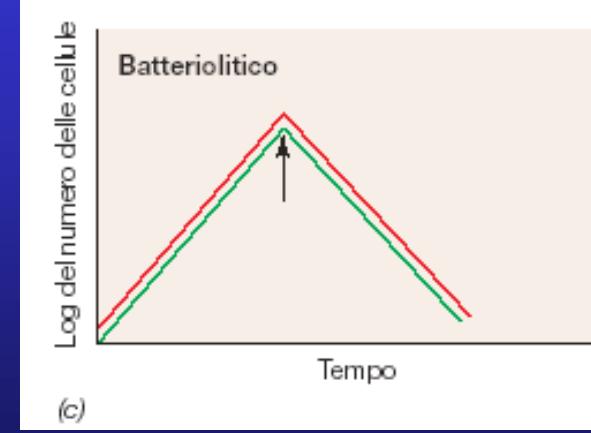
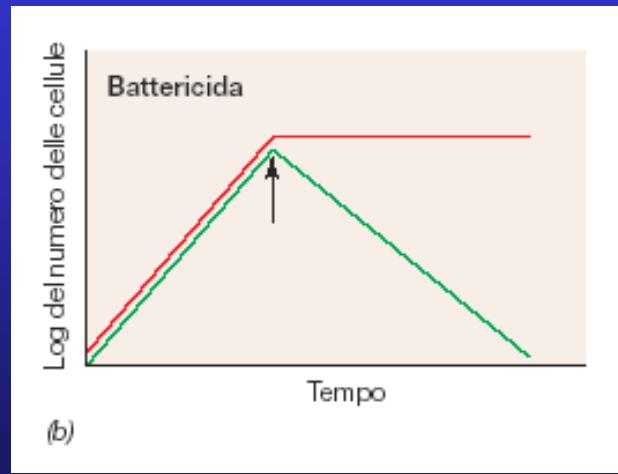
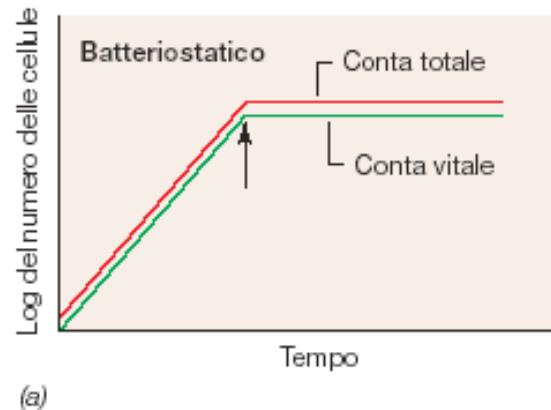


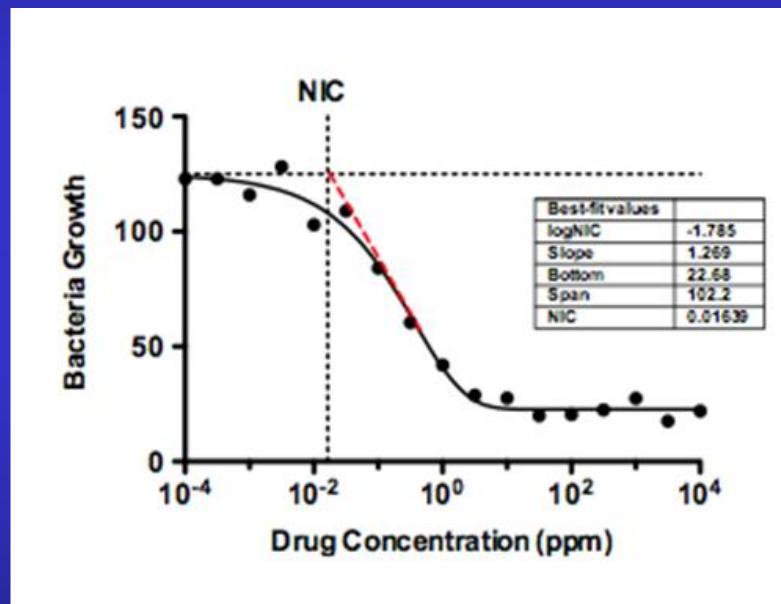
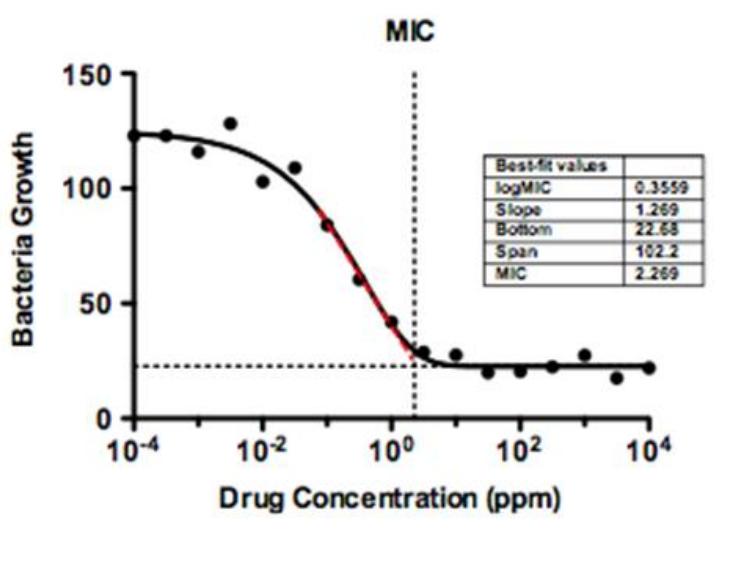
ANTIBIOTICI

“Sostanze prodotte da microrganismi (o riprodotte sinteticamente) che, a basse concentrazioni, inibiscono la crescita o uccidono altri microrganismi”

Gli antibiotici possono essere batteriostatici, battericidi (e in questo caso anche batteriolitici)

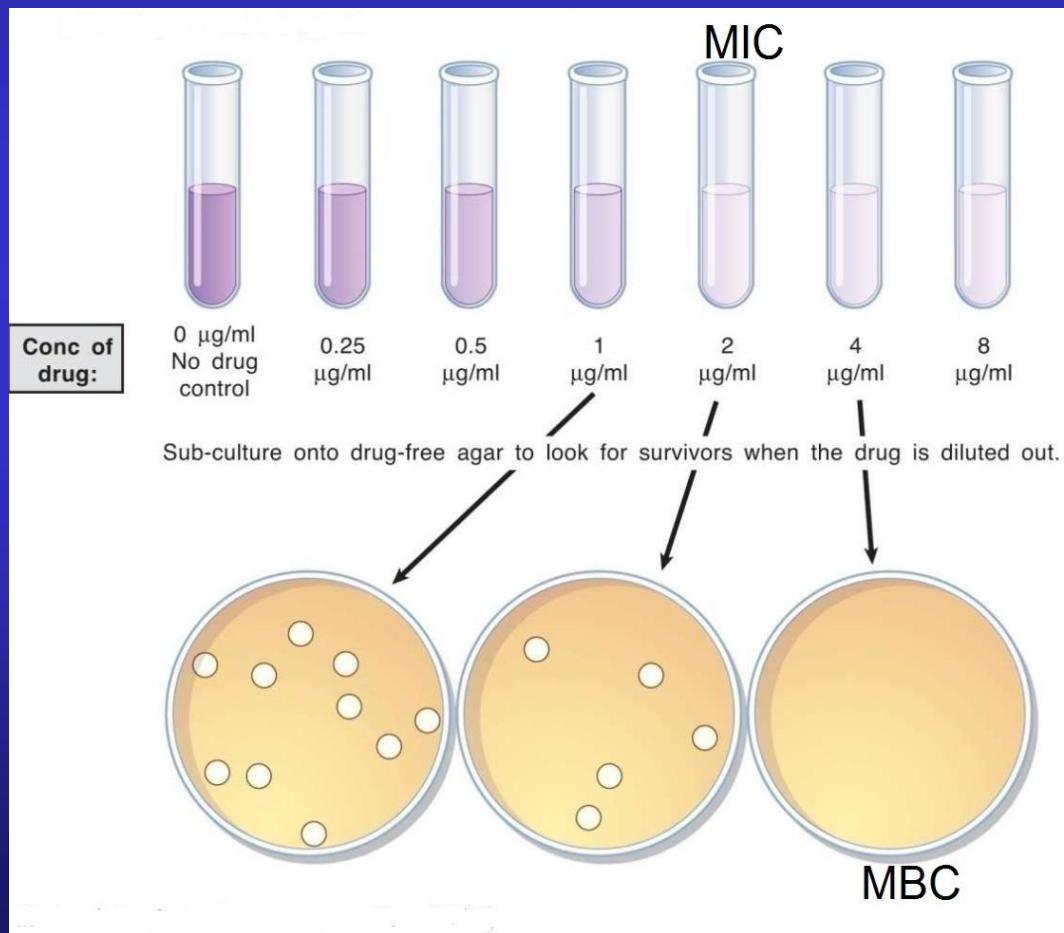


MIC (Minimal Inhibitory concentration) e NIC (Non inhibiting concentration)

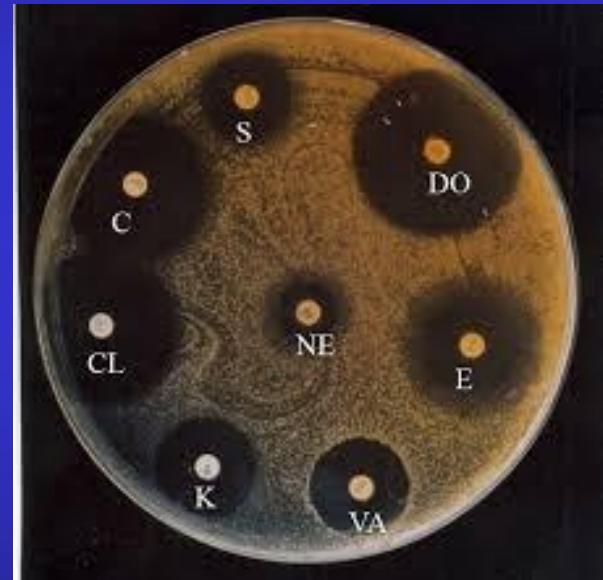
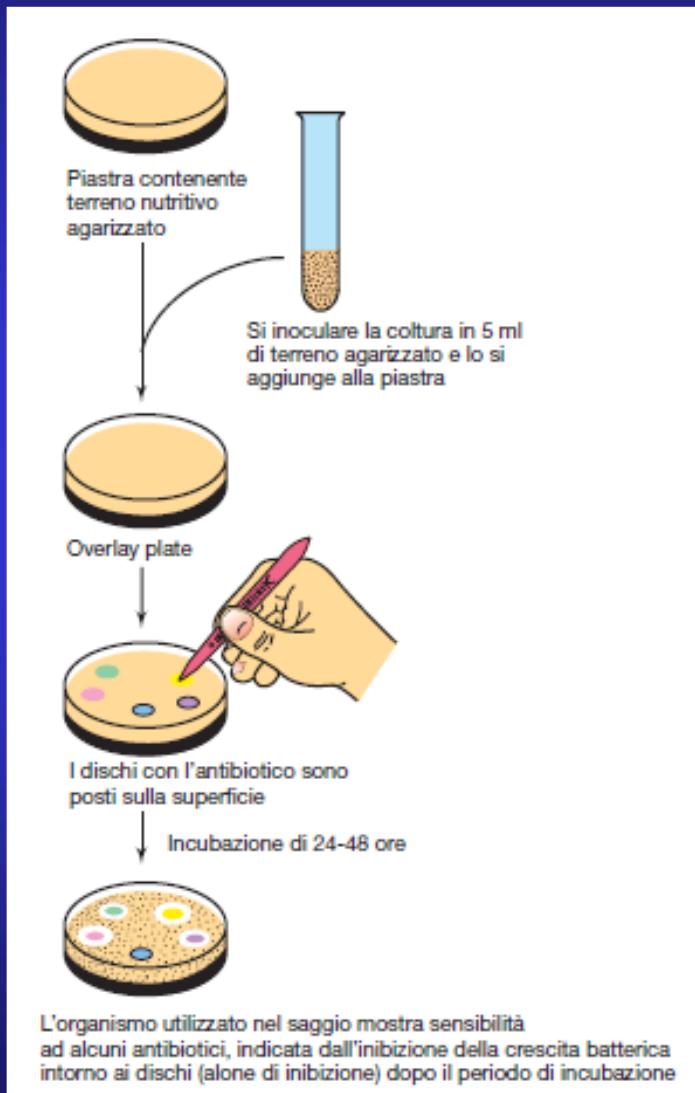


MIC e MBC

Minimal Inhibitory concentration e Minimum Bactericidal Concentration



Saggio di Kirby-Bauer (antibiogramma)

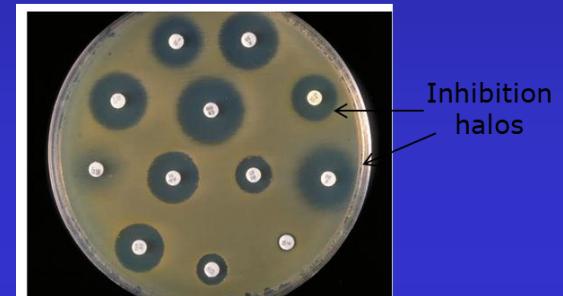


Saggio di Kirby-Bauer (antibiogramma)

Disk Diffusion Zone Diameter Chart (Table 1)

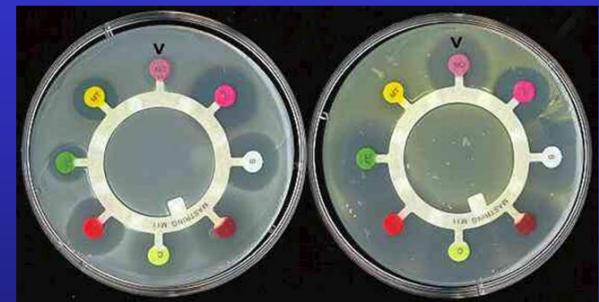
Antimicrobial Agent	Code	Disk Potency	Zone Diameter Interpretive Stds (mm) ^a		
			Resistant ^b	Intermediate ^c	Susceptible ^d
Amdinocillin	AMD-10	10ug			
for Enterobacteriaceae			≤15	-	≥16
Amikacin ⁵	AN-30	30ug			
for <i>Staphylococcus</i> species			≤14	15–16	≥17
for <i>Acinetobacter</i> species			≤14	15–16	≥17
for Enterobacteriaceae ^{17,19}			≤14	15–16	≥17
for <i>Pseudomonas aeruginosa</i>			≤14	15–16	≥17
Amoxicillin/Clavulanic Acid ^{5,103,104,vl} (Augmentin)	AmC-30	20/10ug			
for <i>Staphylococcus</i> species ^{45,50,62}			≤19	-	≥20
for <i>H. influenzae</i> and <i>parainfluenzae</i> ^{86,91}			≤19	-	≥20
for Enterobacteriaceae			≤13	14–17	≥18
Ampicillin ^{9,13}	AM-10	10ug			
for Enterobacteriaceae ^{14,17}			≤13	14–16	≥17
for <i>Staphylococcus</i> species ^{45,55,59,60}			≤28	-	≥29
for <i>Enterococcus</i> species ^{76,77,80,81}			≤16	-	≥17
for <i>H. influenzae</i> and <i>parainfluenzae</i> ^{85,87,91}			≤18	19–21	≥22
for beta-hemolytic streptococci ^{53,119,120}			-	-	≥24
for <i>Vibrio cholerae</i> ¹⁷			≤13	14–16	≥17
for <i>N. meningitidis</i> ¹³⁶			-	-	-
Ampicillin/Sulbactam ⁵	SAM-20	10/10ug			
for Enterobacteriaceae			≤11	12–14	≥15
for <i>Staphylococcus</i> species ^{45,50,62}			≤11	12–14	≥15
for <i>H. influenzae</i> and <i>parainfluenzae</i> ⁹¹			≤19	-	≥20
for <i>Acinetobacter</i> species			≤11	12–14	≥15
Aztreonam ⁴	AZM-15	15ug			
for <i>H. influenzae</i> and <i>parainfluenzae</i> ⁵³			-	-	≥12
for <i>Staphylococcus</i> species			≤13	14–17	≥18
for <i>Streptococcus</i> other than <i>S. pneumoniae</i> ⁷			≤13	14–17	≥18
for <i>Streptococcus pneumoniae</i> ⁷			≤13	14–17	≥18
for <i>N. meningitidis</i> ^{53,134,136}			-	-	≥20

Intermedio: l'antibiotico potrebbe essere ancora efficace ma il dosaggio del farmaco dovrebbe essere aumentato



