

FUNZIONI del MICROBIOTA INTESTINALE

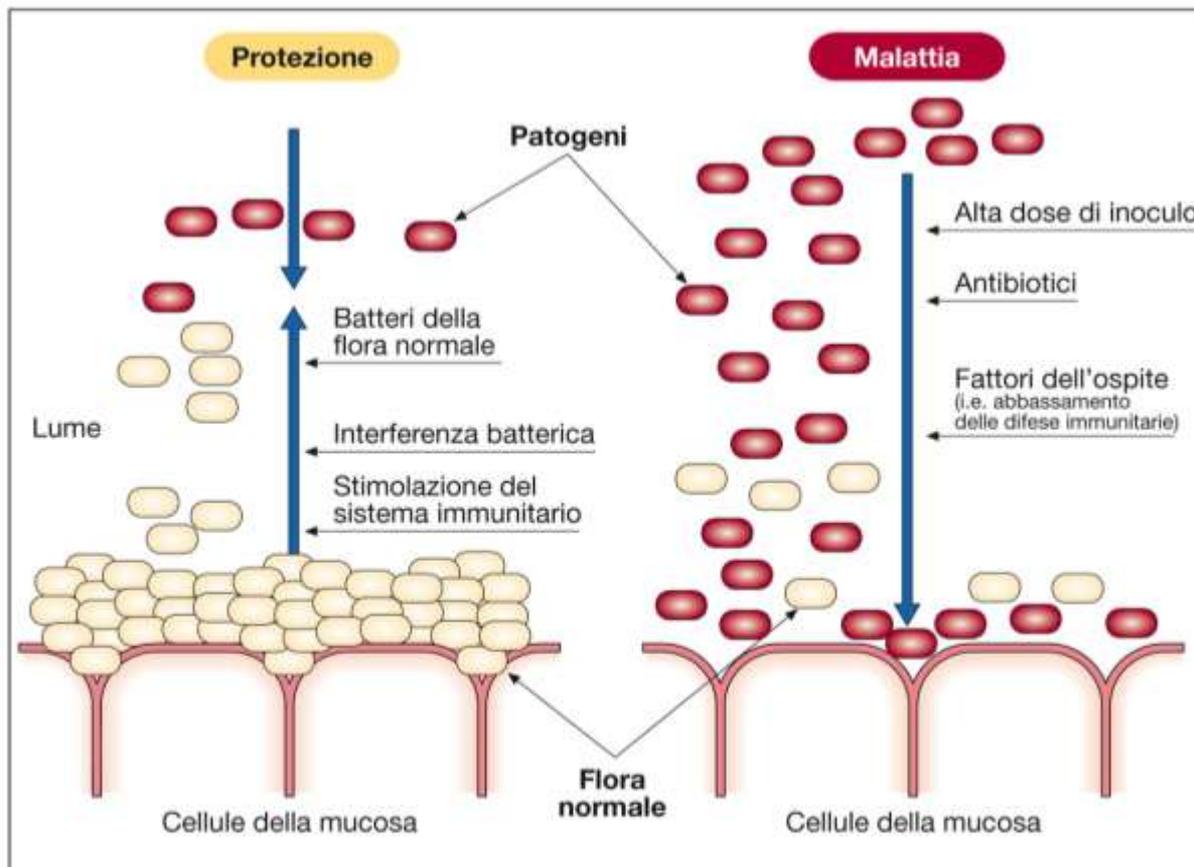
Il microbiota intestinale umano è composto da comunità di batteri, virus, archei, protisti e funghi che interagiscono attivamente tra loro e con l'ospite. Il microbiota viene acquisito alla nascita, e modellato in base a molteplici fattori, tra cui la dieta e esposizioni ambientali.



FATTORI IMPLICATI NELLA DISBIOSI INTESTINALE



Il microbiota in condizioni fisiologiche di biodiversità ed equilibrio protegge dallo sviluppo di patologie

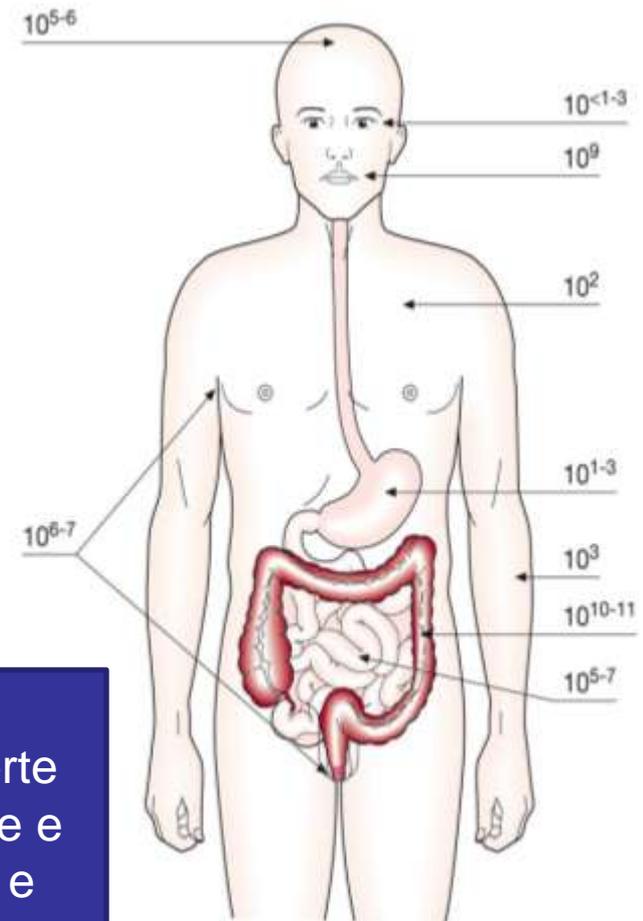


Il microbiota non è solo intestinale!

