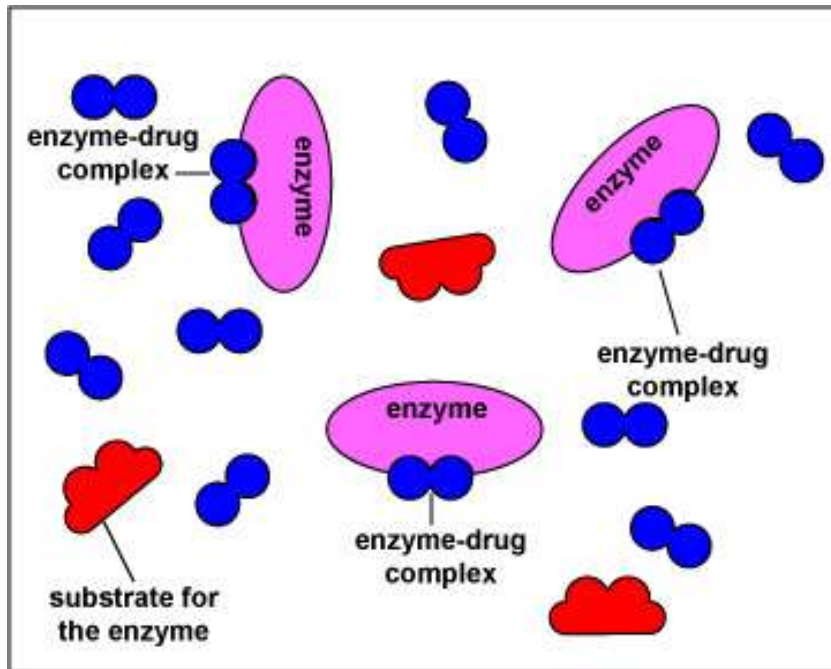
Cloramfenicolo (acetilazione)

Macrolidi (distruzione dell'anello lattonico da parte di una eritromicina esterasi)

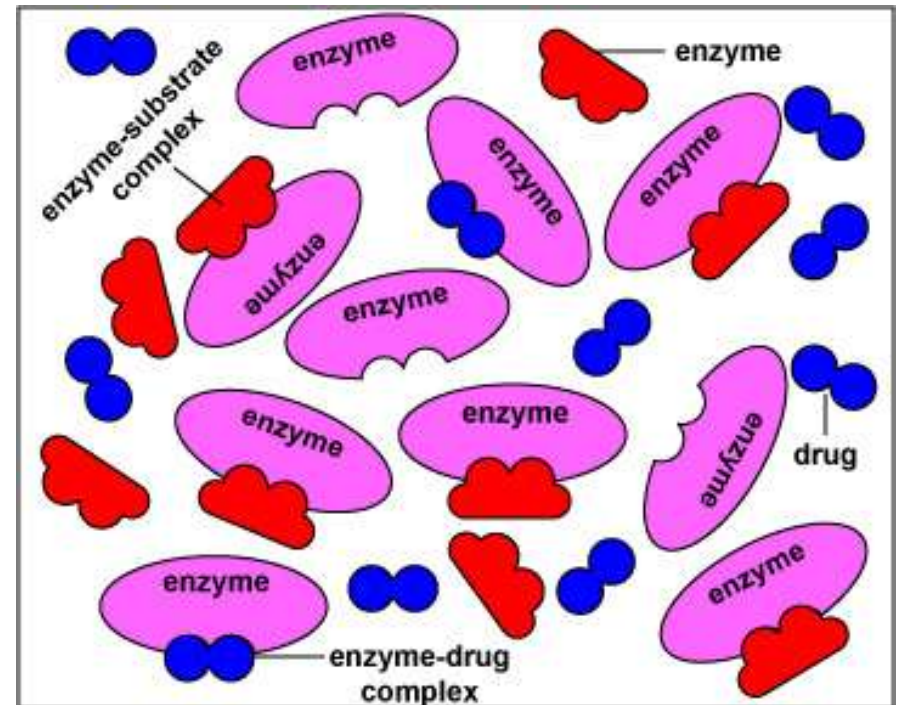
Sulfamidici (produzione di timidina come antagonista)



5. Modulazione dell'espressione genica per produrre un maggior numero di siti bersaglio (competizione con il substrato)



Producendo maggiori quantità di bersaglio (Es: enzima) la concentrazione di farmaco non riesce più ad essere attiva.



I meccanismi di resistenza sono spesso MULTIFATTORIALI.

TABLE 12-1 Antimicrobial Resistance

Antimicrobial	Resistance Mechanism	Genetic Basis
Penicillin	β -lactamase. Enzymatic inactivation of penicillin	Plasmid
Methicillin	Expression of new penicillin-resistant penicillin-binding protein. Bypass	Novel chromosomal locus acquired from unknown source
Tetracycline	1. Efflux from cell	Plasmid
	2. Modification of ribosome	Novel chromosomal locus acquired from unknown source
Chloramphenicol	Enzymatic inactivation	Plasmid
Erythromycin	Enzymatic modification of ribosomal RNA. Prevents drug binding to ribosome	Plasmid
		Transposon in chromosome
Streptomycin	1. Mutation in ribosomal protein. Prevents drug binding	Mutation in chromosomal gene encoding drug target
	2. Enzymatic inactivation	Plasmid
Kanamycin Gentamicin	Enzymatic inactivation	Plasmid Transposon in chromosome
Trimethoprim	Alternative dihydrofolate reductase. Bypass	Plasmid
Mupirocin	Alternative isoleucyl tRNA synthase. Bypass	Plasmid
Fluoroquinolones	1. Altered DNA gyrase	Mutation in chromosomal gene encoding drug target
	2. Efflux	Mutation increases expression of natural efflux mechanism
Antiseptics	Efflux	Plasmid