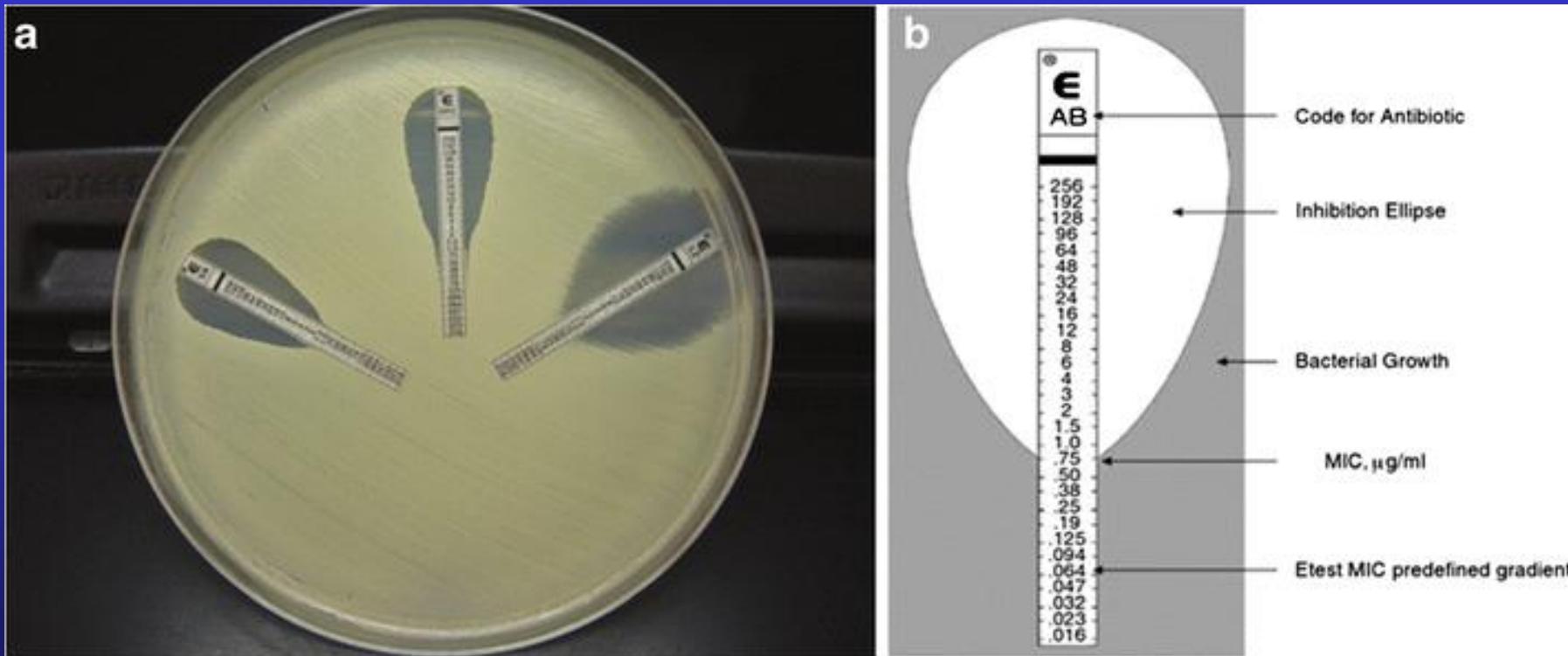
Strain A

Strain B



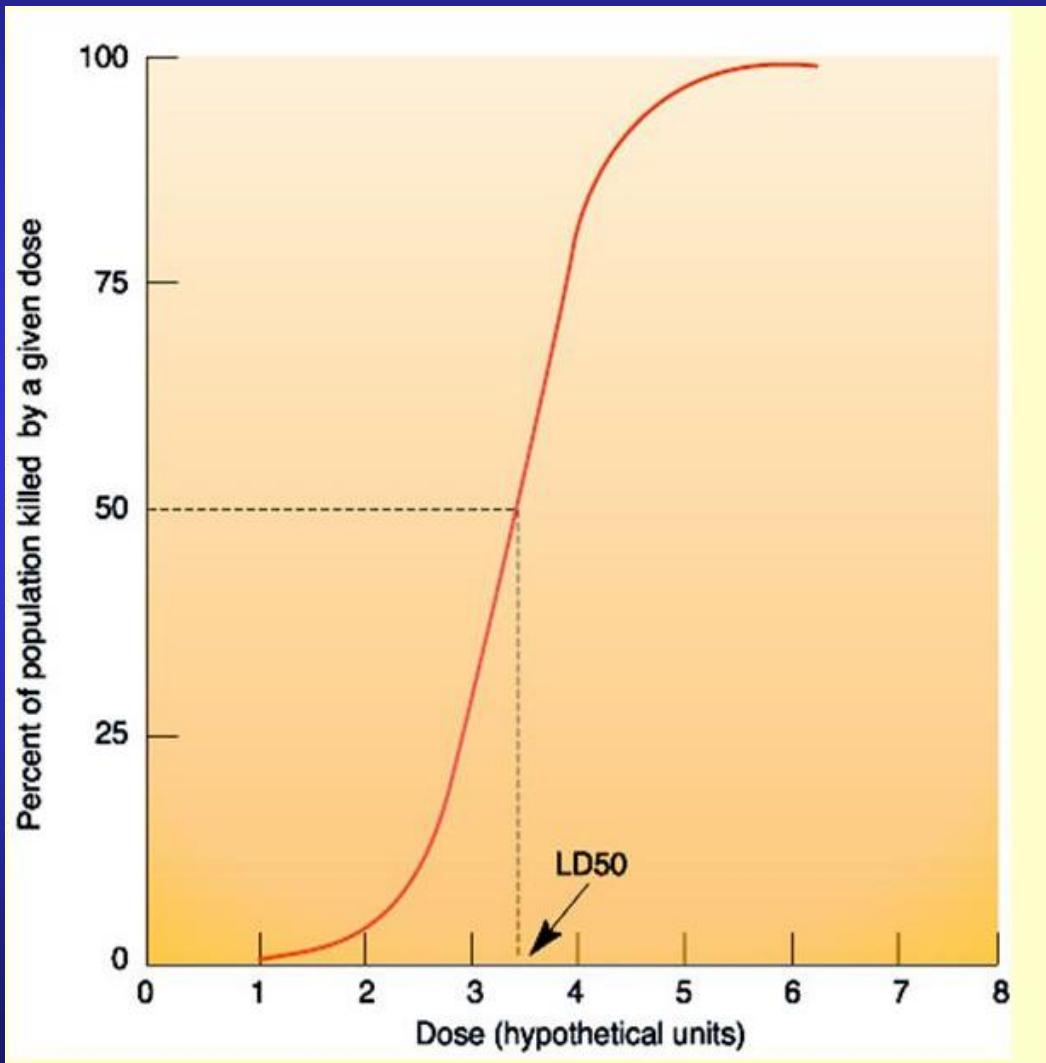
E-TEST

Deriva ed è l'evoluzione del metodo Kirby-Bauer. I dischetti vengono sostituiti da strisce contenenti un gradiente di concentrazione dell'antibiotico da testare. L'alone di inibizione indica chiaramente il valore risultante della MIC direttamente sulla striscia.



LD_{50}

Lethal Dose 50

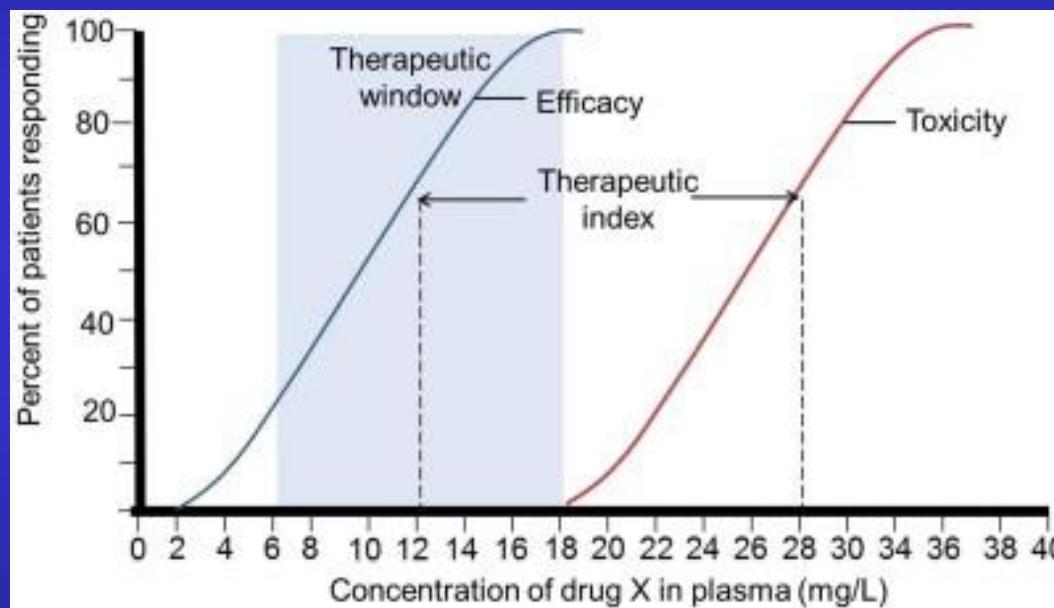


La dose letale è definita come la concentrazione di antibiotico in corrispondenza della quale si ha la morte del 50% della popolazione

TOSSICITA' SELETTIVA E INDICE TERAPEUTICO

TD_{50} = Concentrazione del farmaco corrispondente all'insorgere di tossicità nel 50% dei pazienti

ED_{50} = Concentrazione del farmaco che determina efficacia terapeutica nel 50% dei pazienti



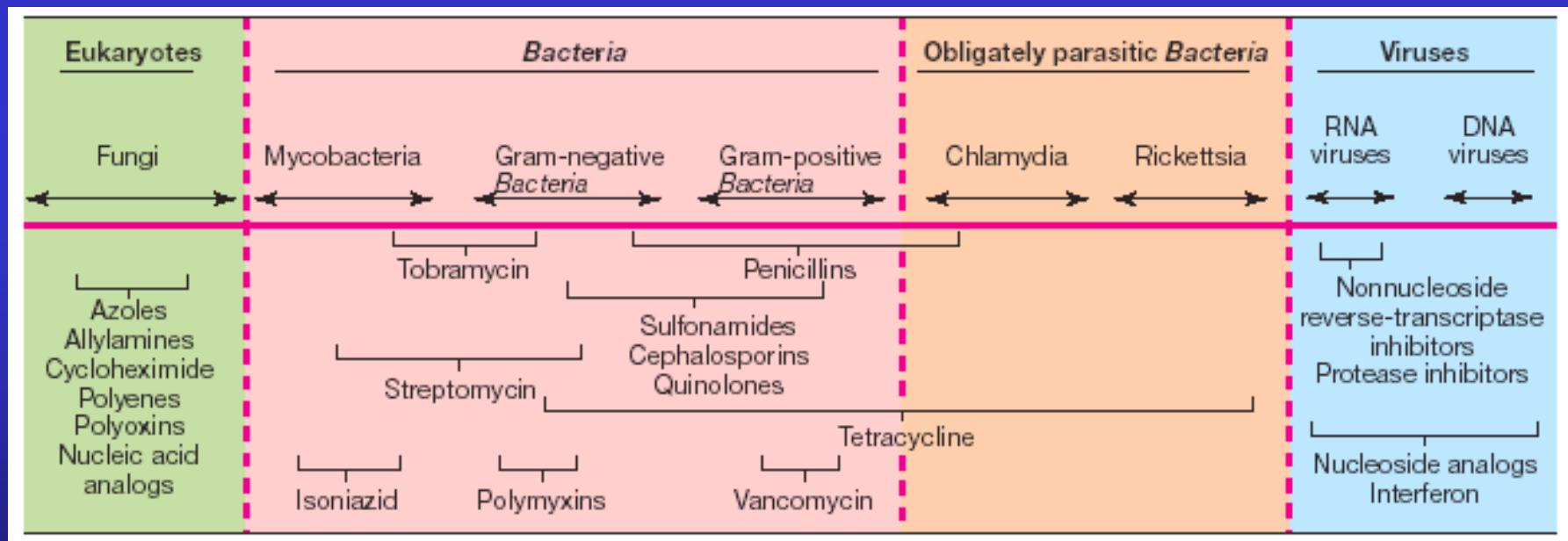
$$TI = \log_{10} TD_{50} / ED_{50}$$

$$TI = \log_{10} 28 / 12 = 0,368$$

TD=Dose tossica; ED=Dose efficace; TI=Indice Terapeutico

SPETTRO DI AZIONE

Un'importante proprietà degli antibiotici è lo spettro di azione, ovvero l'estensione di applicabilità ed efficacia, di un determinato antibiotico ...



Tossicità selettiva

La caratteristica fondamentale di un chemioterapico di successo è data dalla tossicità selettiva, cioè la capacità di inibire i batteri o altri patogeni senza produrre danni collaterali nell'ospite

Il concetto di tossicità selettiva nasce all'inizio del 900 per merito delle osservazioni di Paul Herlich. Questi osservò che alcuni coloranti erano in grado di legare selettivamente i microrganismi piuttosto che le cellule superiori. Il passo seguente fu la ricerca di coloranti tossici

I proiettili magici di Ehrlich

Paul Ehrlich studiava la proprietà di alcuni composti chimici tossici di legare specificamente alcuni agenti microbici responsabili di malattie infettive.



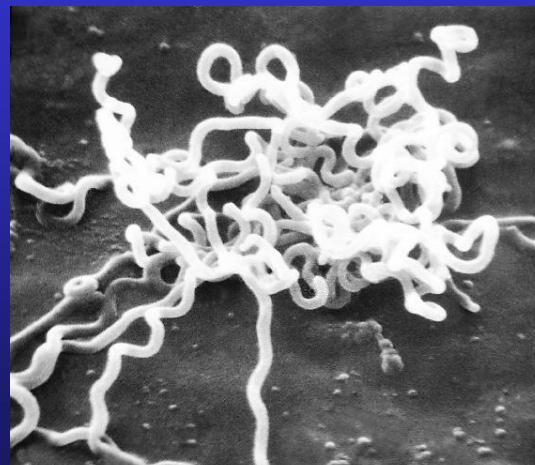
Malattia: sifilide

Agente eziologico:

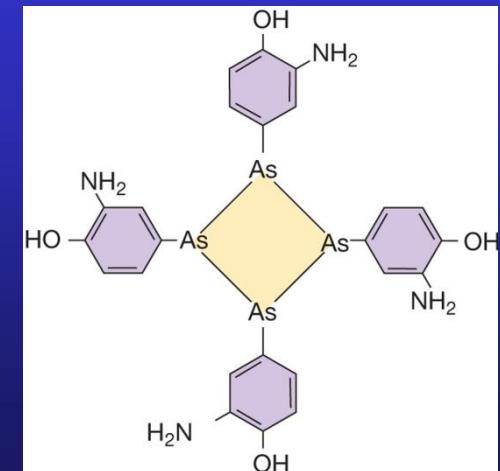
Treponema pallidum (spirochete)

Chemioterapico: NeoSalvarsan

(un arseniobenzolo, altamente tossico)



Premio Nobel nel 1908



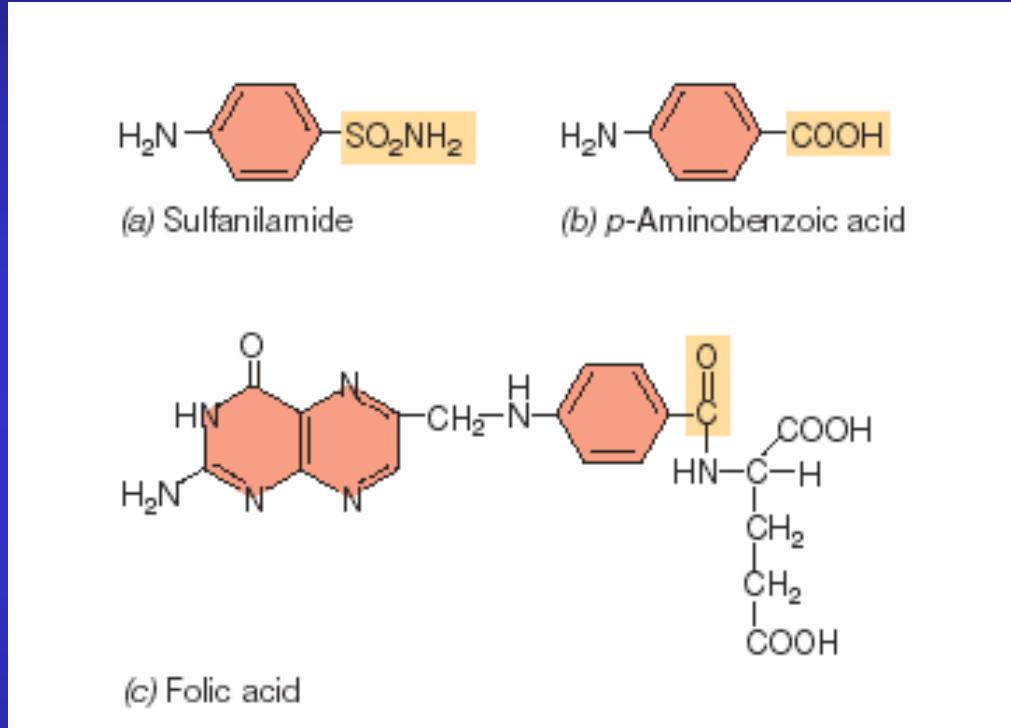
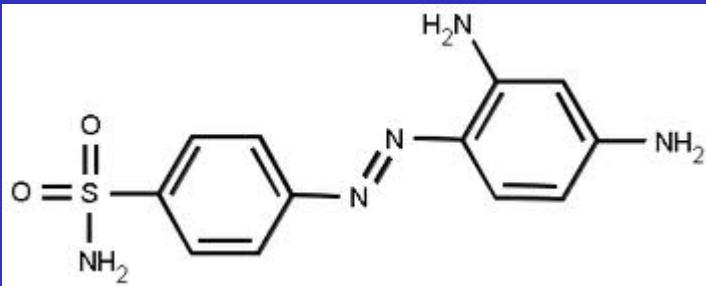
Utilizzando lo stesso approccio, negli anni trenta, il Dr. Gerhard Domagk, individuò il primo antimicrobico utilizzato su larga scala: il Prontosil. Inizialmente, denominato Prontosil rosso, questo farmaco era attivo solo *in vitro*.

La sua raffinazione portò alla elaborazione del Prontosil-Bianco, attivo anche *in vivo*. Questo farmaco è stato utilizzato con successo nella cura di molte affezioni batteriche

Oggi questo farmaco è noto come sulfanilamide (le cui varianti vengono riunite nella classe dei sulfamidici) ed è stato individuato il meccanismo di azione

I sulfamidici sono analoghi strutturali dell'acido para amino benzoico (PABA) che per le cellule microbiche è il substrato per la sintesi dell'acido folico

Prontosil rosso



Le cellule umane non si sintetizzano da se l'acido folico ma la ottengono attraverso l'alimentazione.

L'acido folico è il precursore di un coenzima essenziale per la biosintesi dei nucleotidi

L'era degli antibiotici nasce invece con la scoperta della penicillina da parte di Alexander Fleming (1929) anche se le applicazioni terapeutiche e la produzione su larga scala furono ottenute da Florey nel 1939

In verità, più di 30 anni prima, Vincenzo Tiberio pubblica “Sugli estratti di alcune muffe” in Annali di Igiene sperimentale, vol V, 1895 ...

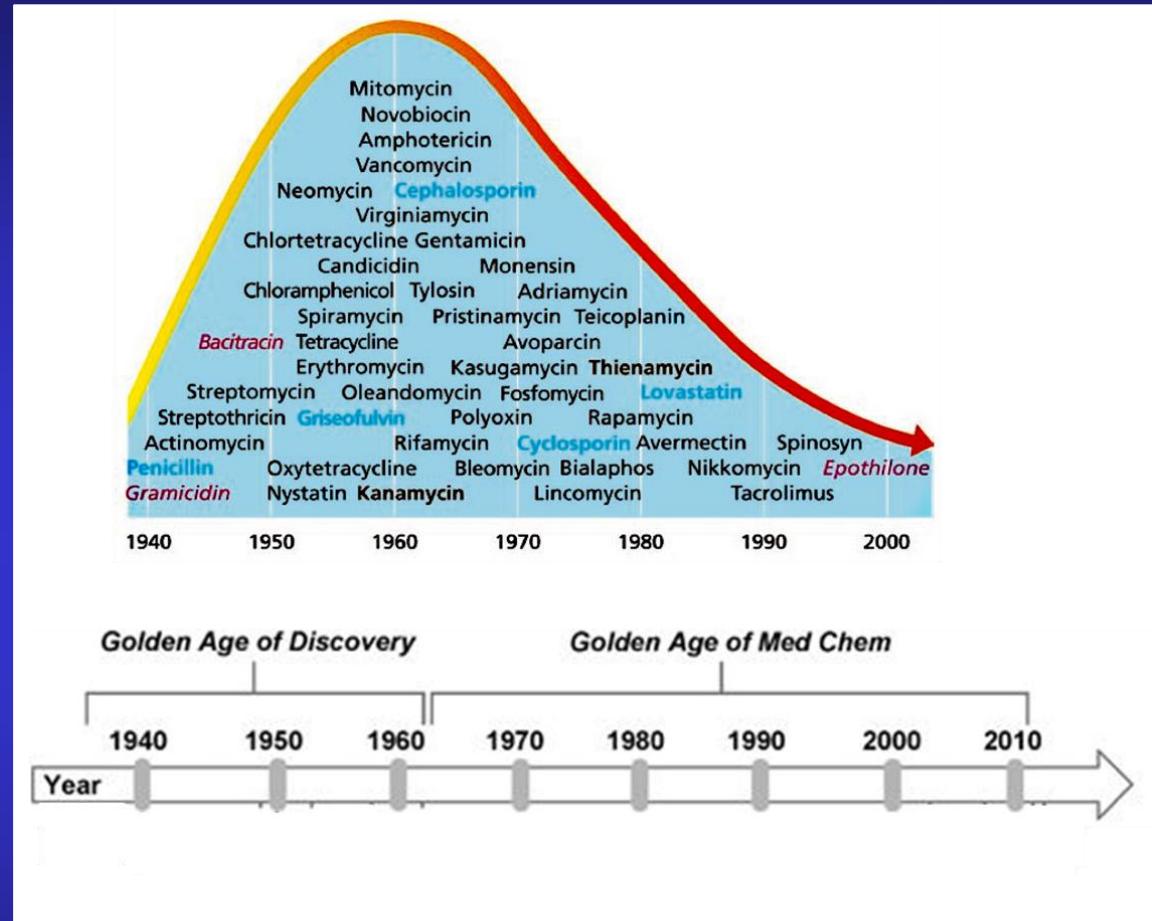


medico della Regia Marina (1895-1915)

- 1. Il solo liquido avuto dall'*Aspergillus flavescens* esercita un'azione positiva nelle infezioni sperimentali da bacillo del tifo e vibrione del colera;**
- 2. Come tale questo liquido ha un'azione preventiva ... e terapeutica... ,**

Le età d'oro degli antibiotici

La ricerca di nuovi antibiotici è una pratica costosa, che in pochissimi casi porta all'uso clinico delle molecole scoperte. Questo, dopo la prima “età dell'oro della scoperta”, ha reso poco interessante la ricerca di nuove molecole per la maggior parte delle aziende farmaceutiche private.