Tabella 10.1 Principali microrganismi della flora microbica normale dell'uomo.

Distretto	Principali microrganismi
Cute	<i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Candida</i>
Cavità orale	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Treponema</i>
Tratto respiratorio	<i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Corynebacterium</i>
Tratto gastrointestinale	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Peptococcus</i>
Tratto urogenitale	<i>Escherichia coli</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Candida</i>

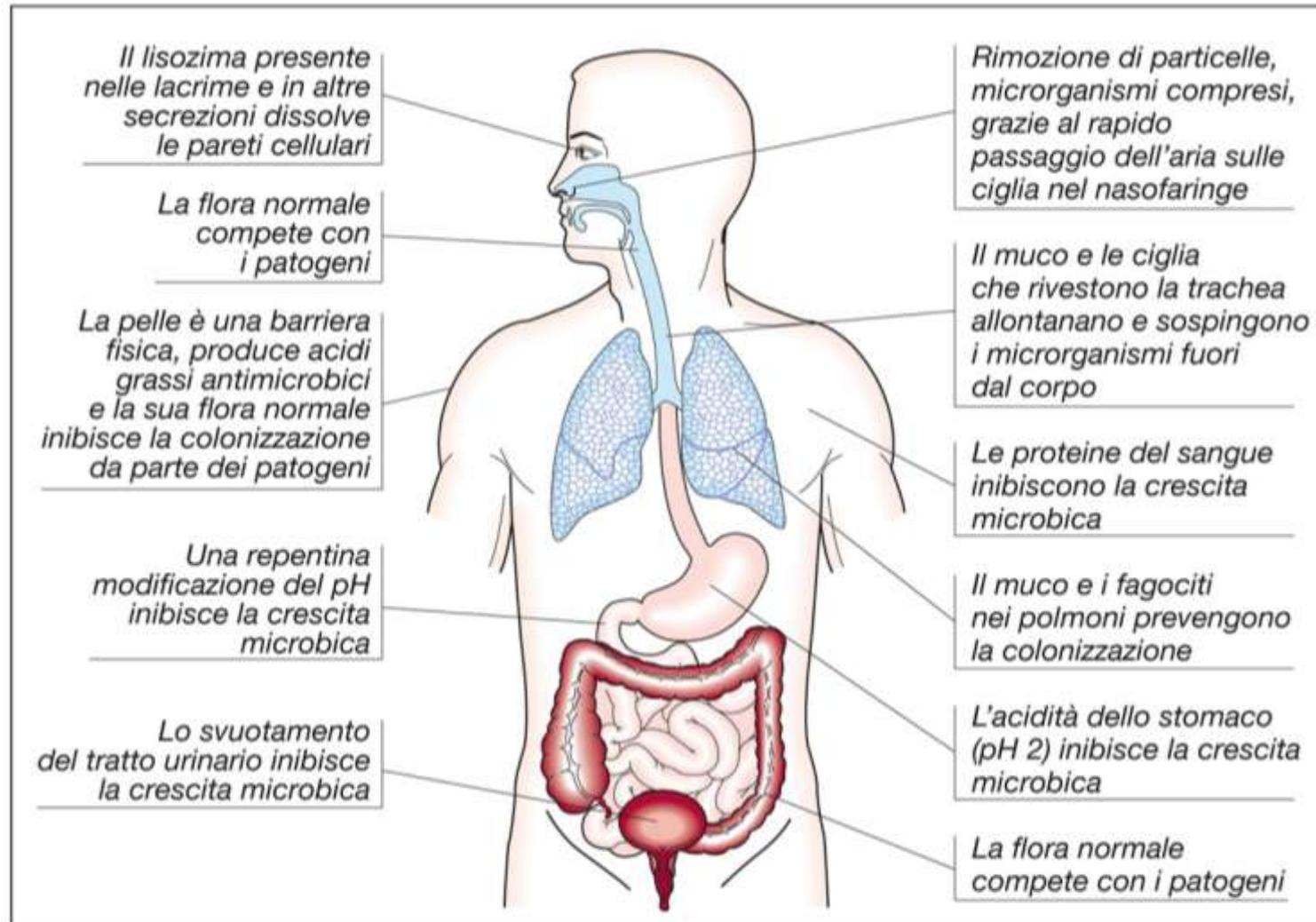
Numero di batteri che colonizzano cute e mucose



ATTENZIONE...

Alcuni batteri che compongono il microbiota sono potenzialmente patogeni (**patobionti**) e possono, in certe situazioni, proliferare causando disturbi o patologie vere e proprie, per es. carie e parodontite, faringite, ascessi e batteriemia, endocarditi, infezioni delle vie urinarie

Difese specifiche che su cute e mucose proteggono da infezioni microbiche



IMMUNITA' INNATA

La risposta **immune innata** dell'ospite gioca un ruolo fondamentale per riconoscere ed eliminare rapidamente i patogeni microbici attraverso la fagocitosi, l'induzione della risposta infiammatoria, morte cellulare e autofagia

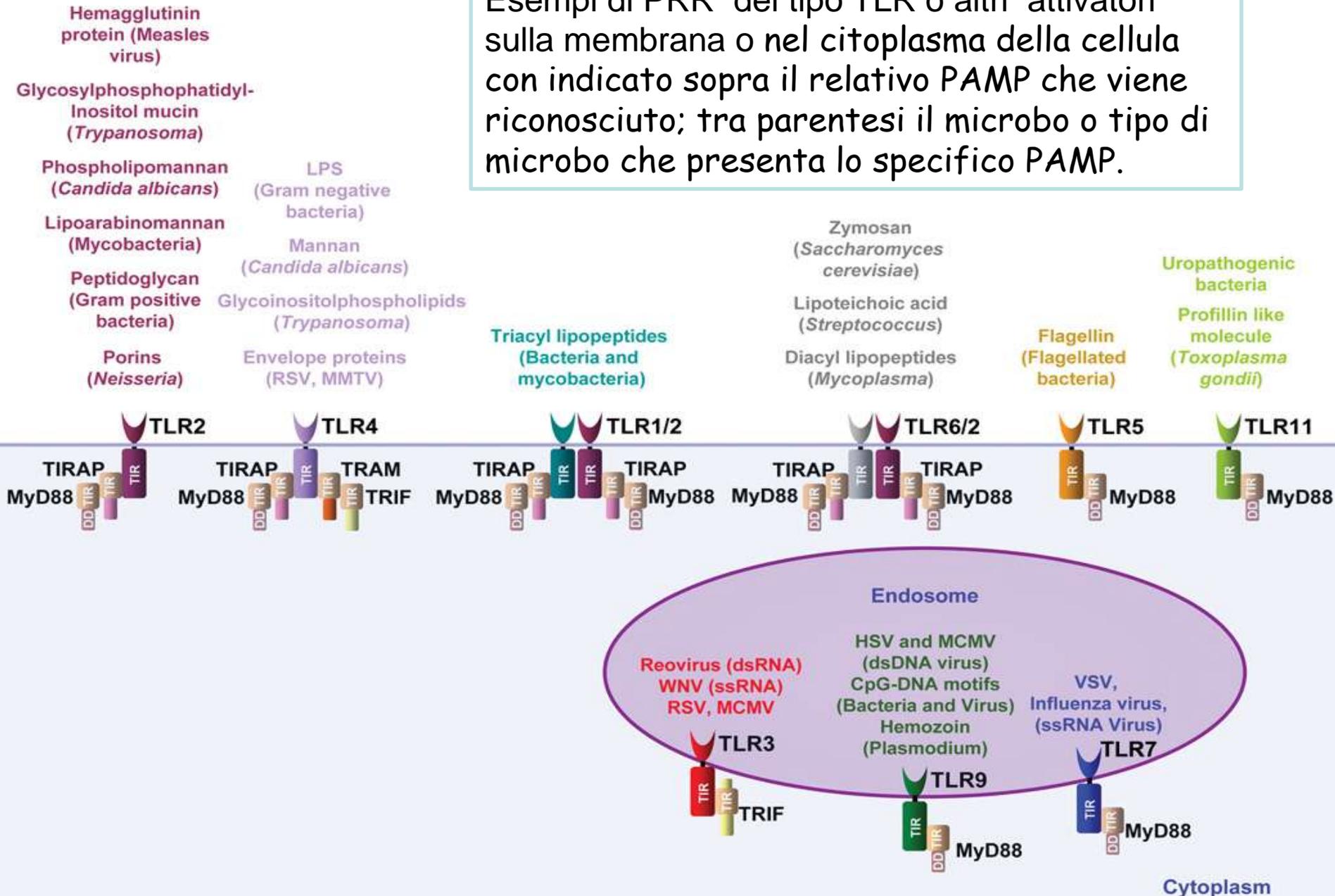
L'attività del sistema dell'immunità innata si basa essenzialmente sulla capacità di presentare in modo costitutivo recettori che riconoscono “pattern” conservati presenti su patogeni differenti in modo da attivare una risposta infiammatoria che limita l'invasione da parte del patogeno.

Il riconoscimento dei patogeni avviene in base ai PRR (“pattern recognition receptors”) che riconoscono (legano) alcune molecole microbiche conservate chiamate PAMPs (“pathogen-associated molecular patterns”).

Una volta attivati i PRR, si ha l'attivazione di un programma pro-infiammatorio con la produzione e secrezione di molecole che attivano l'infiammazione.

I patogeni a loro volta hanno elaborato strategie atte a sfuggire a tale risposta al fine di colonizzare e moltiplicarsi nei tessuti dell'ospite sensibile.

Esempi di PRR del tipo TLR o altri attivatori sulla membrana o nel citoplasma della cellula con indicato sopra il relativo PAMP che viene riconosciuto; tra parentesi il microbo o tipo di microbo che presenta lo specifico PAMP.



Caratteristiche dell'immunità innata e adattativa

Caratteristiche	Immunità innata	Immunità adattiva
Cellule	Macrofagi, cellule dendritiche, cellule natural killer, mast-cellule, granulociti polimorfonucleati neutrofili, eosinofili e basofili, piastrine, cellule endoteliali, cellule epiteliali, altre cellule	Linfociti T o B
Recettori di ricognizione	Pattern recognition receptors	Recettori per l'antigene
Distribuzione dei recettori di ricognizione	Non clonale	Clonale
Geni codificanti per i recettori di ricognizione	Presenti nella linea germinale	Presenti in linee somatiche
Intervallo tra fase di ricognizione e fase effettrice	Breve: i meccanismi microbicidi sono immediatamente operativi	Diversi giorni
Memoria	+ -	+ + +
Specificità per singoli patogeni	+ -	+ + +
Meccanismi effettori	Fagocitosi, autofagia, apoptosi, citotossicità da natural killer, barriere fisiche, allontanamento meccanico, infiammazione, febbre, complemento, citochine proinfiammatorie	Produzione di immunoglobuline da parte di linfociti B differenziati in plasmacellule Citotossicità (uccisione di cellule infettate) da parte di linfociti T citotossici Produzione di interferone- γ da parte di linfociti T helper di tipo 1 Produzione di interleuchina-4 e -13 da parte di linfociti T helper di tipo 2

IMMUNITA' ADATTATIVA

- La risposta adattativa (o acquisita) dipende dalla capacità dell'organismo di codificare per riarrangiamento genico, i recettori per singoli antigeni microbici, in modo da generare una grande variabilità di linfociti in grado di esprimere un differente recettore per l'antigene.
- I linfociti sono le cellule specializzate del sistema adattativo ed usano i loro recettori superficiali per riconoscere la configurazione antigenica specifica di ogni patogeno e quindi attivare la risposta adattativa.
- I linfociti si distinguono in linfociti B e linfociti T.
I linfociti B producono anticorpi, che si legano all'antigene specifico e contribuiscono alla sua distruzione.
I linfociti T sono suddivisi in linfociti T helper (CD4+) che organizzano l'azione di diverse cellule dell'immunità e linfociti T citotossici che sono in grado di distruggere cellule infettate.