Più interessante è stata la pratica per migliorare le proprietà delle molecole conosciute, portando alla seconda “età dell'oro”, quella della Chimica Medica.

Target cellulari degli antibiotici

Oggi sono note molte molecole ad attività antibiotica ed esse possono essere classificate secondo la loro struttura chimica o secondo i loro bersagli

Nei batteri,i bersagli più importanti dell'azione degli antibiotici sono la parete cellulare (per esempio la vancomicina), la membrana citoplasmatica (polimixine), i processi deputati alla biosintesi delle proteine (i macrolidi e le tetracicline) e la sintesi degli acidi nucleici (rifampicina).

Sintesi della parete cellulare

Cycloserine
Vancomycin
Bacitracin
Penicillins
Cephalosporins
Monobactams
Carbapenems

Allungamento dell'RNA

Actinomycin

DNA girasi

Nalidixic acid
Ciprofloxacin
(quinolones)
Novobiocin

Metabolismo dell'acido folico

Trimethoprim
Sulfonamides

THF
DHF

DNA
mRNA

DNA-directed RNA polimerasi

Rifampin
Streptovaricins

Sintesi proteica (inibitori della subunità 50S del ribosoma)

Erythromycin (macrolides)
Chloramphenicol
Clindamycin
Lincomycin

Sintesi proteica (inibitori della subunità 30S del ribosoma)

Tetracyclines
Spectinomycin
Streptomycin
Gentamicin, tobramycin
Kanamycin (aminoglycosides)
Amikacin
Nitrofurans

Cytoplasmic membrane

PABA

Cell wall

Struttura della membrana citoplasmatica

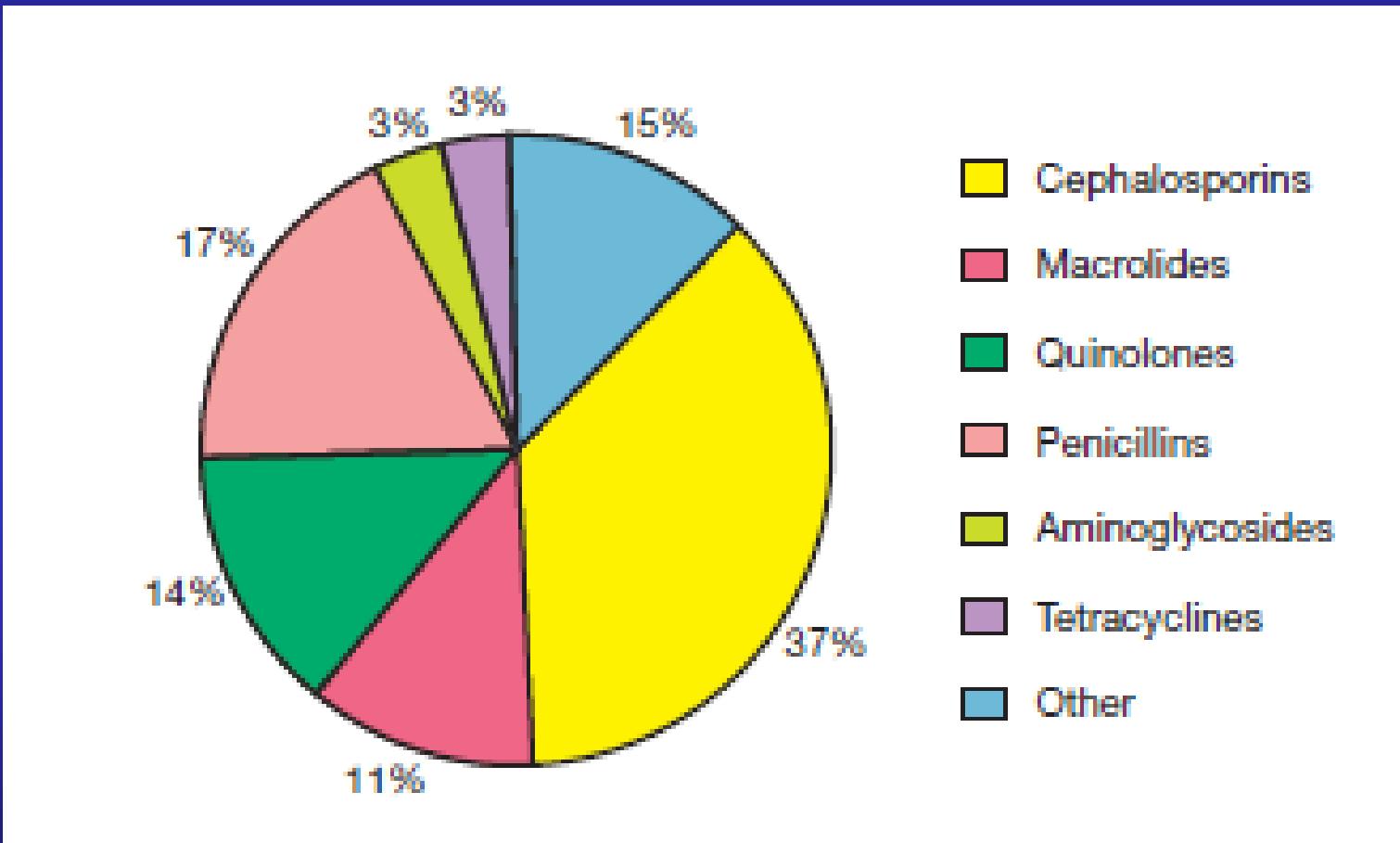
Polymyxins

Protein synthesis (tRNA)

Mupirocin
Puromycin

Figura 14.13 Bersagli dei principali agenti chemioterapici antimicrobici. THF, tetraidrofolato; DHF, diidrofolato; mRNA, RNA messaggero; tRNA, RNA transfer.

Produzione mondiale di antibiotici



La parete cellulare (e la sua biosintesi) hanno rappresentato, e rappresentano tutt'ora, un sito bersaglio preferenziale per lo sviluppo di molecole ad attività antibiotica.

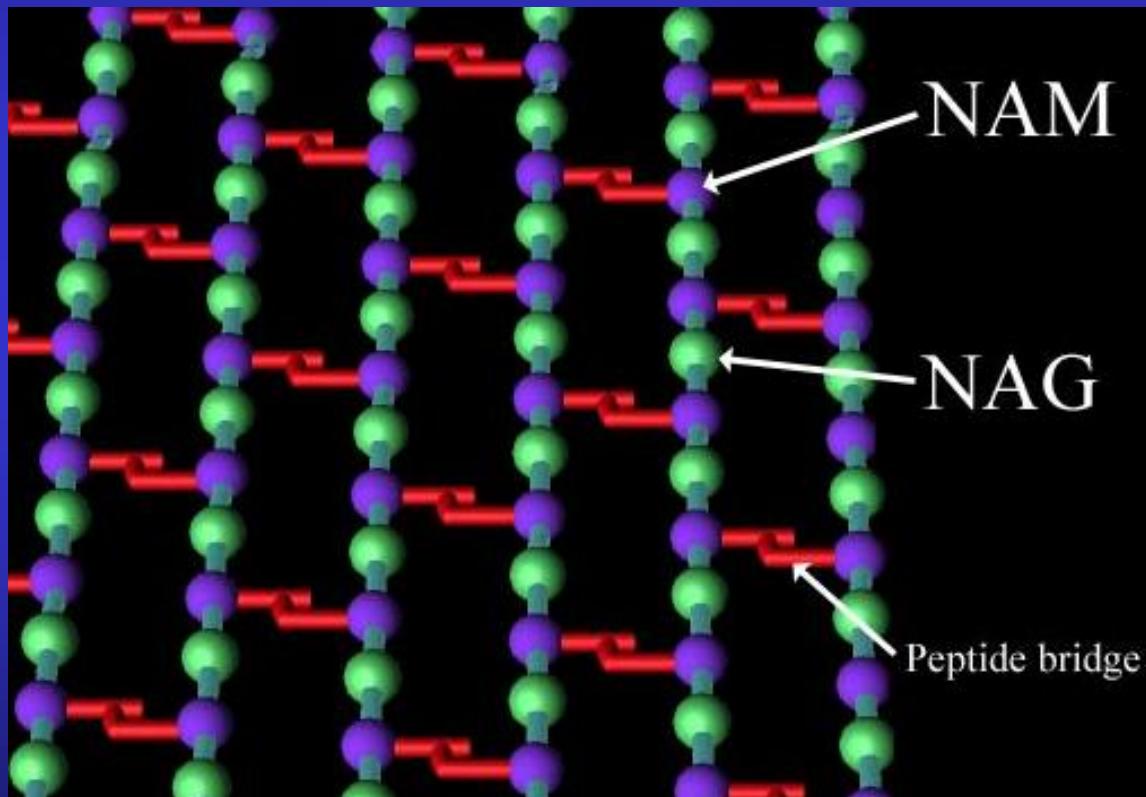
Gli antibiotici che intervengono a livello della parete cellulare, o della sua biosintesi, rimangono di grande interesse perché vanno a colpire una struttura, ed una via metabolica, sostanzialmente assente nell'organismo umano

Questo aspetto è molto importante perché limita a priori la tossicità per l'organismo da trattare.

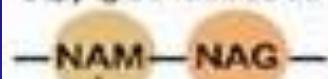
In altre parole soddisfa il concetto di tossicità selettiva

BIOSINTESI DEL PEPTIDOGLICANO

Struttura del



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc.



|
L-Ala

|
D-Glu

|
DAP

|
D-Ala

|
D-Ala

|
DAP

|
D-Glu

|
L-Ala

GRAM -

GRAM +



|
L-Ala

|
D-GluNH₂

|
L-Lys

|
D-Ala

Gly — Gly — Gly — Gly — Gly
Peptide interbridge

|
D-Ala

|
L-Lys

|
D-GluNH₂

|
L-Ala

|
NAM—NAG—

Per essere precisi



L-Ala

D-Glu

DAP

D-Ala

Composizione più frequente
(presente in tutti i Gram – e
qualche Gram +)



L-Ala

D-Glu

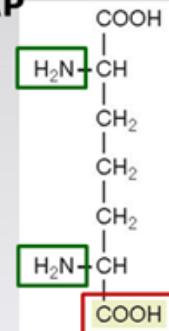
L-Lys

D-Ala

Presente in molti Gram +

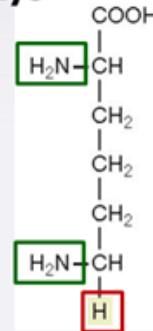
Altre sostituzioni possono essere identificate in posizione 1 e 3
(abbastanza rare)

DAP



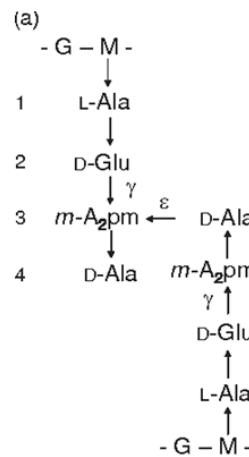
DIAMINO ACIDS
(two amine groups, NH₂)

L-Lys

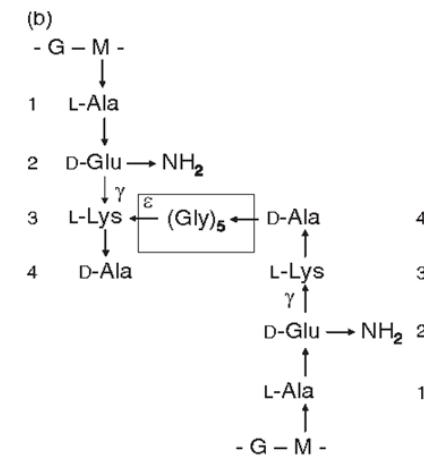


E ancora

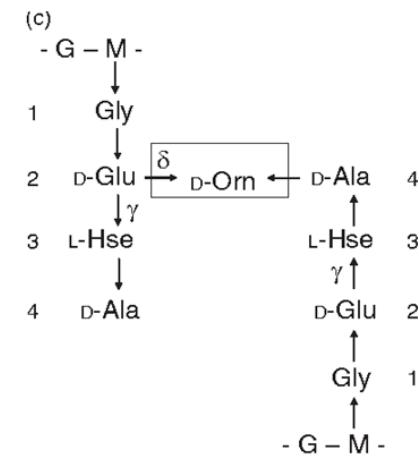
Escherichia coli



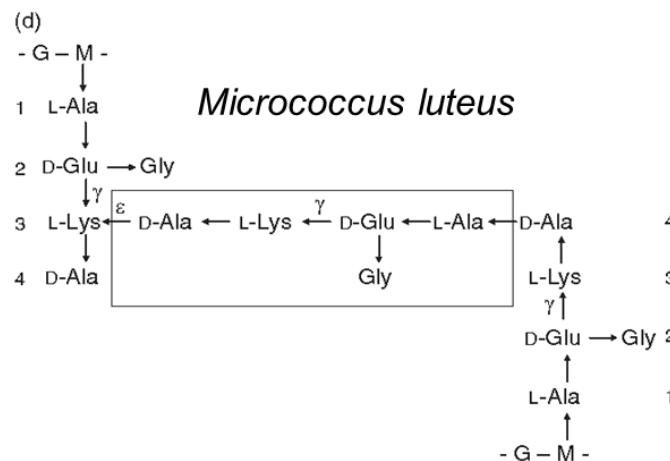
Staphylococcus aureus



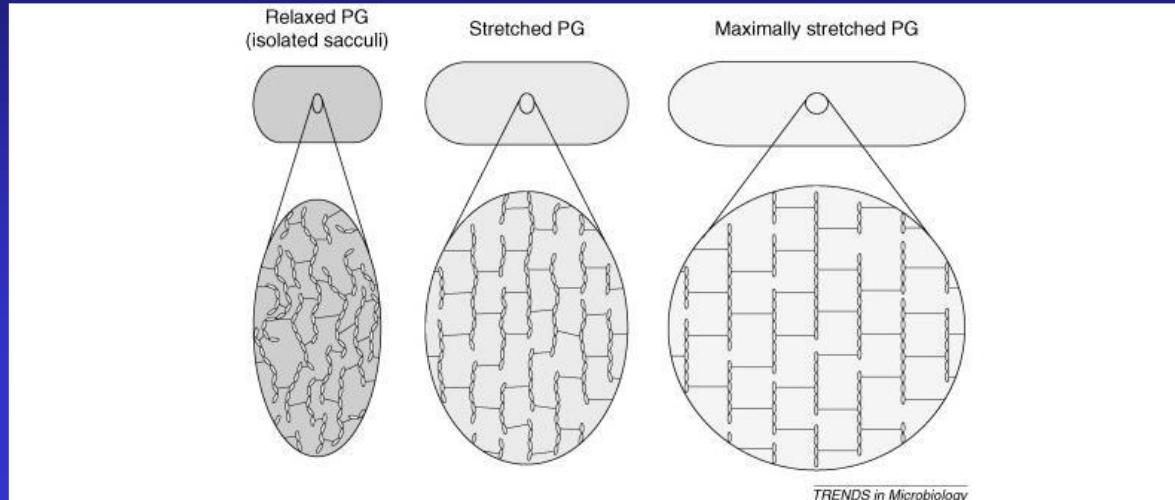
Corynebacterium pointsettiae



Micrococcus luteus

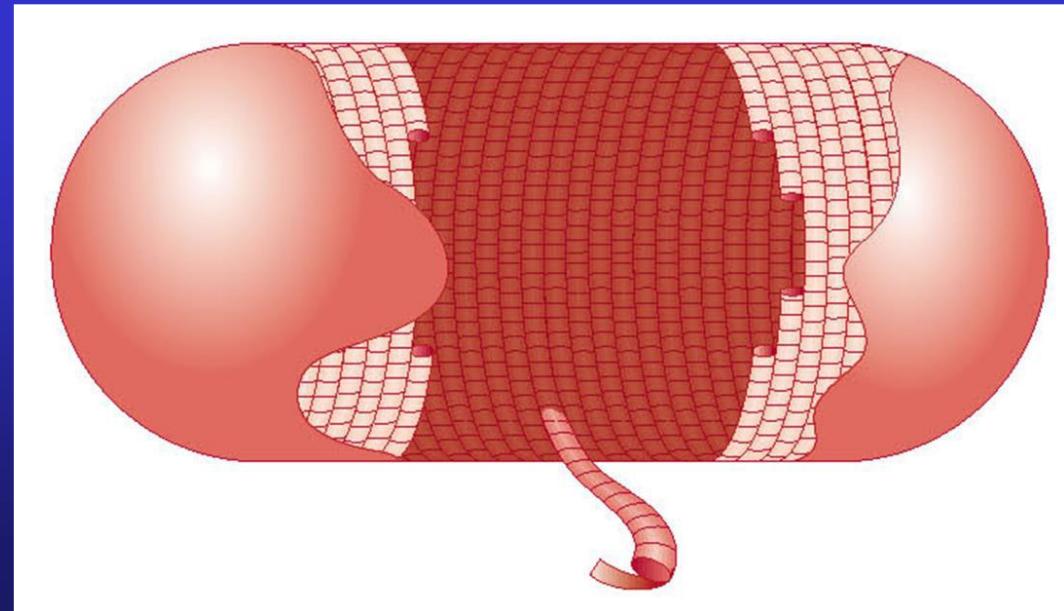


Architettura del peptidoglicano

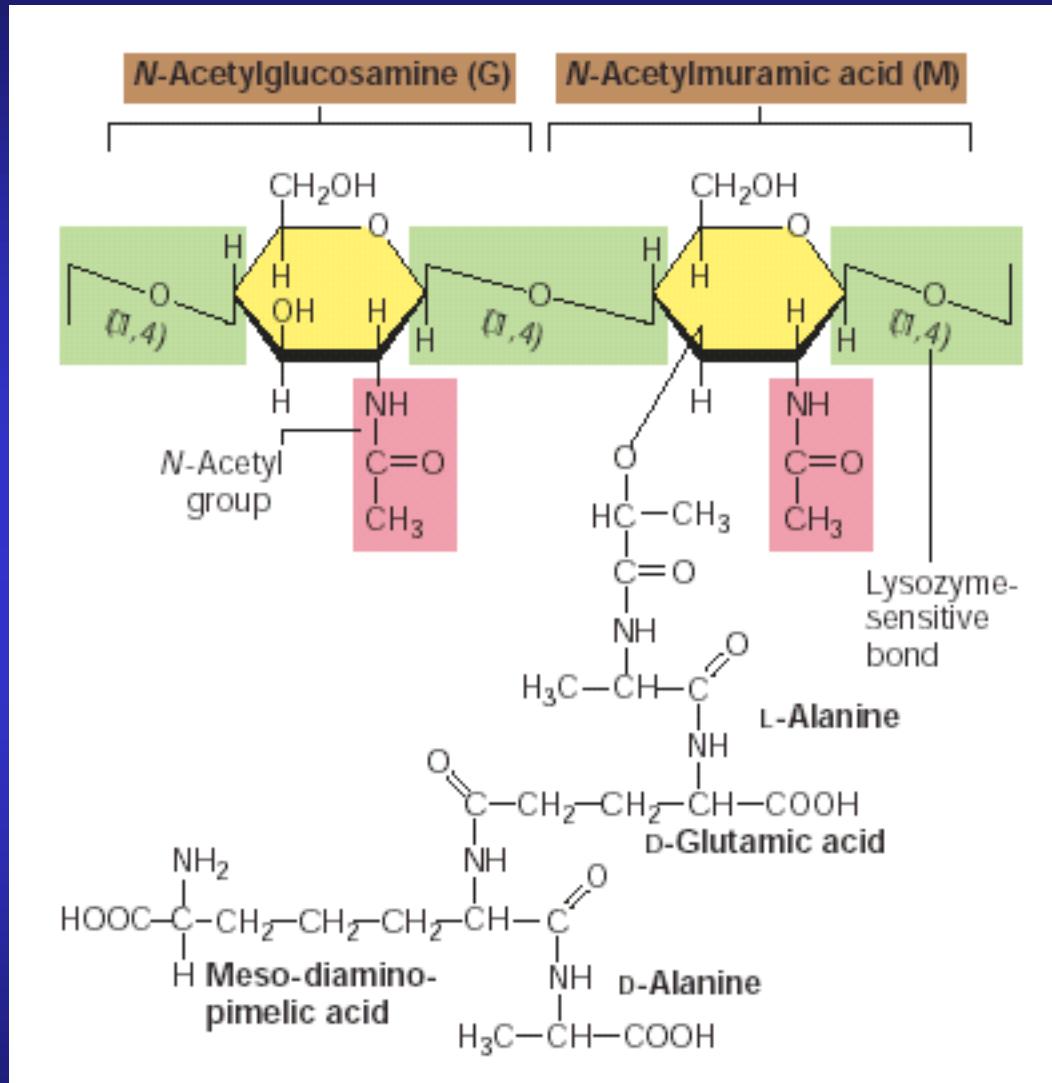


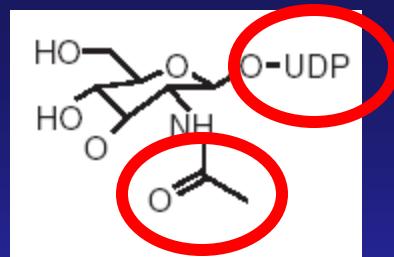
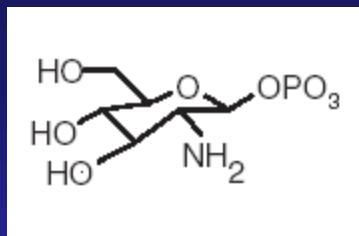
Escherichia coli
(Gram -)