Tabella 7.3 Varie classi di immunoglobuline.

Caratteristiche	IgA	IgD	IgE	IgG	IgM
Struttura	Dimero (con componente secretoria)	Monomero	Monomero	Monomero	Pentamero
Concentrazione di anticorpi nel siero (% delle Ig totali)	10-15	0,2	0,002	80	5-10
Localizzazione	Secrezioni (lacrime, muco, saliva, latte), sangue, linfa	Superficie delle cellule B, sangue, linfa	Sangue, superficie di mastociti e basofili	Sangue, linfa, intestino	Sangue, linfa, superficie delle cellule B (come monomeri)
Peso molecolare (dalton)	405 000	175 000	190 000	150 000	970 000
Emivita nel siero (giorni)	6	3	2	23	5
Fissazione del complemento	No	No	No	Sì	Sì
Trasferimento attraverso la placenta	No	No	No	Sì	No
Funzione	Protezione a livello delle superfici delle mucose	Non conosciuta anche se la loro presenza sulla superficie delle cellule B potrebbe far pensare a un ruolo nelle fasi iniziali della risposta immune	Reazioni allergiche, possibile espulsione o lisi dei parassiti pluricellulari (elminti)	Aumento della fagocitosi, neutralizzazione di tossine e virus, protezione del feto e del neonato	Efficaci nell'indurre agglutinazione, sono i primi anticorpi prodotti all'inizio dell'infezione

Controllo della crescita microbica

Sterilizzazione, disinfezione e antisepsi;

profilassi e vaccini

farmaci antimicrobici

STERILIZZAZIONE: **UCCIDE QUALSIASI FORMA VIVENTE**

❖ STERILIZZAZIONE CON CALORE

❖ STERILIZZAZIONE CON RADIAZIONI

METODI FISICI

❖ STERILIZZAZIONE CON OSSIDO DI ETILENE

❖ STERILIZZAZIONE CON ALDEIDE GLUTARICA

METODI CHIMICI

❖ STERILIZZAZIONE PER FILTRAZIONE

METODI MECCANICI

STERILIZZAZIONE CON CALORE

Bollitura: 100°C per 30 minuti. Uccide i microrganismi ma non alcune endospore

L'autoclave (vapore sotto pressione): 121°C per 15 minuti: sterilizzazione completa!

Calore secco (forno d'aria calda): 160°C/2ore oppure 170°C/1ora. Usata per vetreria, metallo, e oggetti che non fondono.

Incenerimento: Usato per aghi , anse, vetreria, etc. e altri oggetti che non ne risentono nella struttura.

Sterilizzazione con radiazioni

- Raggi U.V. (bassissimo potere di penetrazione, irritanti per la cute e per gli occhi) Degradano il DNA usati per ambienti e superfici
- Raggi γ (altissima frequenza, hanno un alto potere di penetrazione) sterilizzazione di materiale monouso (siringhe, cateteri, aghi di sutura)

Sterilizzazione per filtrazione

- Filtri (carta, membrane, filtri per siringa) con pori di diverse dimensioni per non permettere il passaggio di microrganismi (solo quelli da 20 nm filtrano spore e virus)

Sterilizzazione con ossido di etilene

- Attivo contro tutti i microrganismi incluse le spore, usato per sterilizzare materiali delicati che non possono essere sottoposti a calore

Sterilizzazione con aldeide glutarica

- Usata come disinfettante. Per la sterilizzazione il tempo di esposizione è di 3 ore. Usata per sterilizzare strumenti chirurgici, cateteri, endoscopi

DISINFEZIONE: Pratica che si prefigge la distruzione dei germi patogeni in fase vegetativa, nell'aria o su qualsiasi superfici **ESCLUSE LE SPORE**

DISINFEZIONE può essere operata mediante:

- MEZZI MECCANICI, MEZZI FISICI, MEZZI CHIMICI

I processi di disinfezione vengono classificati in livello :

- alto (tutti i microrganismi **ESCLUSE LE SPORE**, tempo di contatto 15-45 minuti)
- intermedio (tutti i batteri inclusi *Mycobacterium*, molti virus, molti miceti)
- basso (quasi tutti i batteri, alcuni virus con envelope, alcuni miceti)

Per strumenti non-critici oggetti, strumenti diagnostici e terapeutici o parti di essi che entrano a contatto con la cute integra ed hanno basso rischio di trasmissione delle infezioni come stetoscopi, bracciali per la misurazione della pressione arteriosa, elettrodi per ECG, ecc... è sufficiente la disinfezione di basso livello.

Per strumenti semi-critici che vengono a contatto con cute e mucose integre (tubi endotracheali, endoscopi, etc) è raccomandata la disinfezione di alto livello.

Per strumenti critici che vengono a contatto con cute e mucose lesionate o penetrano in organi è indispensabile la sterilizzazione!!!