Bacillus subtilis
Gram +



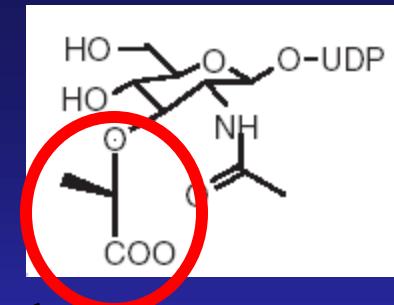
L'elemento base per la sintesi del peptidoglicano nell'ambiente extracellulare è il complesso delle molecole di NAG + NAM + il pentapeptide che termina con due D-Ala





**MurA
MurB**

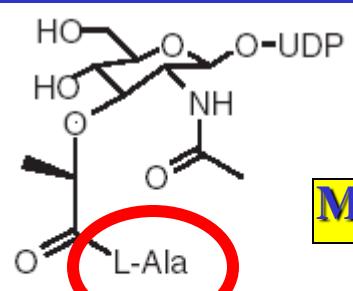
UDP-NAG



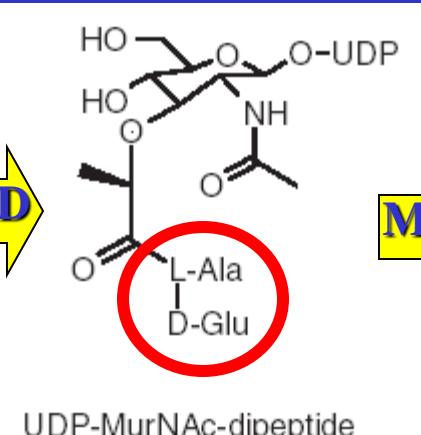
UDP-NAM

Glucosamina 1 P

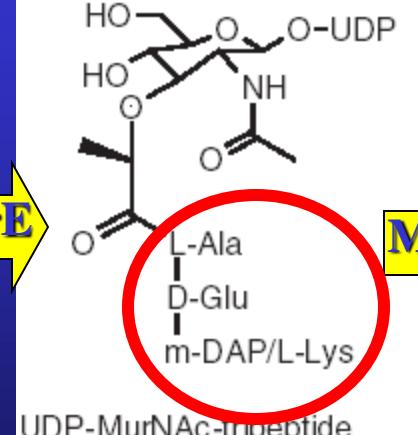
MurC



MurD



MurE

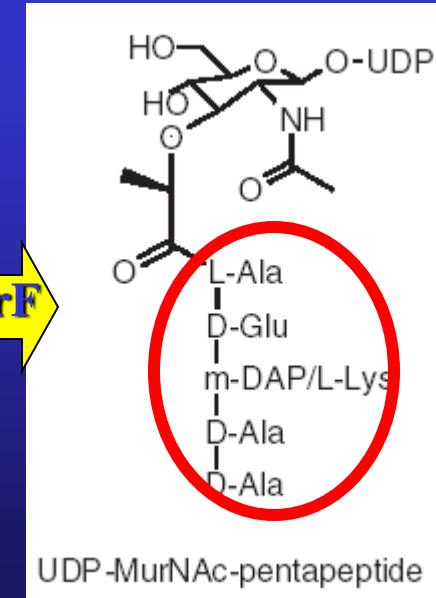


MurF

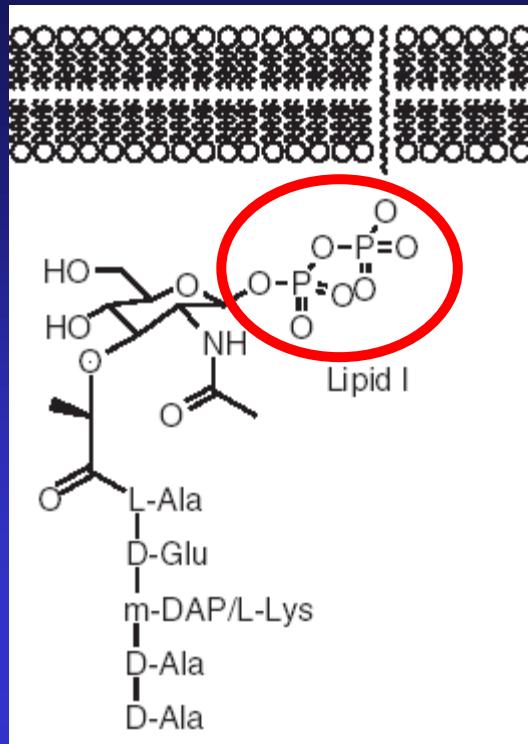
UDP-MurNAc-L-Ala

UDP-MurNAc-dipeptide

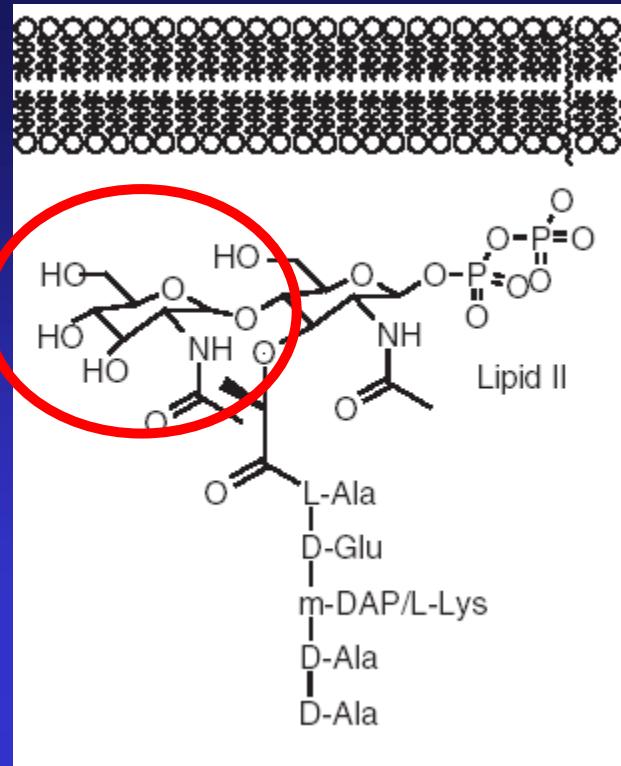
UDP-MurNAc-tripeptide



UDP-MurNAc-pentapeptide



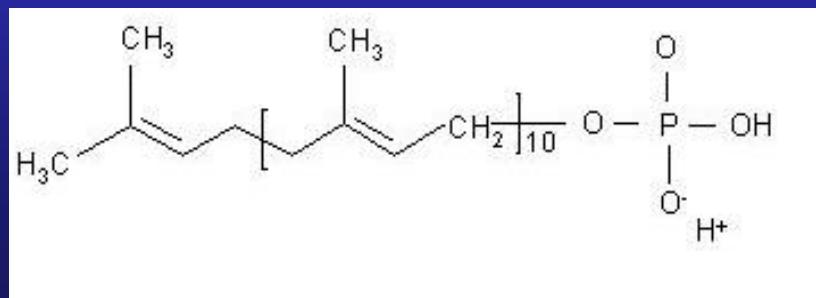
MurG →
-UMP
+UDP-NAG



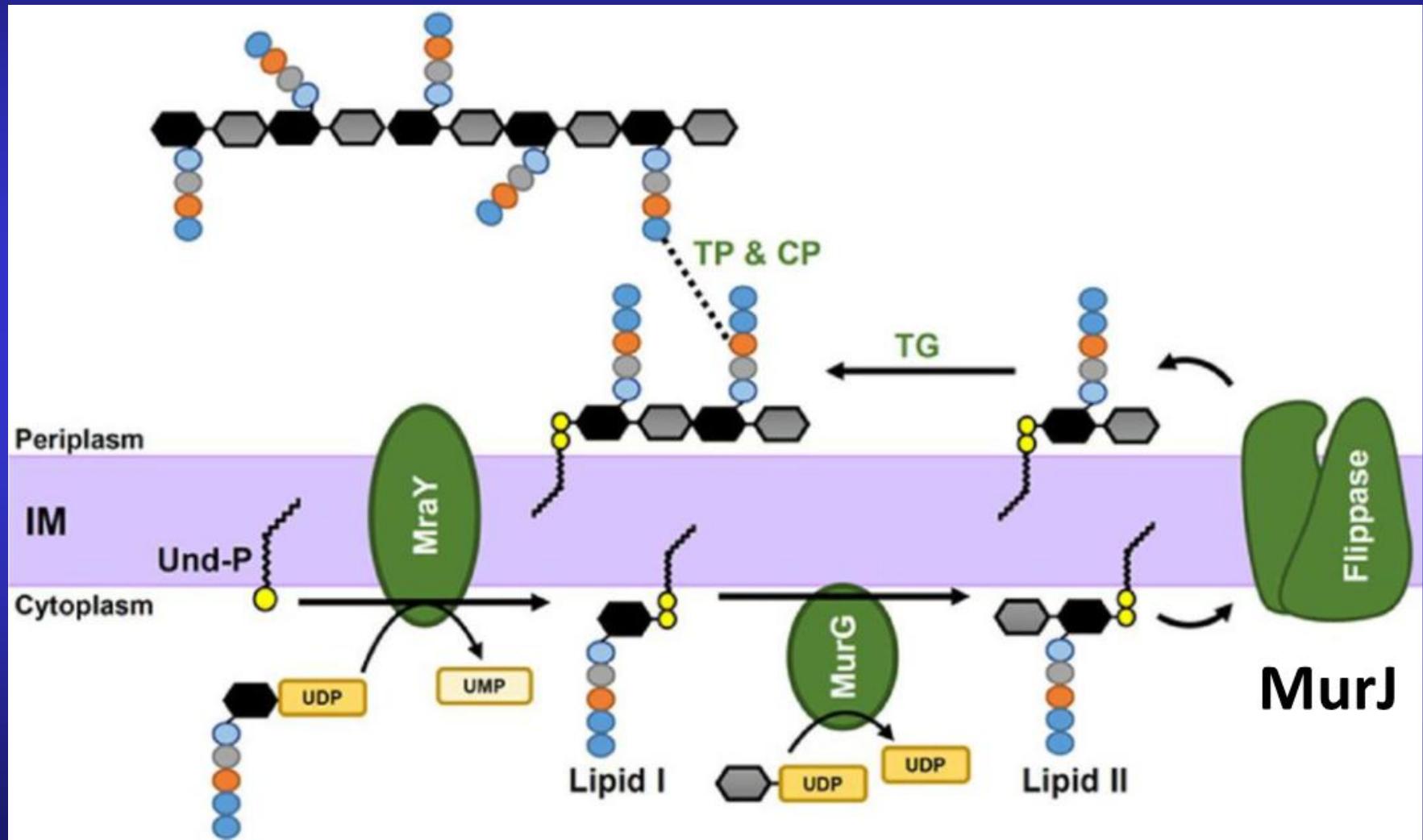
LIPIDE I

LIPIDE II

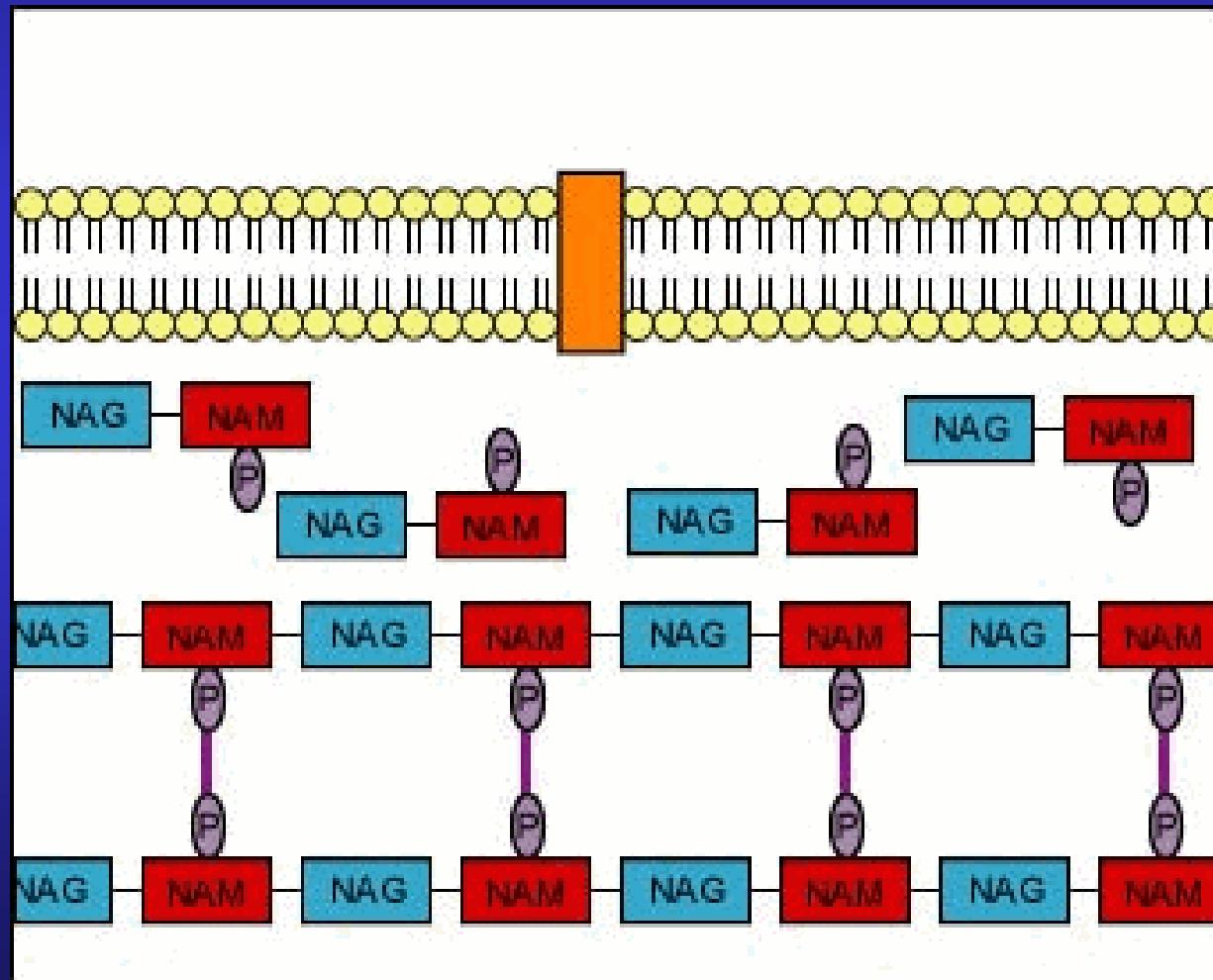
Bactoprenolo



Trasporto del pentapeptide-glicano attraverso la membrana citoplasmatica



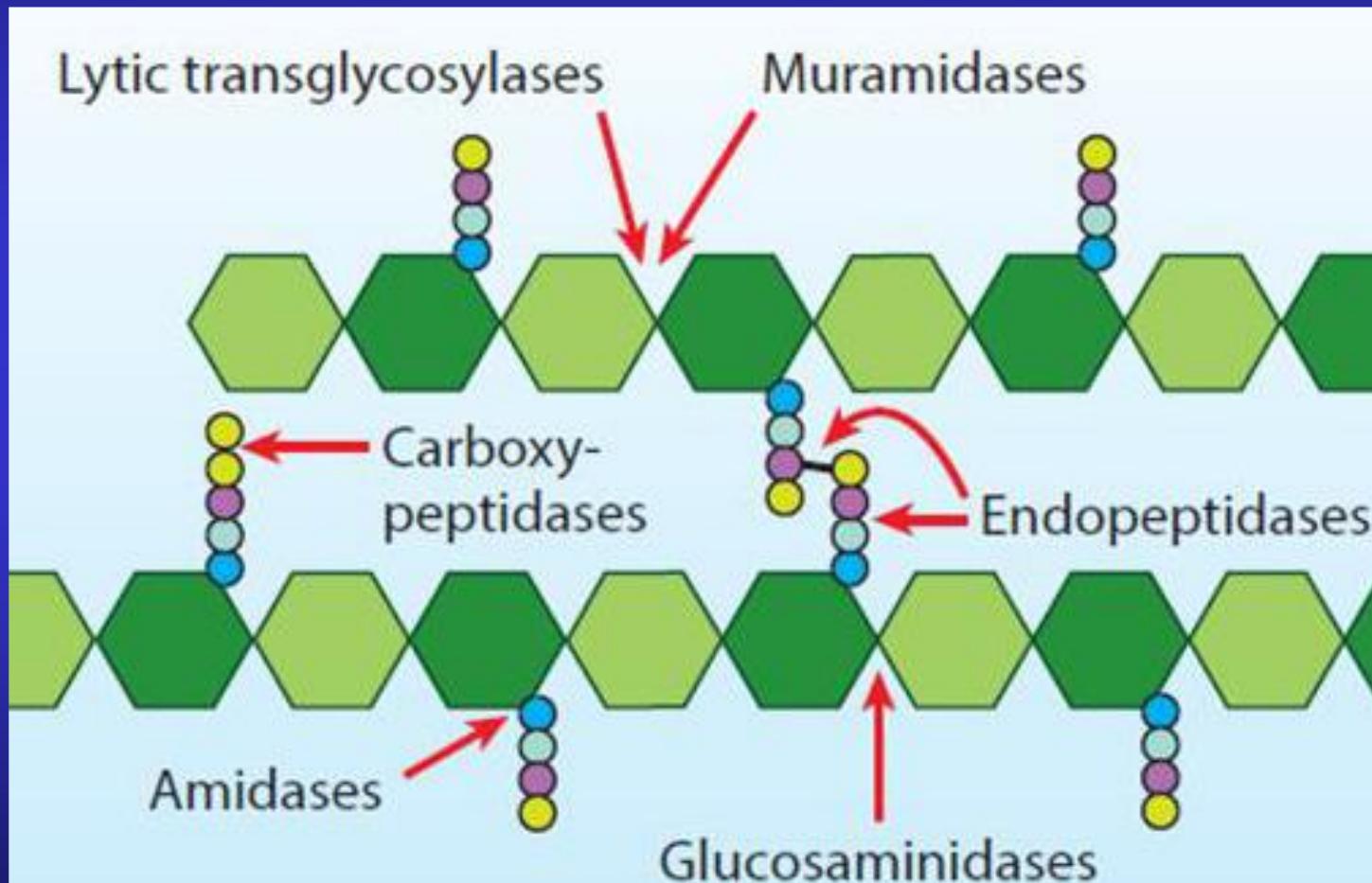
Processo di incorporazione delle nuove unità nel peptidoglicano