DISINFETTANTI DI USO COMUNE

- **TENSIOATTIVI** (di origine naturale saponi o sintetica, largamente utilizzati per detersione superfici)
- **ALCOOLI**,
- **ALDEIDI** (glutaraldeide in soluzione acquosa al 2-10%: per 30 minuti disinfettante, per 6 – 12 ore sterilizzante)
- **SOLVENTI ORGANICI, FENOLO E DERIVATI**,

COMPOSTI DEL CLORO (attività antimicrobica ad ampio spettro, agiscono in fretta: uso limitato ad acque per la corrosività sulle superfici)

PEROSSIDO DI IDROGENO (Disinfezione di lenti e di ferite, innocuo ,decompone in acqua ed ossigeno.
Attivo su batteri e virus)

- **ACIDI**
- **CLORAMINA (Dicloramina), AMUCHINA (Steridrola)** Sol. 2% per cute e mucose

Farmaci antibatterici

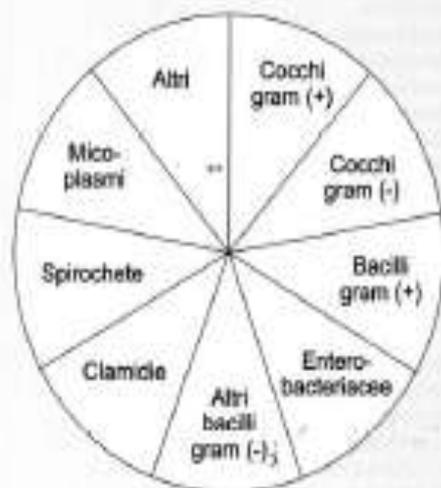
Un farmaco antibatterico (antibiotico o chemioterapico) è un farmaco in grado di inibire selettivamente in modo temporaneo o definitivo la crescita batterica.

**L'azione di un antibatterico può consistere in:
una inibizione temporanea della crescita delle cellule
batteriche sensibili: ATTIVITA' BATTERIOSTATICA**

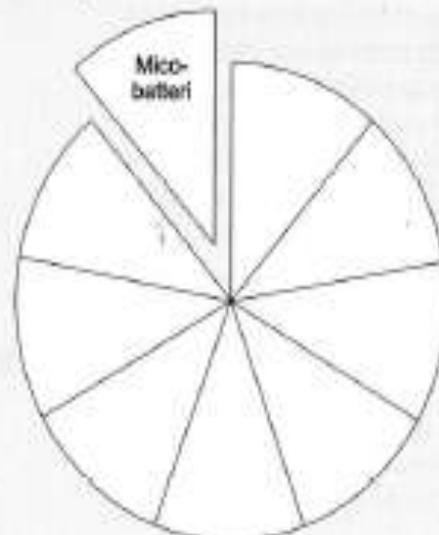
**una inibizione definitiva della crescita della cellule batteriche
sensibili: ATTIVITA' BATTERICIDA**

SPETTRO D'AZIONE

A. Microorganismi importanti dal punto di vista medico



B. Isoniazide: un antimicrobico a spettro ristretto



C. Tetraciclina: un antimicrobico a largo spettro

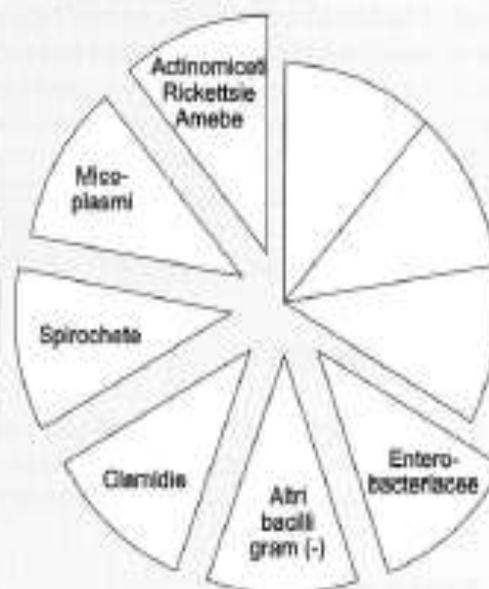
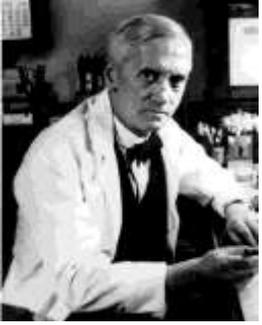


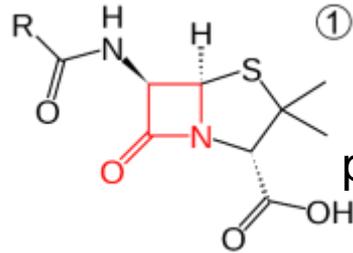
Figura 28.6

A. Specie batteriche importanti dal punto di vista medico. B. Isoniazide, un farmaco antimicrobico a spettro ristretto. C. Tetraciclina, un antimicrobico a largo spettro

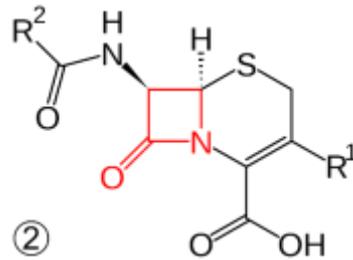


Antibiotico è un antimicrobico di origine naturale, derivato da sostanze prodotte da batteri o funghi.

I primi antibiotici: penicilline e cefalosporine



penicillina



cefalosporina

I beta-lattamici sono antibiotici, che hanno in comune il nucleo centrale : l'**anello beta-lattamico**

Cefalosporin (1945)