Gli enzimi che sono responsabili dell'assemblaggio del peptidoglicano sono:

- Autolisine
 - PBPs

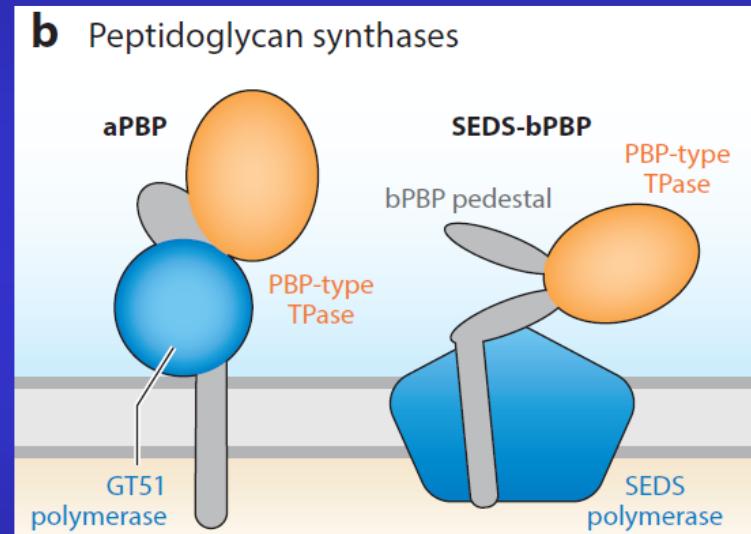
Enzimi che degradano o rimodellano il Peptidoglicano: le autolisine



Le PBP (Penicillin Binding Proteins) possono avere attività glicosiltrasferasica (PGTasi) e Transpeptidasica (TPasi)

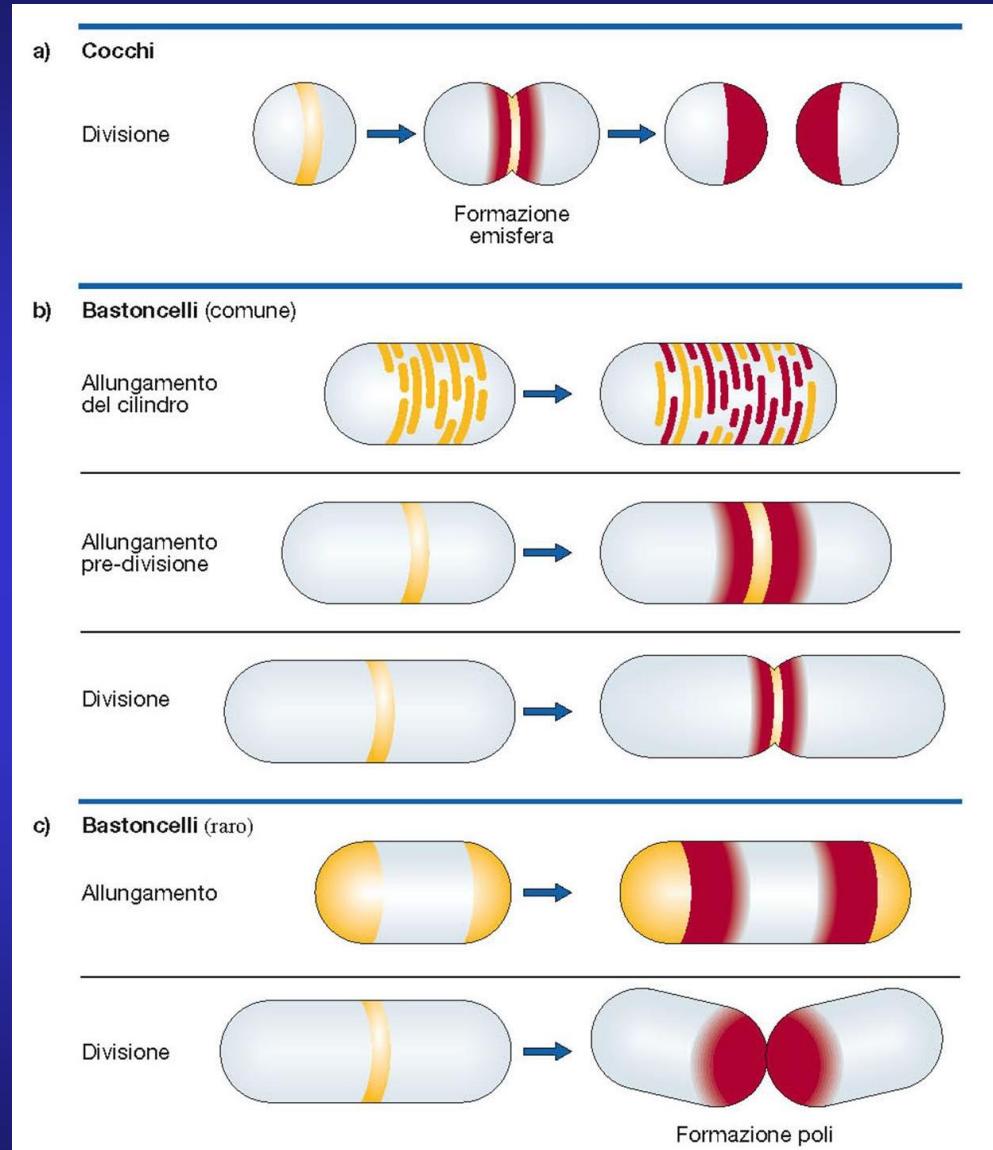
Ne esistono di due forme : **aPBP** e **bPBP**

Le **aPBP** sono proteine integrali di membrana con una porzione extracellulare di notevoli dimensioni in cui è possibile distinguere due domini: GT51 in cui risiede l'attività PG glicosiltrasferasica e un secondo dominio (indicato in arancione) con attività transpeptidasica



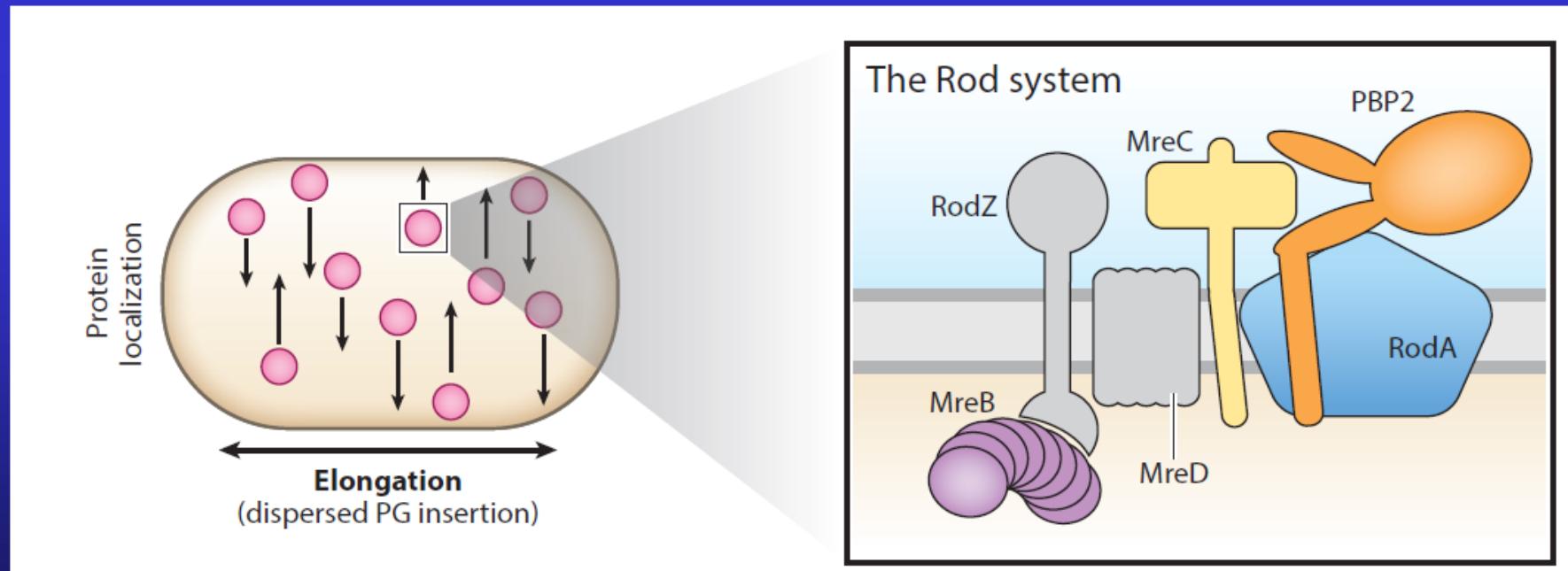
Le **bPBP** sono associate ad una seconda proteina (SEDS-Shape Elongation Division Sporulation). La bPBP ha solo attività Tpasica (dominio arancione) ed è caratterizzata dalla presenza di un dominio «piedistallo» a funzione sconosciuta, la proteina SEDS ha attività glicosiltrasferasica.

Dove, la cellula ha necessità di sintetizzare nuovo peptidoglicano?

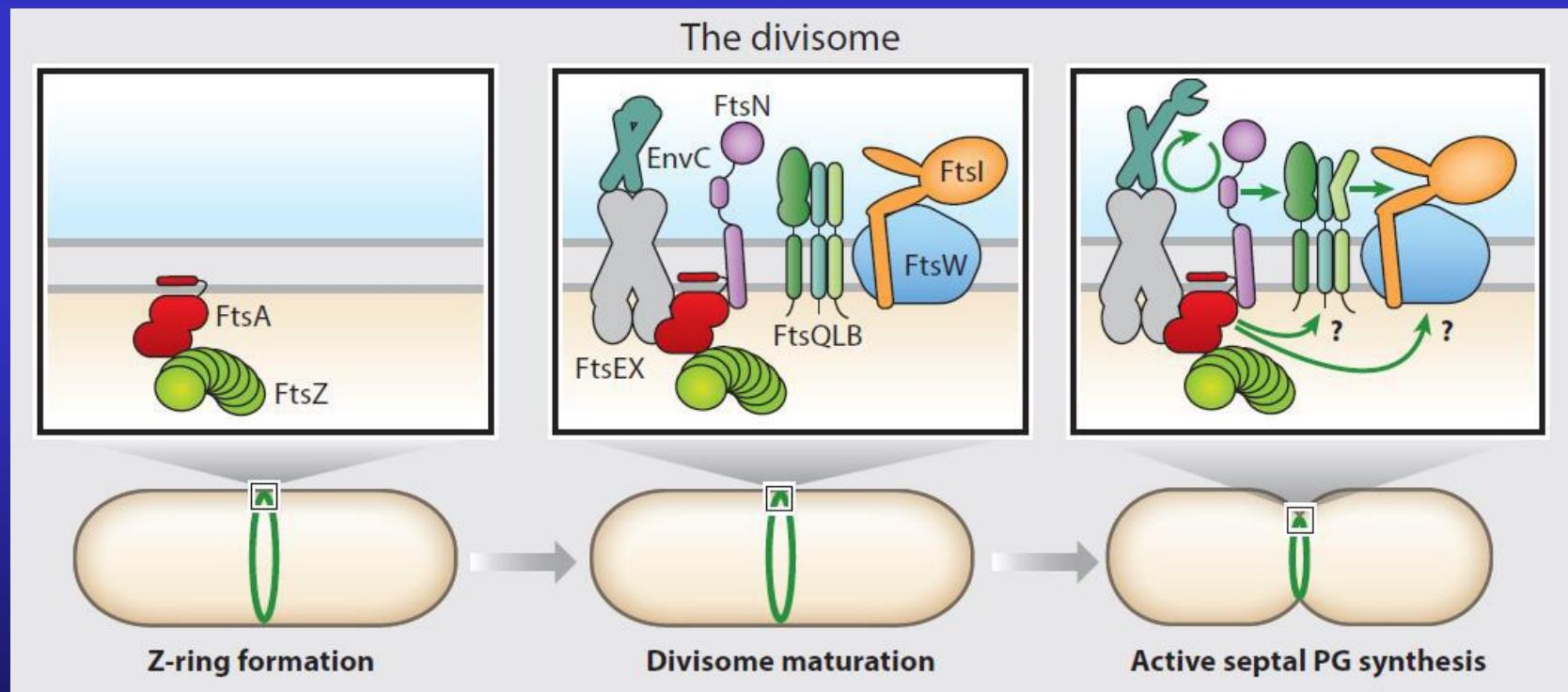


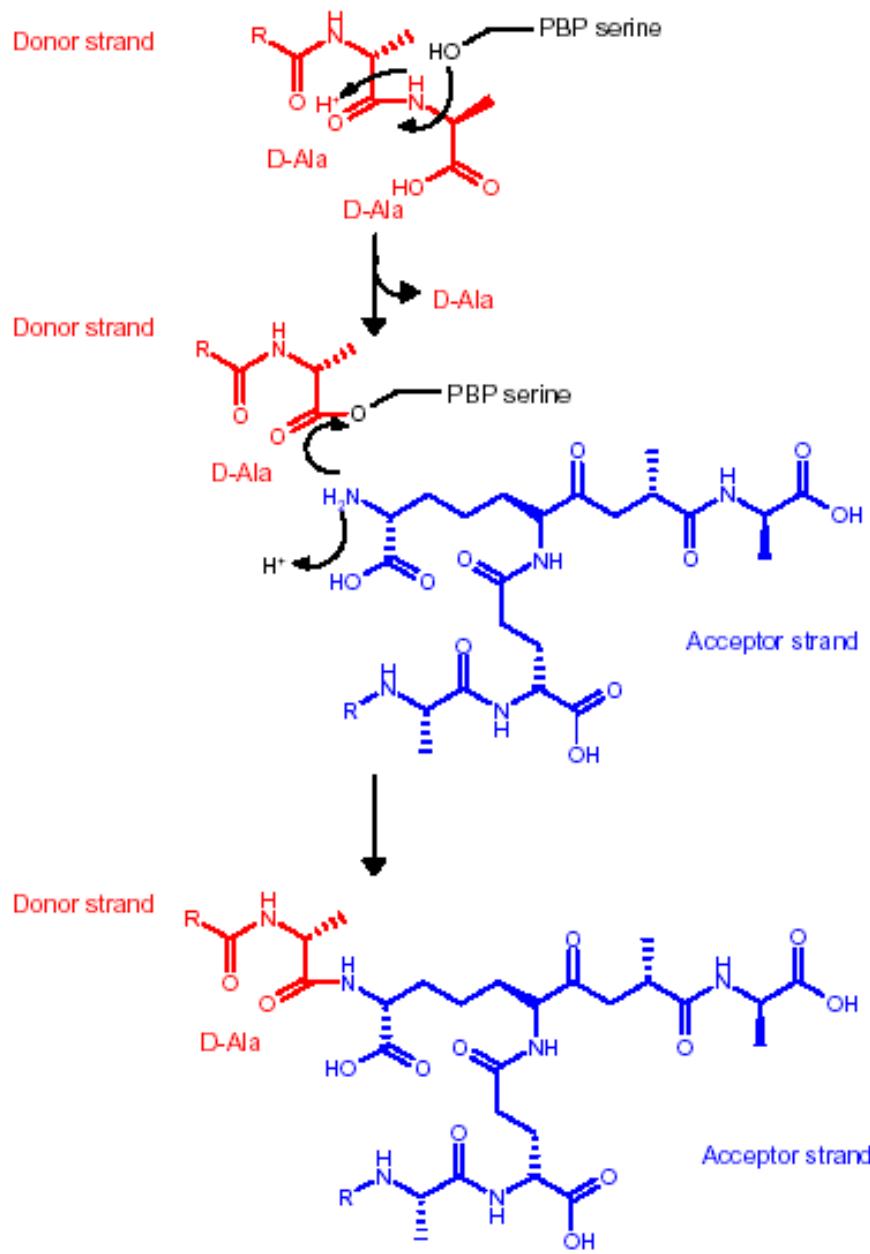
Sono stati e caratterizzati almeno due complessi SEDS-bPBP:
il complesso **ROD** e quello del **DIVISOMA**

Il complesso **ROD**, che prende il nome da **RodA**(la proteina SEDS), interagisce con altre proteine che permettono al complesso di ancorarsi al citoscheletro batterico (actin-like MreB) e scorrendo su di esso sintetizza nuovo peptidoglicano in vari punti della cellula contribuendo alla forma e all'allungamento della cellula



Il complesso del DIVISOMA, in cui RodA è sostituita dalla proteina FtsW, con le proteine del citoscheletro responsabili della formazione del setto durante la divisione cellulare. Quindi questo complesso è responsabile della sintesi di nuovo peptidoglicano durante la formazione del setto di divisione





Le PBP sono in grado di effettuare la transpeptidazione riconoscendo il dimero di D-Ala terminale, eliminando l'ultimo residuo di questo dimero e formando un intermedio covalente che trasferirà il legame al gruppo di DAP o L-Lys di un secondo penta peptide

Questa fase della sintesi del peptidoglicano prevede l'esistenza di almeno due classi di antibiotici in grado di inibire la reazione di transpeptidazione:

- I β -lattamici (pennicilline)
- I glicopeptidi (Vancomicina)

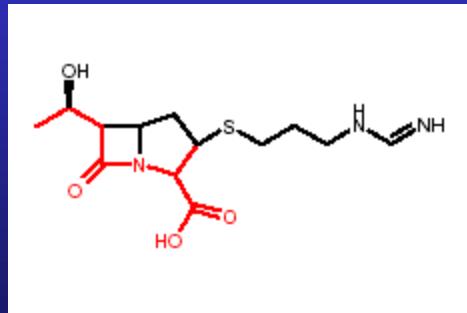
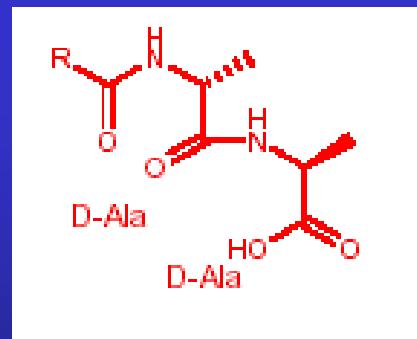
Queste due classi di antibiotici agiscono in maniera differente....

I β -lattamici sono dotati di una struttura che richiama quella presentata dal dimero di D-Ala..