Penicillin (1928)
Fleming, Chain e Florey

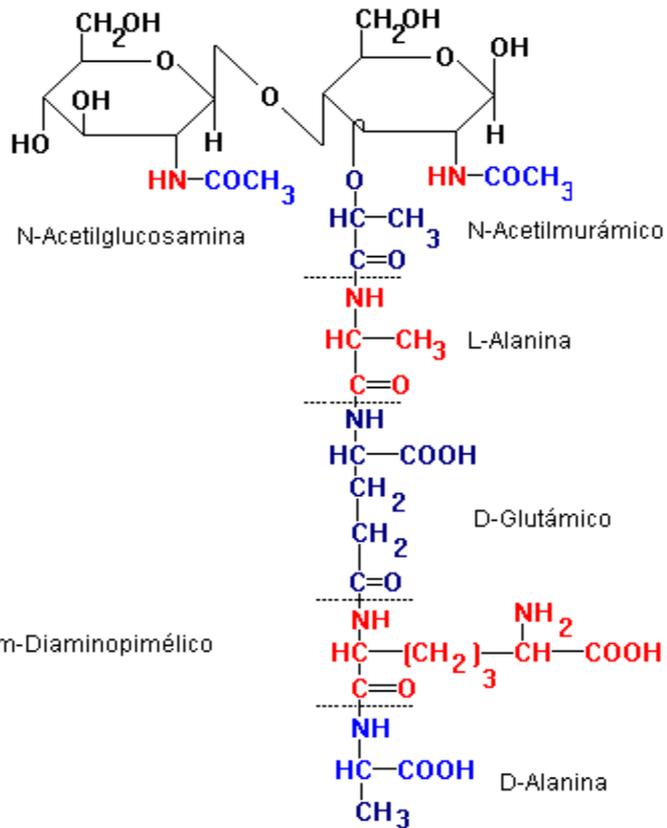


Giuseppe Brotzu
Edward Abraham

Nei beta-lattamici troviamo quattro classi le penicilline, le cefalosporine, i **carbapenemi** e i **monobattami**.

Antibiotici che agiscono sulla sintesi della parete cellulare

Poiché il peptidoglicano della parete cellulare batterica non è presente nelle cellule umane, esso rappresenta un bersaglio ideale per l'antibiotico terapia



Antibiotici che inibiscono la sintesi del peptidoglicano della parete cellulare

betalattamine
fosfomicina
cicloserina
teicoplanina
vancomicina
ramoplanina
bacitracina

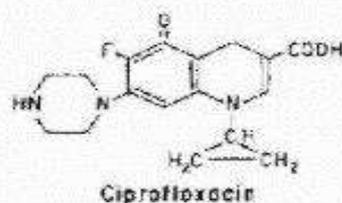
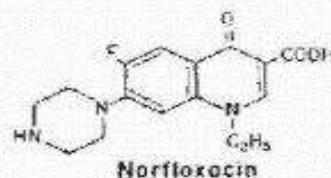
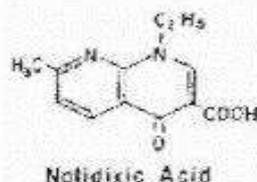
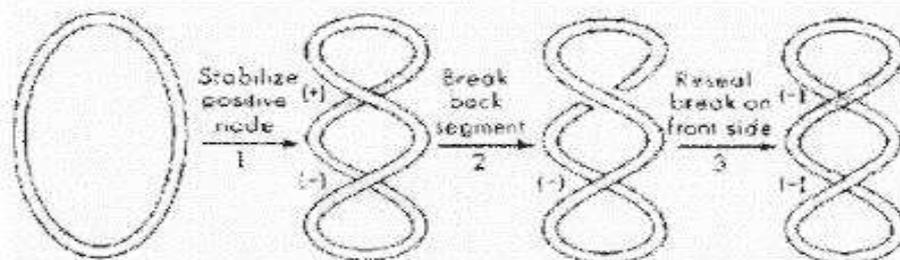
Antibiotici che alterano struttura e funzione della membrana batterica

gramicidina
polimixine
tirocidina

Antibiotici attivi sulla replicazione del DNA

Il gruppo più importante di antibiotici che agiscono bloccando la sintesi del DNA è quello dei chinoloni. I chinoloni agiscono bloccando la subunità A della DNA-girasi.

La DNA girasi è l'enzima responsabile della despiralizzazione del DNA necessaria per la sua replicazione e trascrizione.



Prima generazione:
Acido nalidixico

Nuovi chinoloni:
Ofloxacina
Norfloxacina
Pefloxacina
Ciprofloxacina

Antibiotici attivi sulla sintesi proteica

Un gruppo di antibiotici ha azione antibatterica poiché interferisce con la sintesi proteica, intervenendo con diversi meccanismi di cui i principali sono rappresentati dalla **interazione** con l'una o l'altra delle **subunità ribosomiali**.

Poiché i ribosomi batterici sono significativamente diversi dai ribosomi delle cellule eucariotiche, tutti gli antibiotici che interagiscono con le subunità ribosomiali sono abbastanza **selettivi** per essere impiegati nella terapia antibatterica.

cloramfenicolo

macrolidi

tetracicline

mupirocina

ketolidi

oxazolidinoni

streptogramine

lincosamidi

acido fusidico

Chemioterapici (antimicrobici di sintesi o semisintesi)

◦ agenti che inibiscono la replicazione del DNA (per interferenza con la DNA girasi)

chinolonici

novobiocina

✕ agenti che inibiscono la trascrizione del messaggio genetico da DNA a mRNA

rifamicine

✕ agenti che deviano la traduzione del messaggio genetico

aminoglicosidi

spectinomina

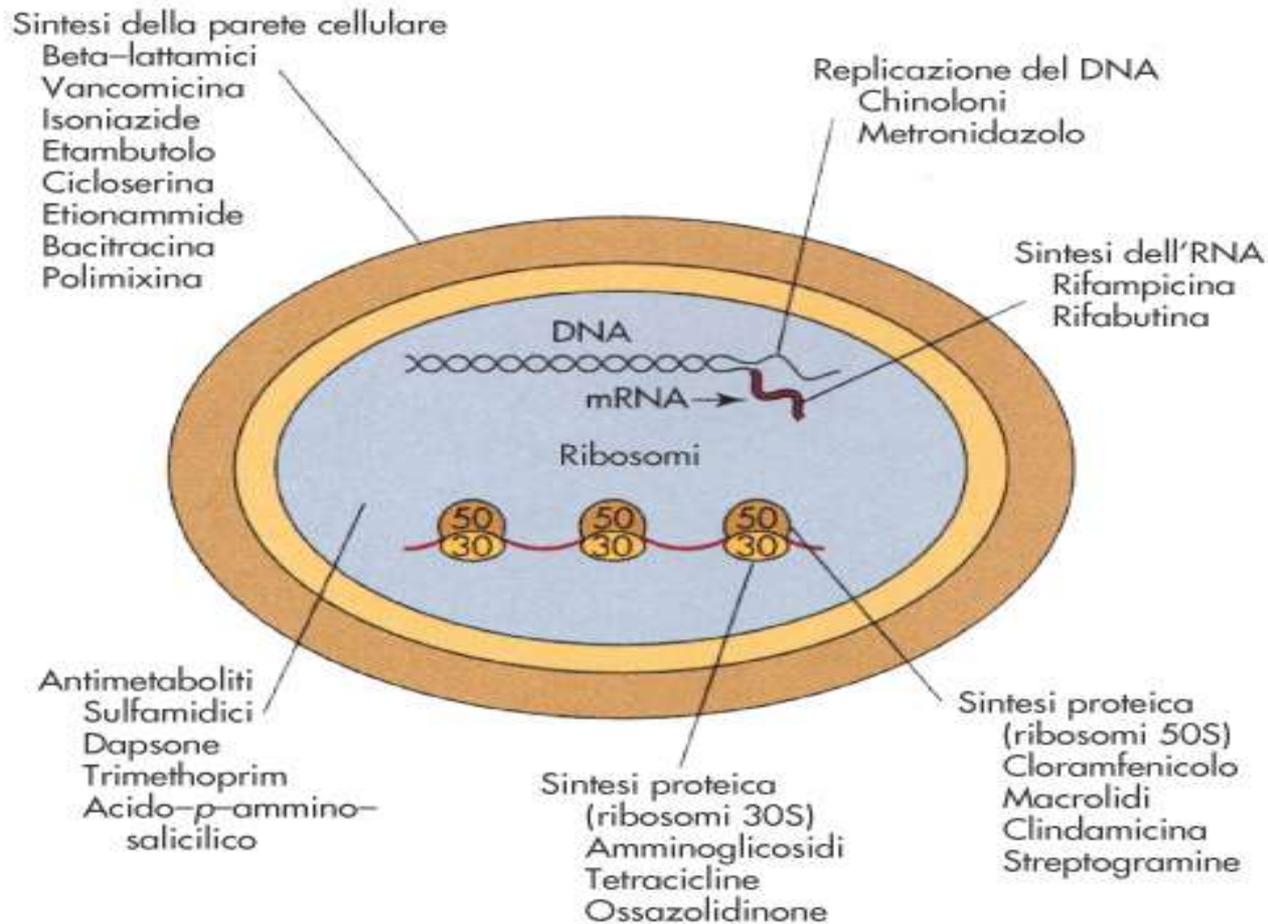


FIGURA 20-1. Siti bersaglio dell'attività antibiotica.

QUANDO SI SCEGLIE LA TERAPIA ANTIBIOTICA E' NECESSARIO PRENDERE IN CONSIDERAZIONE FATTORI RELATIVI AL BATTERIO, ALL'OSPITE E AL FARMACO

FATTORI BATTERICI

- Identità del batterio
- Sensibilità al farmaco

FATTORI DELL'OSPITE

- Via di somministrazione
- Allergie
- Funzione renale
- Funzione epatica
- Funzione digerente
- Funzione sistema immunitario
- Altre malattie sottostanti
- Altre terapie
- Gravidanza

FATTORI DEL FARMACO

- Attività sul patogeno
- Capacità di raggiungere il sito d'infezione
- Interazione con altri farmaci
- Vie di somministrazione disponibili
- Frequenza di dosaggio
- Gusto
- Costo

E' QUINDI MOLTO IMPORTANTE INDIVIDUALIZZARE LA TERAPIA ANTIBIOTICA

RESISTENZA BATTERICA

```
graph TD; A([RESISTENZA BATTERICA]) --> B[RESISTENZA NATURALE]; A --> C[RESISTENZA INDOTTA];
```