In questo modo essi possono legarsi al sito attivo delle PBP ed impedirne il funzionamento



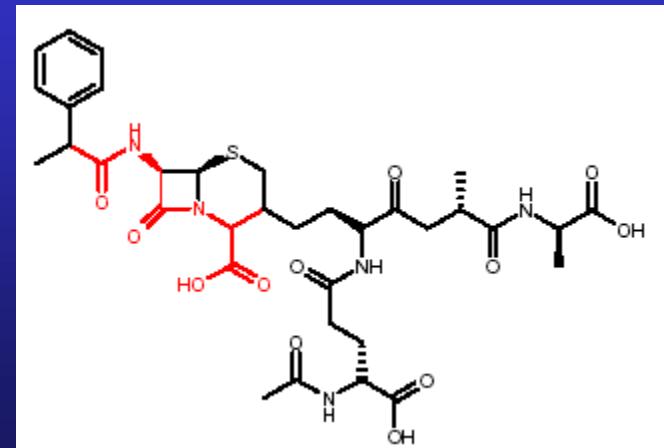
Pennicillina G



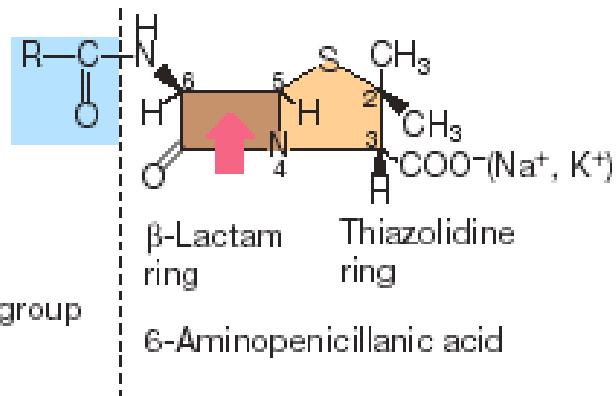
Carbapenem Imipenem



Cefalosporine



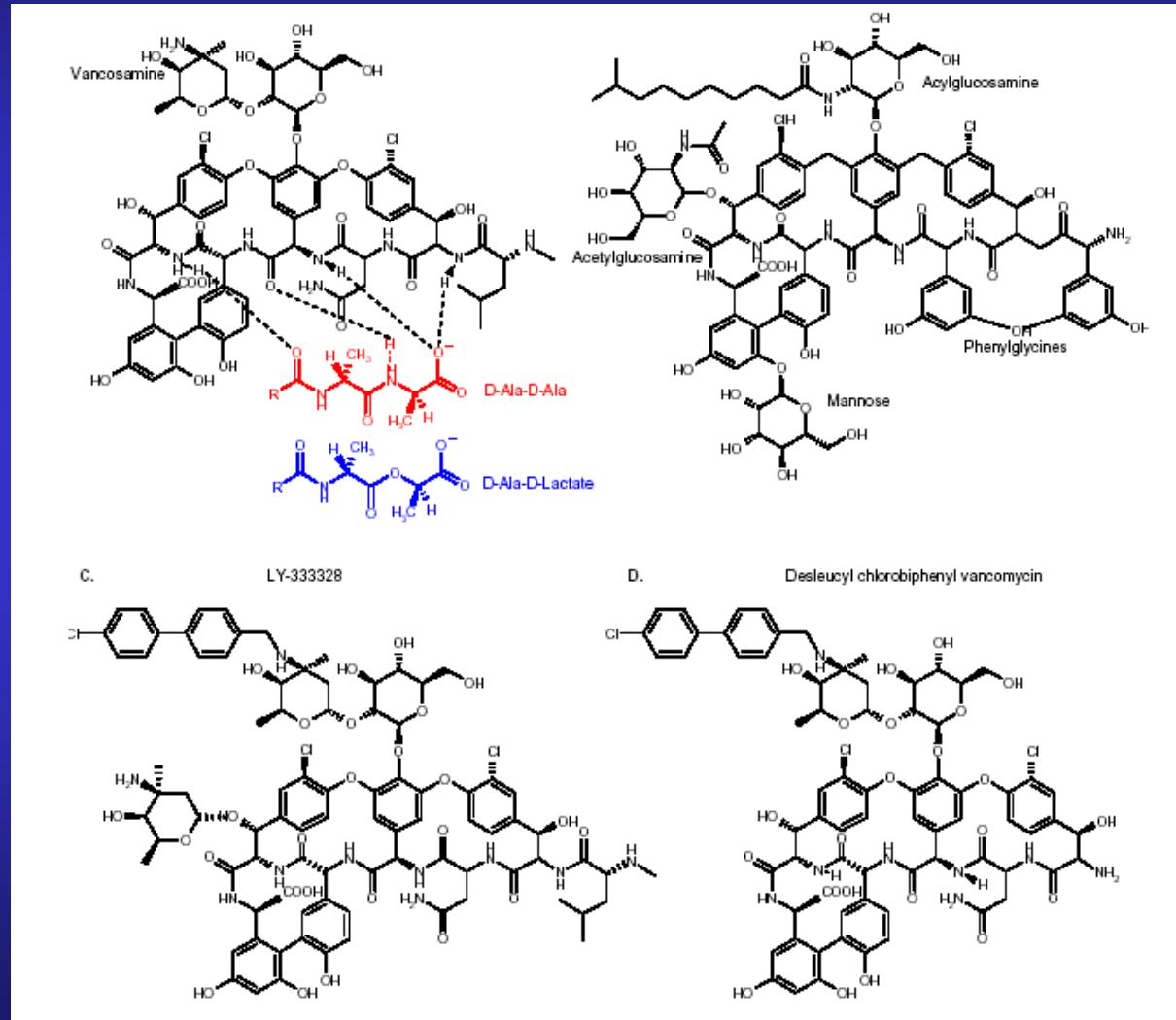
I β -lattamici più importanti sono i derivati della penicillina G



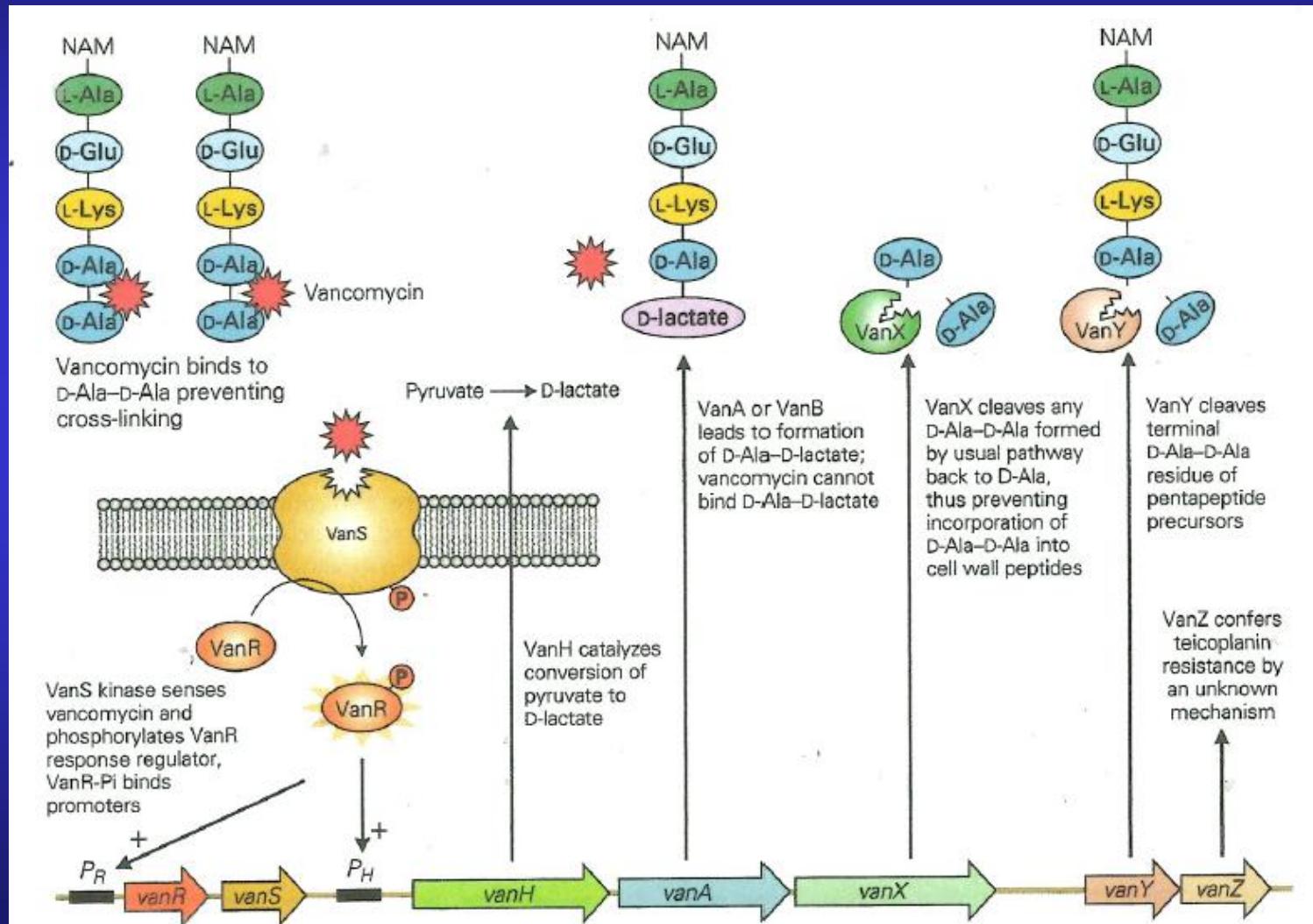
Designazione	Gruppo <i>N</i> -Acile
PENICILLINA NATURALE Benzilpenicillina (penicillina G) Attiva sui Gram-positivi, sensibile alle β -lattamasi	<chem>C=Cc1ccccc1Cc2ccccc2C(=O)C</chem>
PENICILLINE SEMISINTETICHE Meticillina Stabile in ambiente acido, resistente alle β -lattamasi	<chem>Oc1ccccc1C(=O)c2ccccc2OC</chem>
Oxacillina Stabile in ambiente acido, resistente alle β -lattamasi	<chem>Oc1ccccc1C(=O)c2cc3c(c2)ONC3C</chem>
Ampicillina Ampio spettro di attività (specialmente contro i batteri Gram-negativi), stabile in ambiente acido, resistente alle β -lattamasi	<chem>C=Cc1ccccc1Cc2ccccc2C(=O)N</chem>
Carbenicillina Ampio spettro di attività (specialmente contro <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), stabile in ambiente acido ma inefficiente per via orale, sensibile alle β -lattamasi	<chem>C=Cc1ccccc1Cc2ccccc2C(=O)C(=O)O</chem>

La Vancomicina (e gli antibiotici della sua classe) hanno un meccanismo di azione differente....

Essi, infatti si legano
al dipeptide di D-
Ala e non
permettono alla PBP
di utilizzarlo per la
transpeptidazione



Meccanismi di resistenza alla Vancomicina

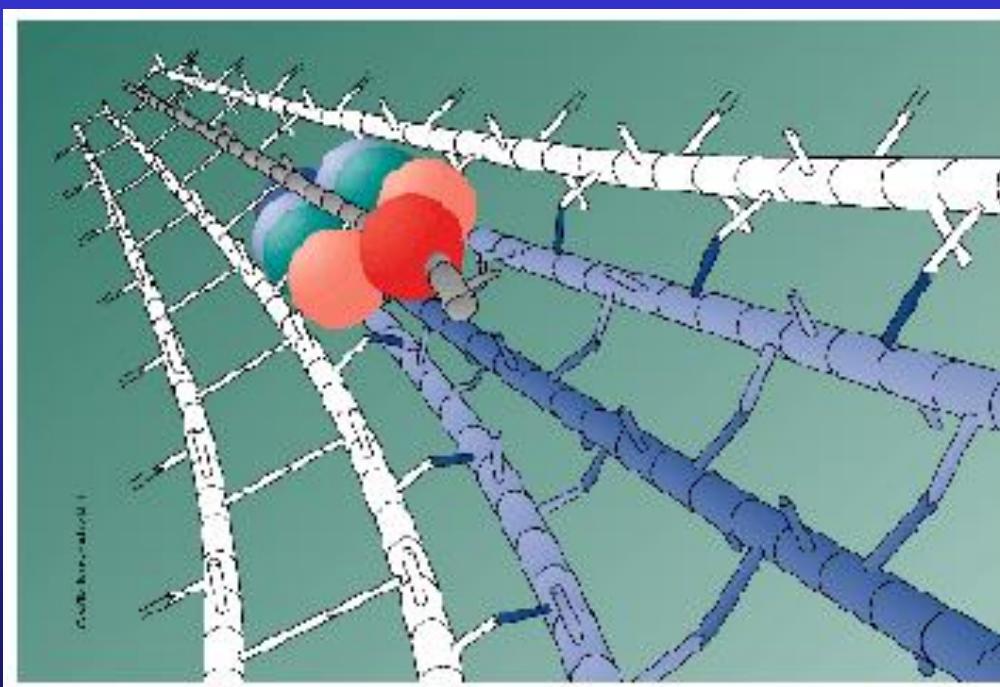


Altri antibiotici agiscono a livello della biosintesi delle unità strutturali del peptidoglicano....

La cicloserina inibisce l'attività dell'enzima Isomerasi che determina la sintesi delle D-Ala dalla L-Ala....

La fosfomicina inibisce l'enzima MurA responsabile insieme a MurB della biosintesi del UDP-NAM

Un altro importante antibiotico è la bacitracina che impedisce il riciclaggio delle molecole di bactoprenolo necessario per il trasporto del LIPIDE II attraverso la membrana

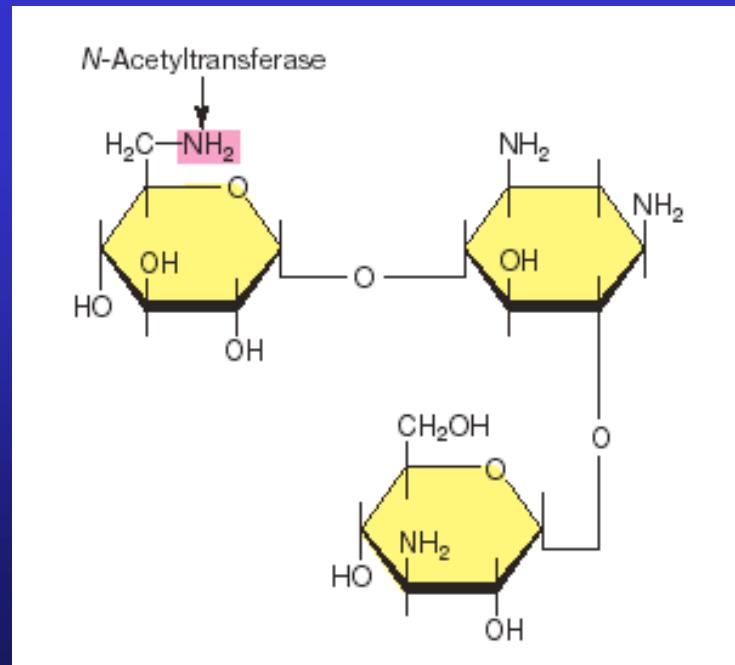


Gli aminoglucosidi

Si tratta di una categoria di antibiotici storicamente molto importante. Tra i suoi componenti si annoverano la kanamicina, la streptomicina, la gentamicina e la neomicina.

Sono antibiotici che bloccano la traduzione legandosi alla subunità 30s del ribosoma.

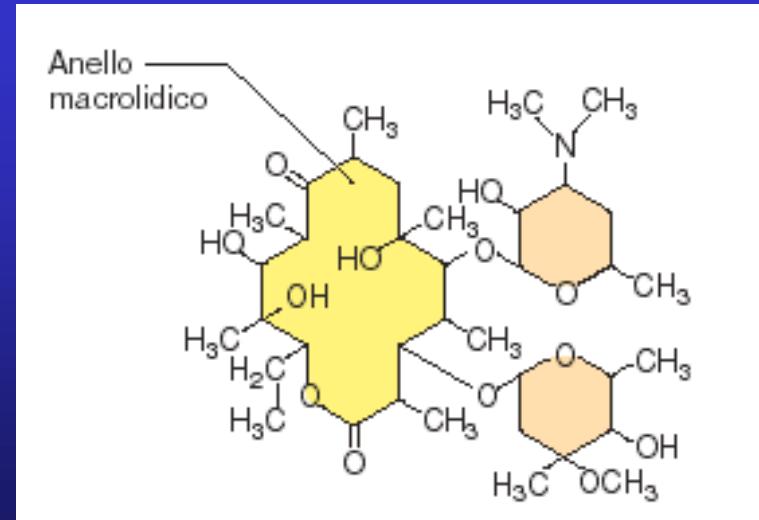
Strutturalmente sono aminozuccheri legati tra loro con legami glucosidici.



Antibiotici macrolidi

Sono molecole strutturalmente caratterizzate da anelli macrolatttonici legati a zuccheri.

Il più conosciuto è senz'altro l'eritromicina e agiscono bloccando la traduzione ma legando, differenziandosi dagli aminoglucosidici, alla subunità ribosomiale 50S.

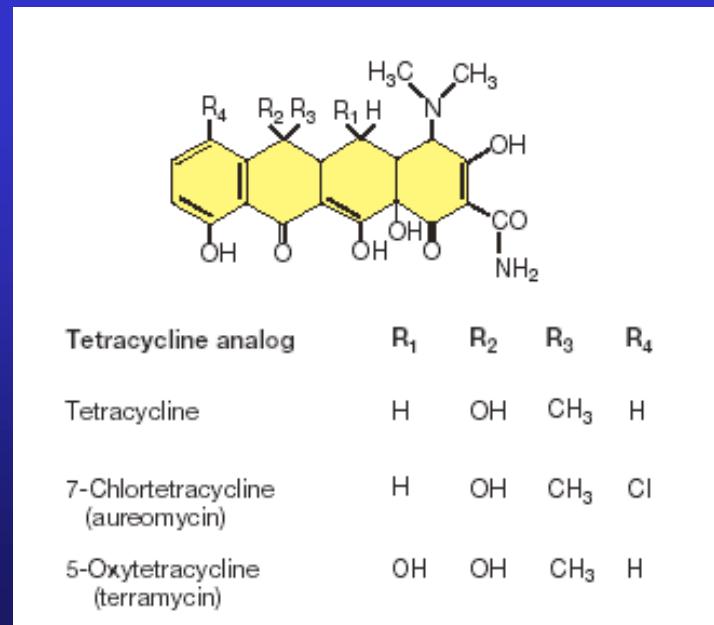


Tetracicline

Gli antibiotici di questo gruppo, insieme ai β -lattamici, sono i più importanti in ambito clinico.

Sono infatti antibiotici ad ampio spettro, agiscono inibendo la traduzione attraverso l'interazione con la subunità ribosomiale 30S.

Sono strutturalmente costituiti da anelli naftacenici con gruppi sostituiti (R_{1-4}).



Gli stessi principi esposti per gli antibiotici sono validi per le molecole antifungine

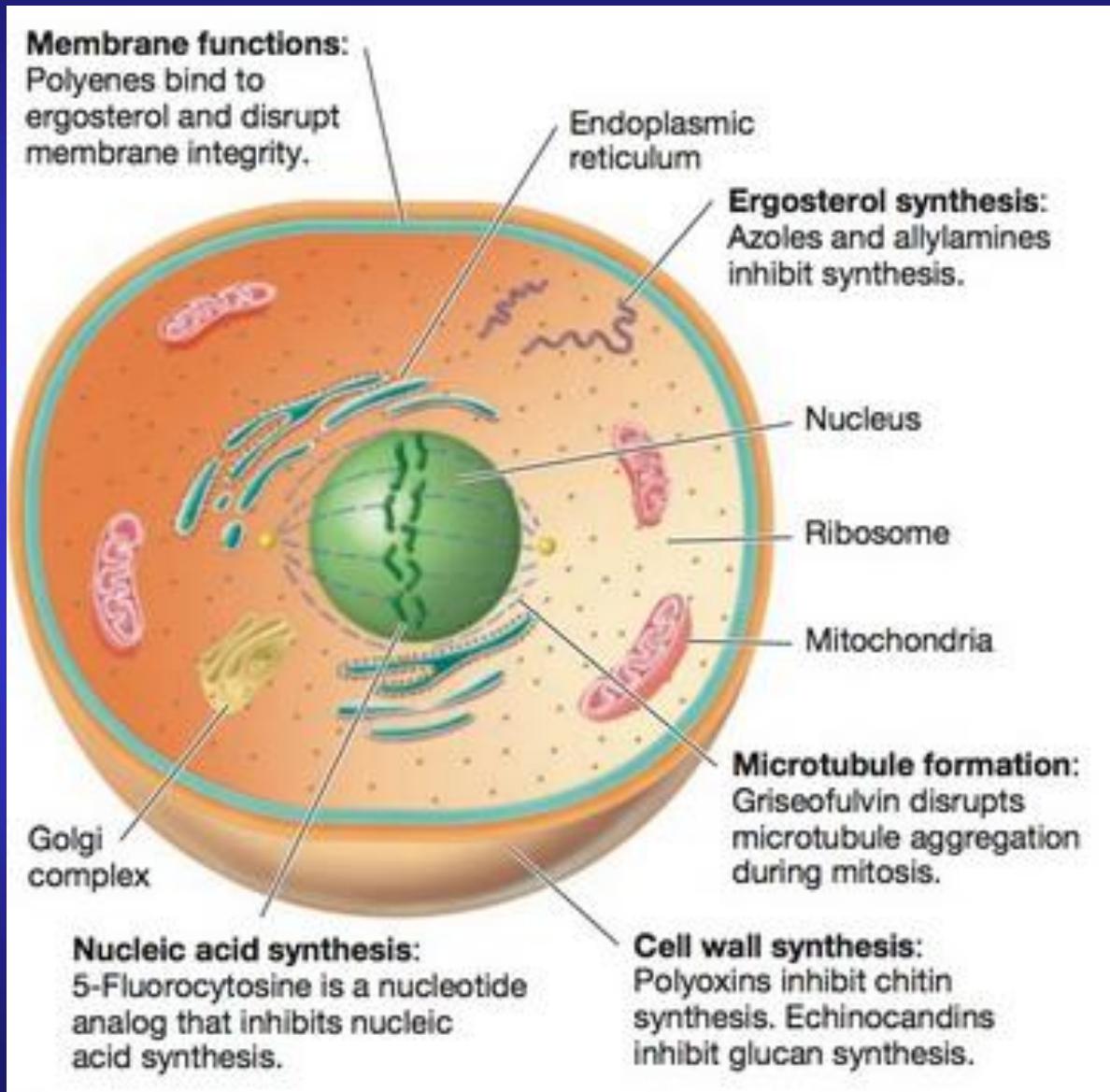
In relazione alla tossicità selettiva, il trattamento delle infezioni di origine fungina presentano la difficoltà che il patogeno è un eucariote e, quindi, condivide molti elementi con le cellule vegetali e di mammifero....

Si è cercato quindi di “colpire” i funghi in ciò che li rende differenti dalle altre cellule eucariotiche superiori:

La presenza di ergosterolo nella loro membrana

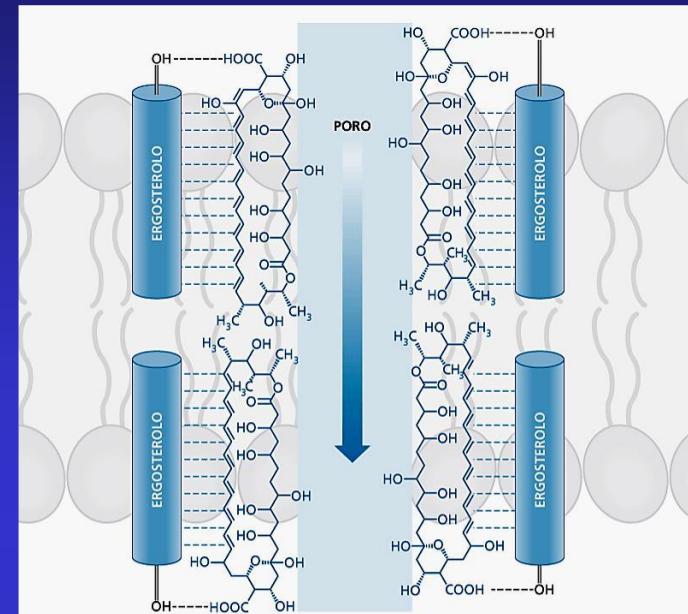
La presenza di una parete cellulare contenente Chitina

Antimicotici



Le molecole che hanno come bersaglio l'ergosterolo o la sua biosintesi agiscono in modo differente:

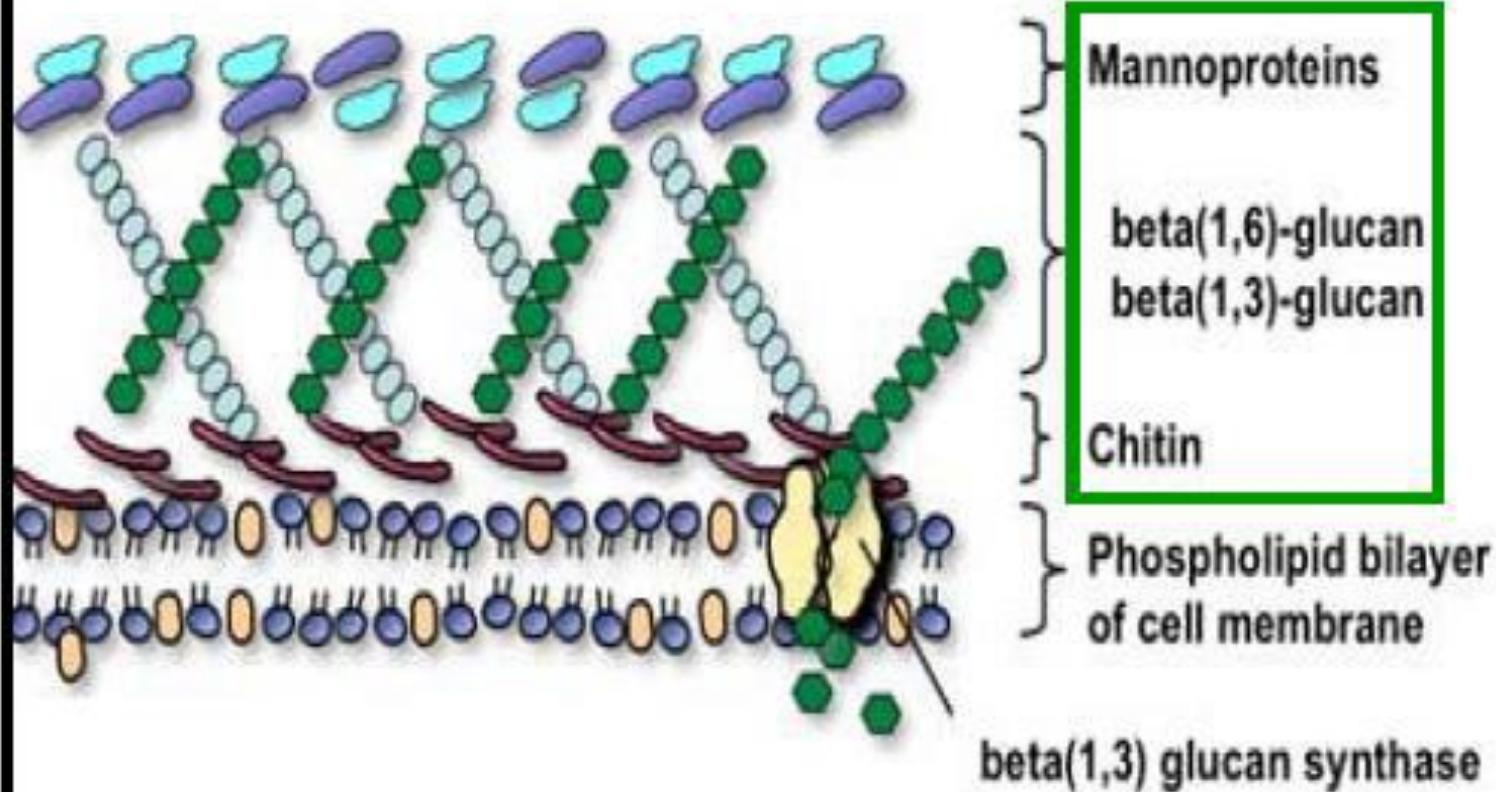
I polieni come l'Anfotericina B o la Nistatina legano l'ergosterolo destabilizzando la struttura della membrana plasmatica dei funghi....



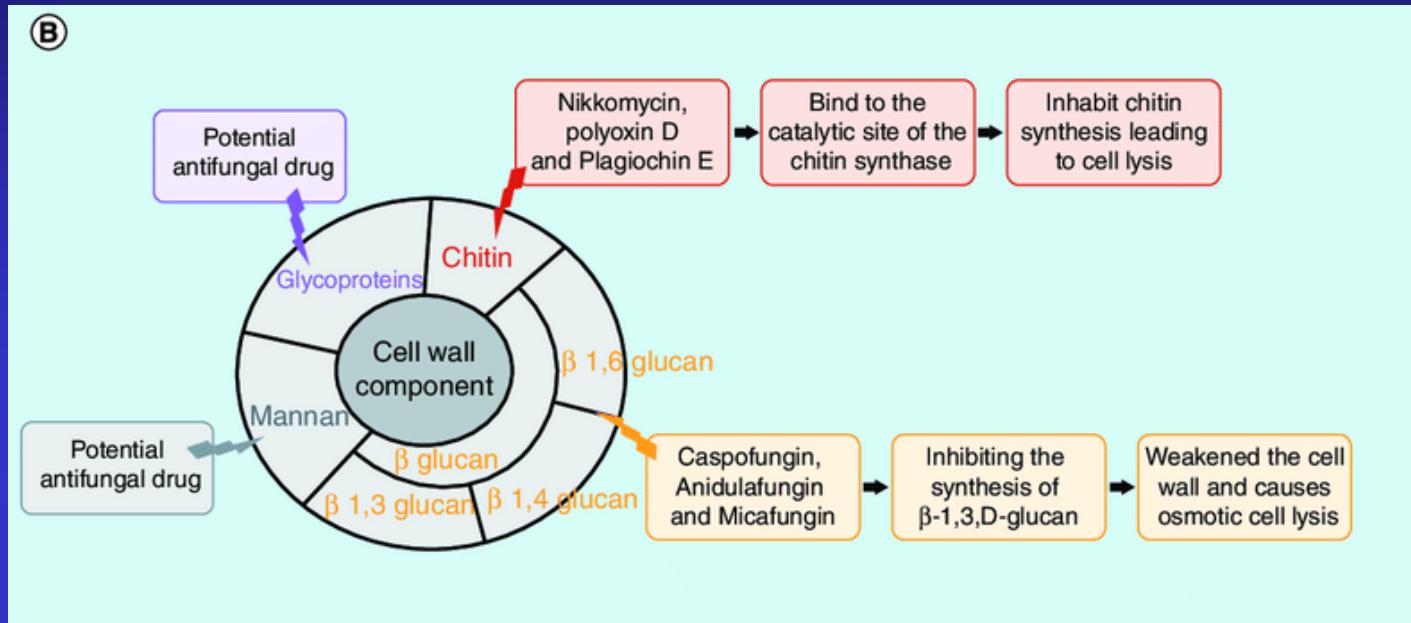
Gli azoli e le allilamine inibiscono specificatamente gli enzimi per la sintesi dell'ergosterolo. Il risultato è che la membrana non è stabile e le cellule vanno incontro a morte.

Gli azoli e le allilamine sono antifungini ad ampio spettro !!!

Struttura della parete fungina



Le molecole che hanno come bersaglio la parete fungina:



Le polioxine, la Nikkomicina e la plagiochina E
inibiscono la biosintesi della chitina ...

La capsofungina, Anidulafungina e la Micafungina
inibiscono la sintesi del β 1-3 D glucano

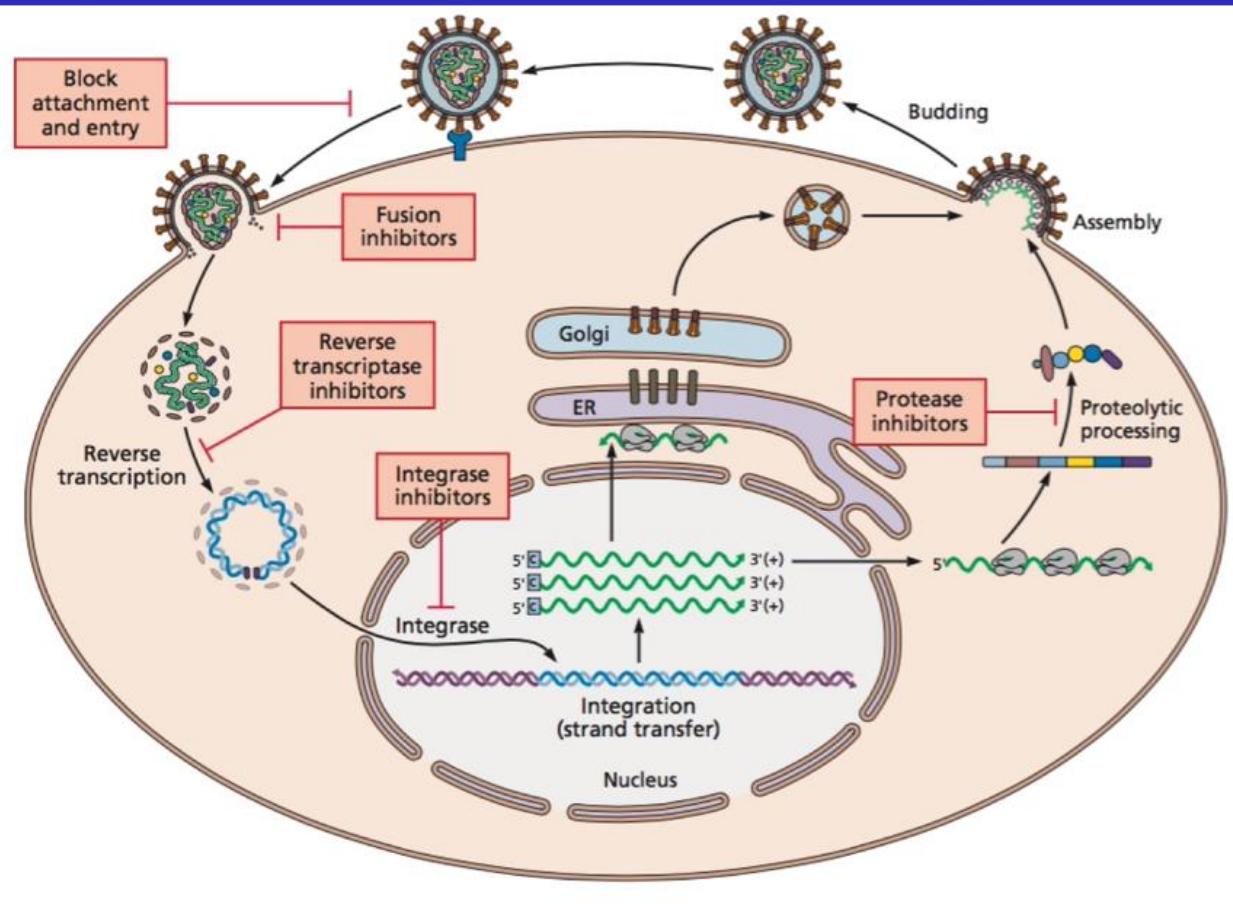
Altre molecole sono state utilizzate con profitto nel trattamento delle infezioni fungine come la *griseofulvina* (inibitore della formazione dei microtubuli), la *5-fluorocitosina* (analogo di base).

La ricerca di nuove molecole con attività antifungina si è spesso scontrata con l'elevata tossicità di queste. In alcuni casi questa tossicità ha rappresentato un'opportunità.

Infatti, alcune delle molecole testate sono state adottate come antitumorali proprio in virtù della loro tossicità. Tra queste la *vincrastina*, la *vinblastina* e il *taxolo* !!

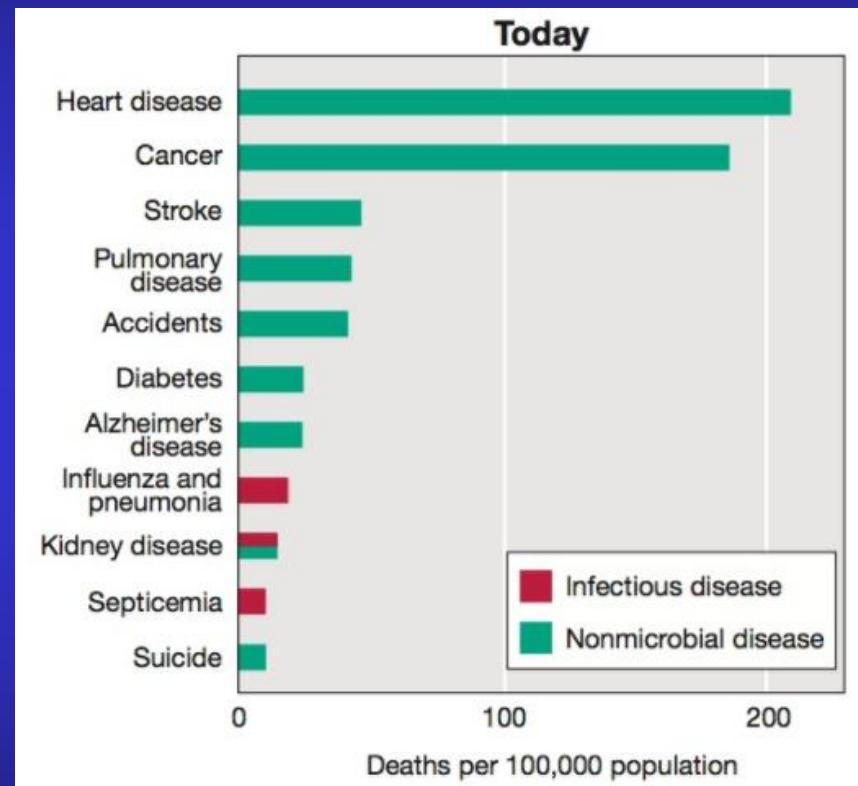
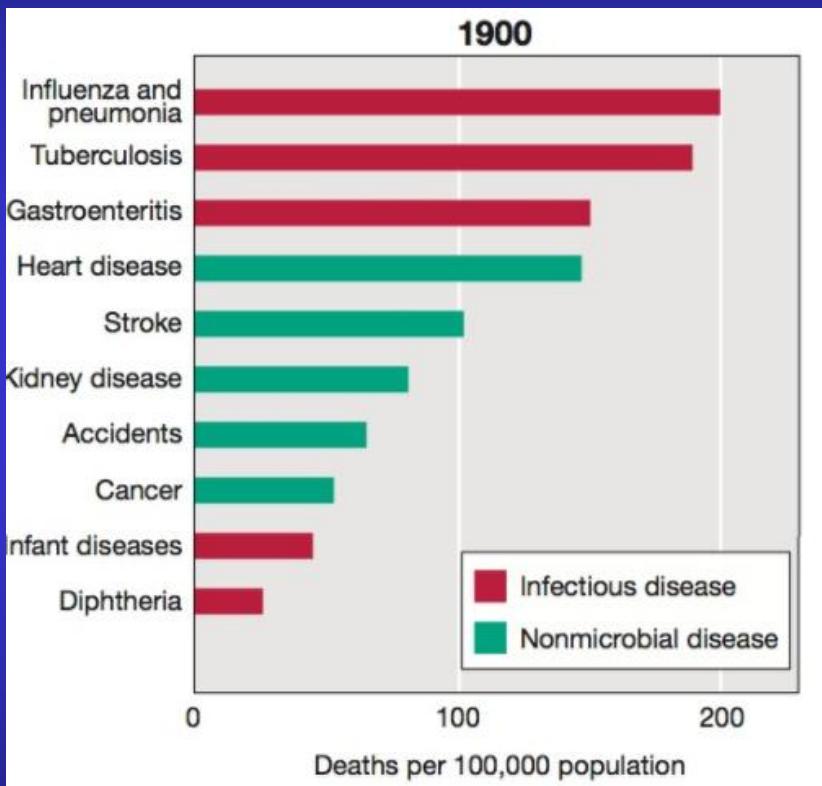
Antivirali