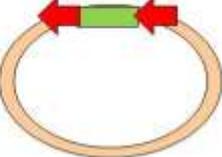
RESISTENZA NATURALE

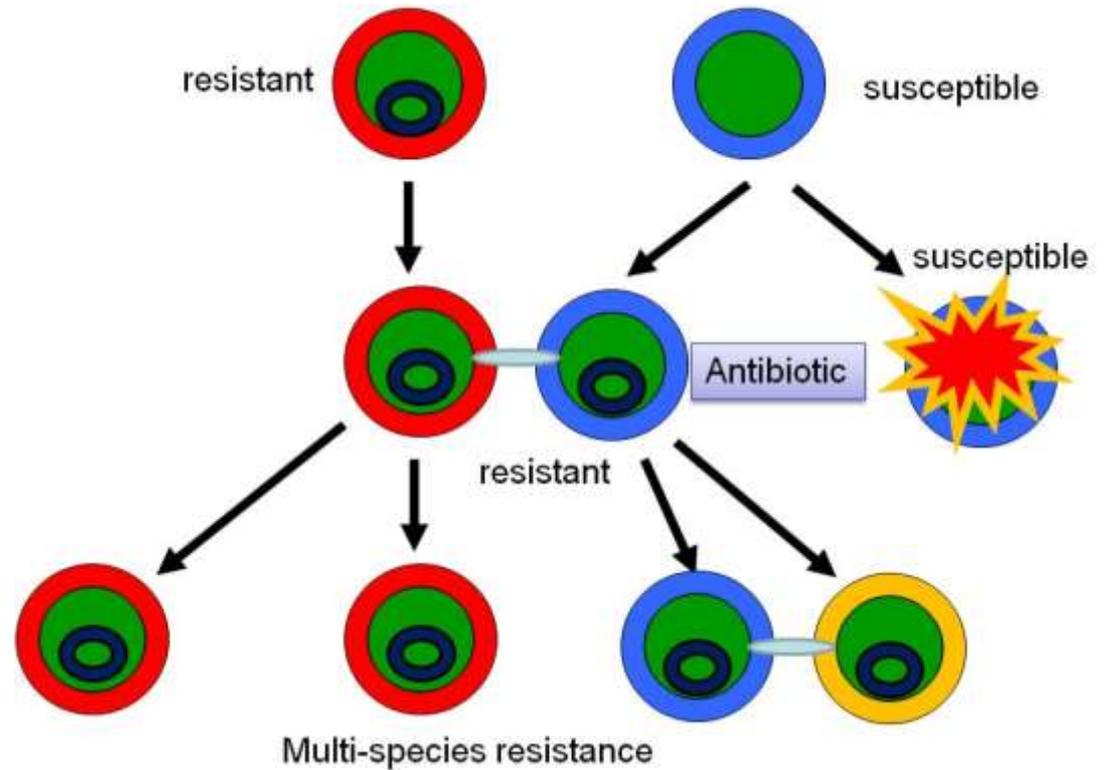
- geneticamente determinata
- dipende dal meccanismo d'azione del farmaco o dalla struttura del batterio
- è presente in tutti i ceppi di una stessa specie batterica
- definisce lo spettro d'azione di un antibiotico

RESISTENZA INDOTTA

- mutazioni spontanee
- scambi genetici
(trasporto di materiale genetico da un batterio all'altro per trasformazione, trasduzione, coniugazione)

Plasmidi contenenti geni di resistenza ad antibiotici vengono scambiati tra specie diverse per trasferimento genico orizzontale

- Resistance gene 
- Transposon 
- Plasmids 



MECCANISMI DELL'ANTIBIOTICO-RESISTENZA

- ✂ 1. inattivazione dell'antibiotico
- ✂ 2. diminuita penetrazione dell'antibiotico nella cellula
- ✂ 3. modificazione delle strutture bersaglio o diminuita affinità per strutture inizialmente recettive
- ✂ 4. aumentata produzione di enzimi inibiti dall'antibiotico
- ✂ 5. superamento del blocco metabolico con diretta assunzione del prodotto inibito
- ✂ 6. iperproduzione di enzimi inattivanti
- ✂ 7. rapido efflusso dell'antibiotico dalla cellula batterica

Antibiotico Resistenza: un problema enorme per la sanità pubblica

I pericolo numero uno in Europa è oggi ***Escherichia Coli*** resistente ai carbapenemi di terza generazione, che nel 2015 ha provocato quasi 300 mila infezioni e oltre 9 mila decessi. Al secondo posto troviamo ***Stafilococcus Aureus*** resistente alla Meticillina, che ha causato 148 mila infezioni e oltre 7 mila morti in Europa. ***Pseudomonas*** resistente ai carbapenemi ha provocato 4000 decessi, ***Klebsiella pneumoniae*** resistente alle cefalosporine di terza generazione ne ha provocati 3600 e quella resistente ai carbapenemi altri 2000.

In Italia le percentuali di resistenza alle principali classi di antibiotici per gli 8 patogeni sotto sorveglianza (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Acinetobacter species*) sono più alte rispetto alla media europea.

MIC e MBC

- Il metodo più corretto per determinare l'efficacia di un antibiotico nei confronti di un microrganismo consiste nello stabilire, la concentrazione minima inibente (MIC) e la concentrazione minima battericida (MBC).
- ***MIC (Minimal Inhibitory Concentration)***: la concentrazione minima di antibiotico in grado di inibire la crescita batterica.
- ***MBC (Minimal Bactericidal Concentration)***: la più bassa concentrazione di antibiotico in grado di distruggere i batteri.

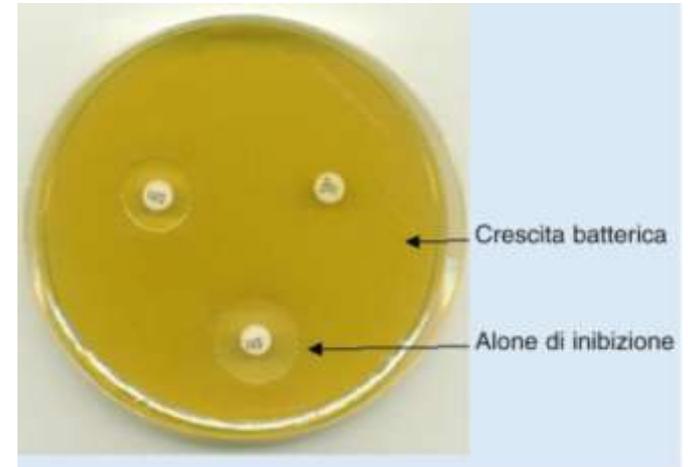
Antibiogramma: test di sensibilità a diversi antibiotici

Nel metodo dei dischetti di diffusione il microorganismo in esame viene coltivato su piastre di agar in presenza di antibiotici contenuti in dischi: se il microorganismo cresce normalmente significa che è resistente, se invece è sensibile si rende visibile attorno al disco un alone di inibizione.

È un metodo quali-quantitativo, semplice, rapido ed economico, valido per microrganismi aerobi a crescita rapida.

È il procedimento più comunemente usato in laboratorio, e permette di ottenere una valutazione della *MIC*.

Attualmente il test di diffusione su dischetto più utilizzato è il metodo di Kirby-Bauer, sviluppato agli inizi degli anni '60.



Clementi, G. Pozzi, G.M. Rossolini Principi di Microbiologia Medica Copyright 2008 C.E.A. Casa Editrice