Esempi di target molecolari delle molecole antivirali: adsorbimento (legame dei recettori cellulari), rilascio del DNA, assemblaggio e replicazione (protein specifiche)



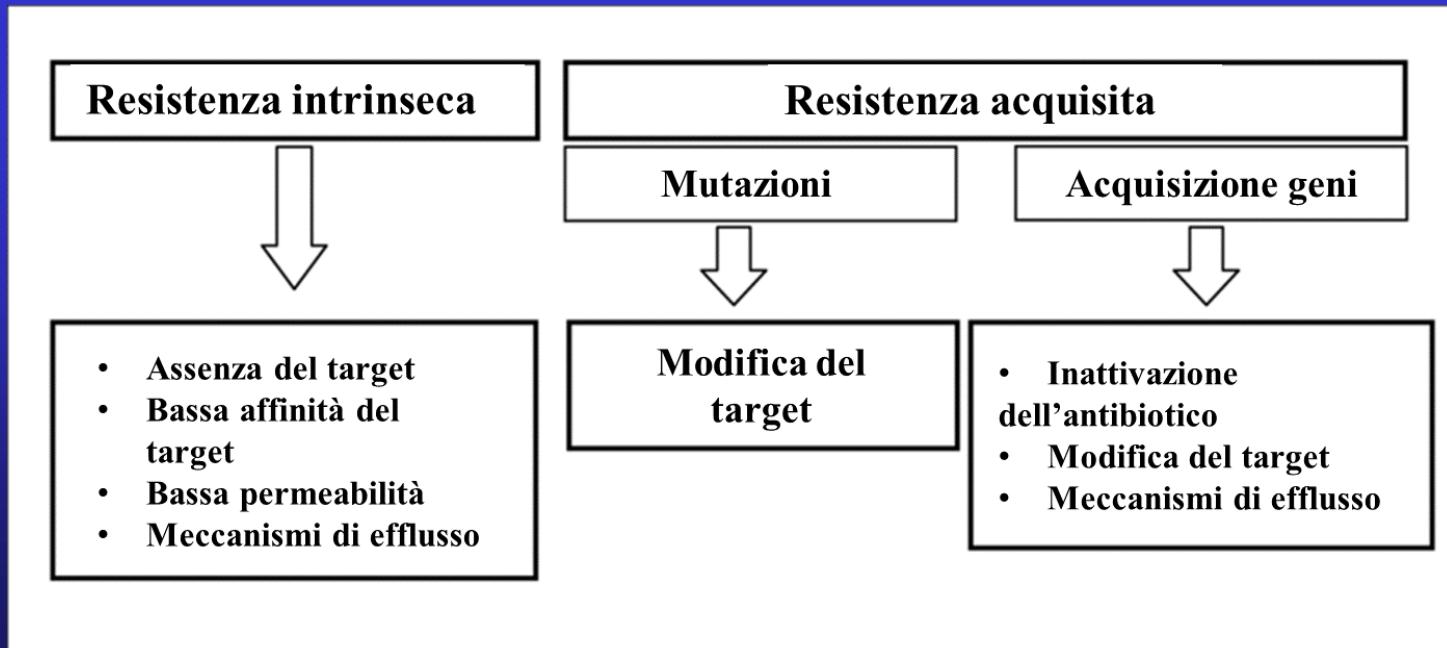
Virus	Drug of Choice
Influenza-A	Amantadine, Rimantadine
Influenza A and B	Zanamivir, Oseltamivir
Herpes simplex (keratitis)	Trifluridine (topical)
Herpes simplex (encephalitis)	Acyclovir
CMV	Ganciclovir, Valganciclovir
Herpes simplex (genital)	Acyclovir, Valacyclovir
Herpes simplex (Acyclovir-resistant)	Foscarnet
Respiratory Syncytial Virus (RSV)	Ribavirin
Varicella-Zoster	Acyclovir, Valacyclovir
Hepatitis-B (chronic)	IgG, Lamivudine, Interferon α
Hepatitis A,B and C. (HIV-coinfection)	INF α /PEG-INF α + ribavirin (ARV+Lamivudine/Adefovir)

Effetti dell'uso degli antibiotici in campo clinico



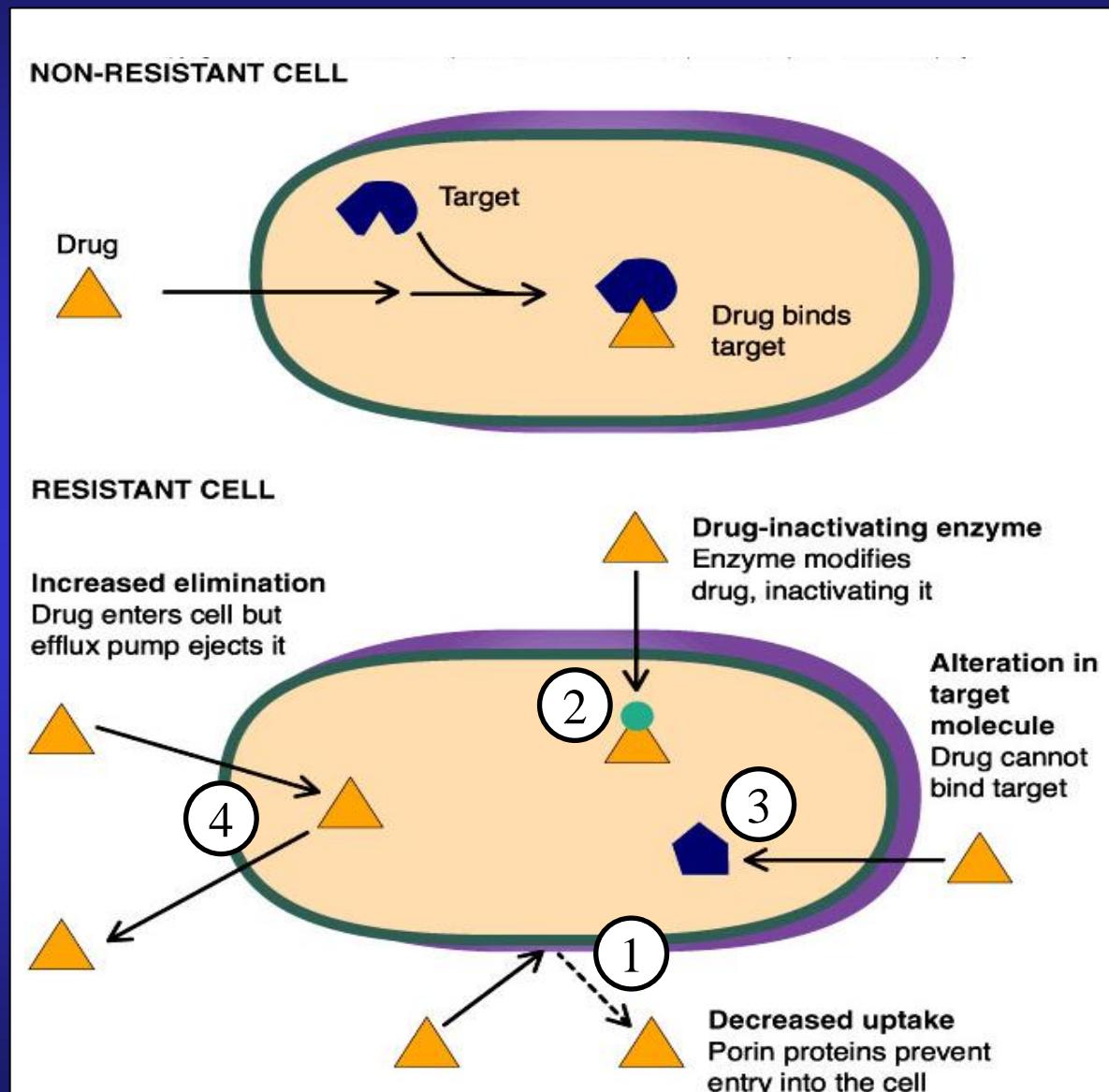
Resistenza agli antibiotici

- **Resistenza intrinseca** (commune a tutti i ceppi di una specie): assenza o insensibilità di un target all'antibiotico, impermeabilità alla molecola antibiotica
- **Resistenza acquisita** (ceppo specifica): insorgenza di mutazioni che conferiscono resistenza o acquisizione di uno specifico gene per la resistenza (HGT)

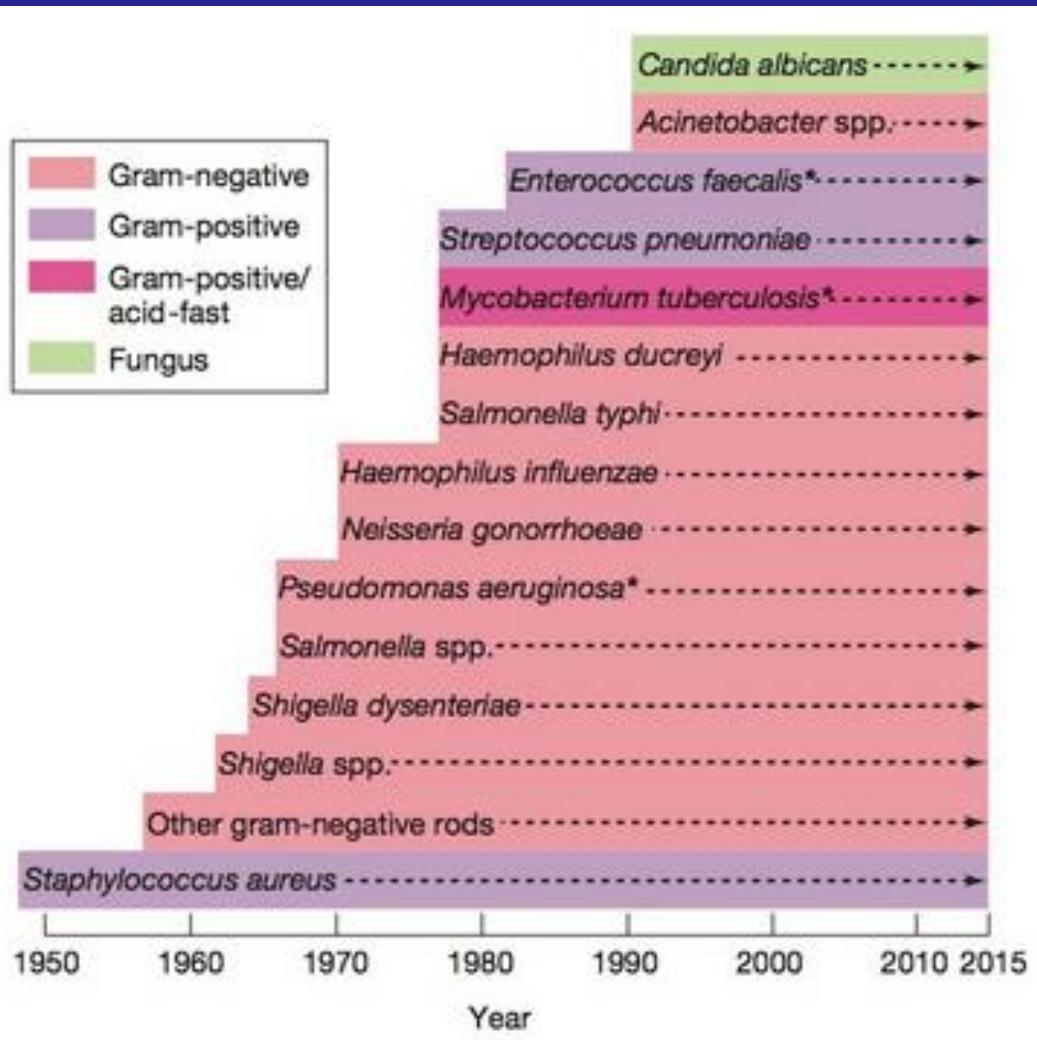


Meccanismi di antibiotico resistenza

1. Ridotta permeabilità
2. Inattivazione dell'antibiotico
3. Modifica del target molecolare
4. Estrusione dell'antibiotico
5. Sviluppo di vie metaboliche alternative



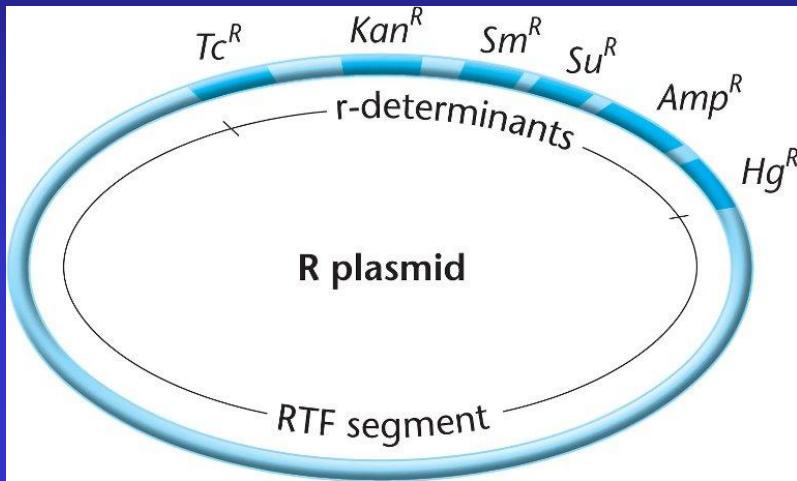
Acquisizione della resistenza agli antibiotici



Spesso la resistenza ad un antibiotico compare subito dopo l'introduzione in campo clinico dell'antibiotico.

Ad oggi, sono stati isolati molti ceppi batterici con la capacità di resistere al trattamento di quasi tutti gli antibiotici (ceppi multi resistenti –MDR; o panresistenti)

I batteri MDR (Multi Drug Resistant) possono ospitare plasmidi di multi-resistenza



Il primo ad essere stato isolato e caratterizzato è il plasmide R

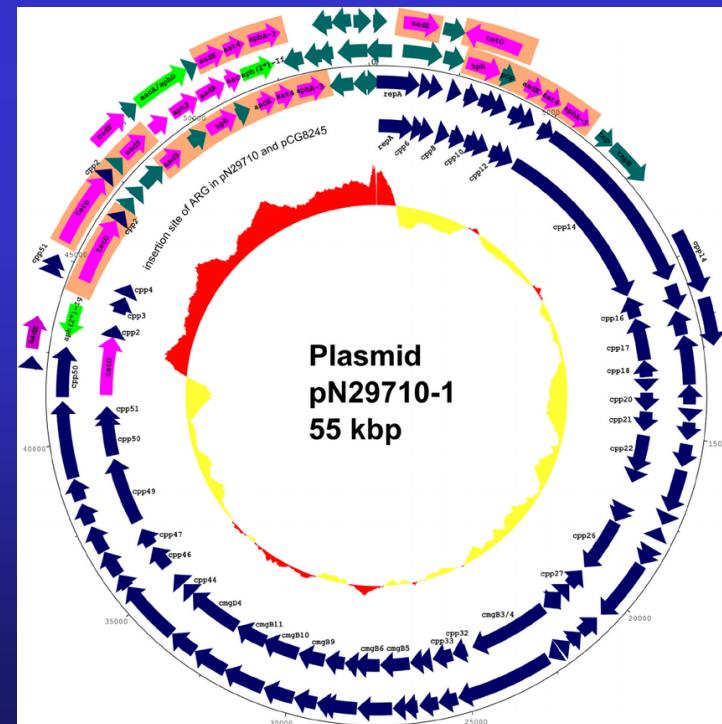


Table 27.8 Bacterial resistance to antibiotics

Resistance mechanism	Antibiotic example	Genetic basis of resistance	Mechanism present in:
Reduced permeability	Penicillins	Chromosomal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enteric bacteria
Inactivation of antibiotic Examples: β -lactamases; modifying enzymes such as methylases, acetylases, phosphorylases, and others	Penicillins	Plasmid and chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric Bacteria
	Chloramphenicol	Plasmid and chromosomal	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
	Aminoglycosides	Plasmid	Enteric bacteria
Alteration of target Examples: RNA polymerase, rifamycin; ribosome, erythromycin, and streptomycin; DNA gyrase, quinolones	Erythromycin	Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Rifamycin		Enteric bacteria
	Streptomycin		Enteric bacteria
	Norfloxacin		Enteric bacteria
			<i>Staphylococcus aureus</i>
Development of resistant biochemical pathway	Sulfonamides	Chromosomal	Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Efflux (pumping out of cell)	Tetracyclines	Plasmid	Enteric bacteria
	Chloramphenicol	Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i>
	Erythromycin	Chromosomal	<i>Staphylococcus</i>

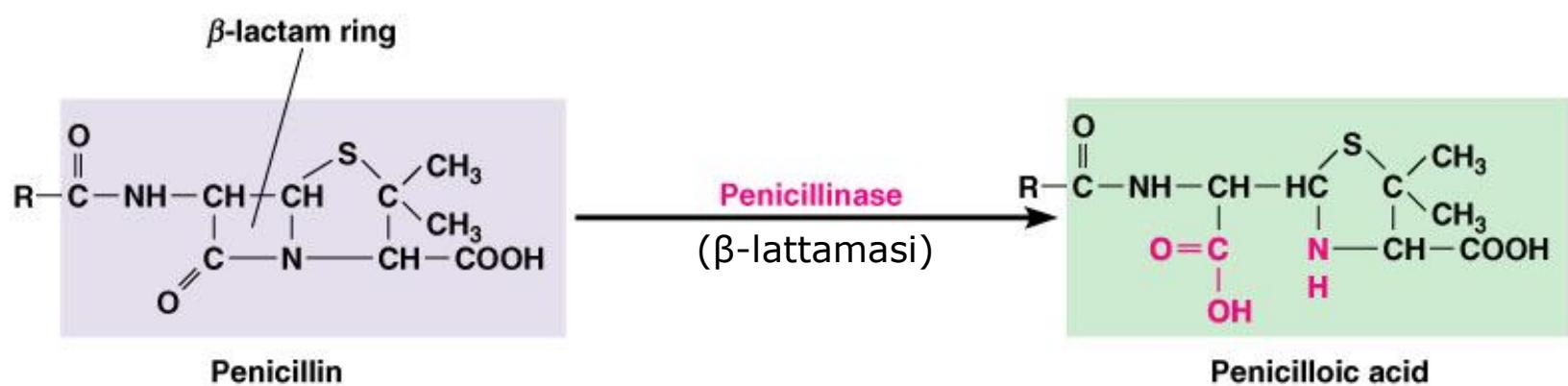
Ridotta espressione o Perdita di funzione di specifici sistemi di trasporto (porine)

Modifica di specifici componenti della parete cellulare o dell'LPS

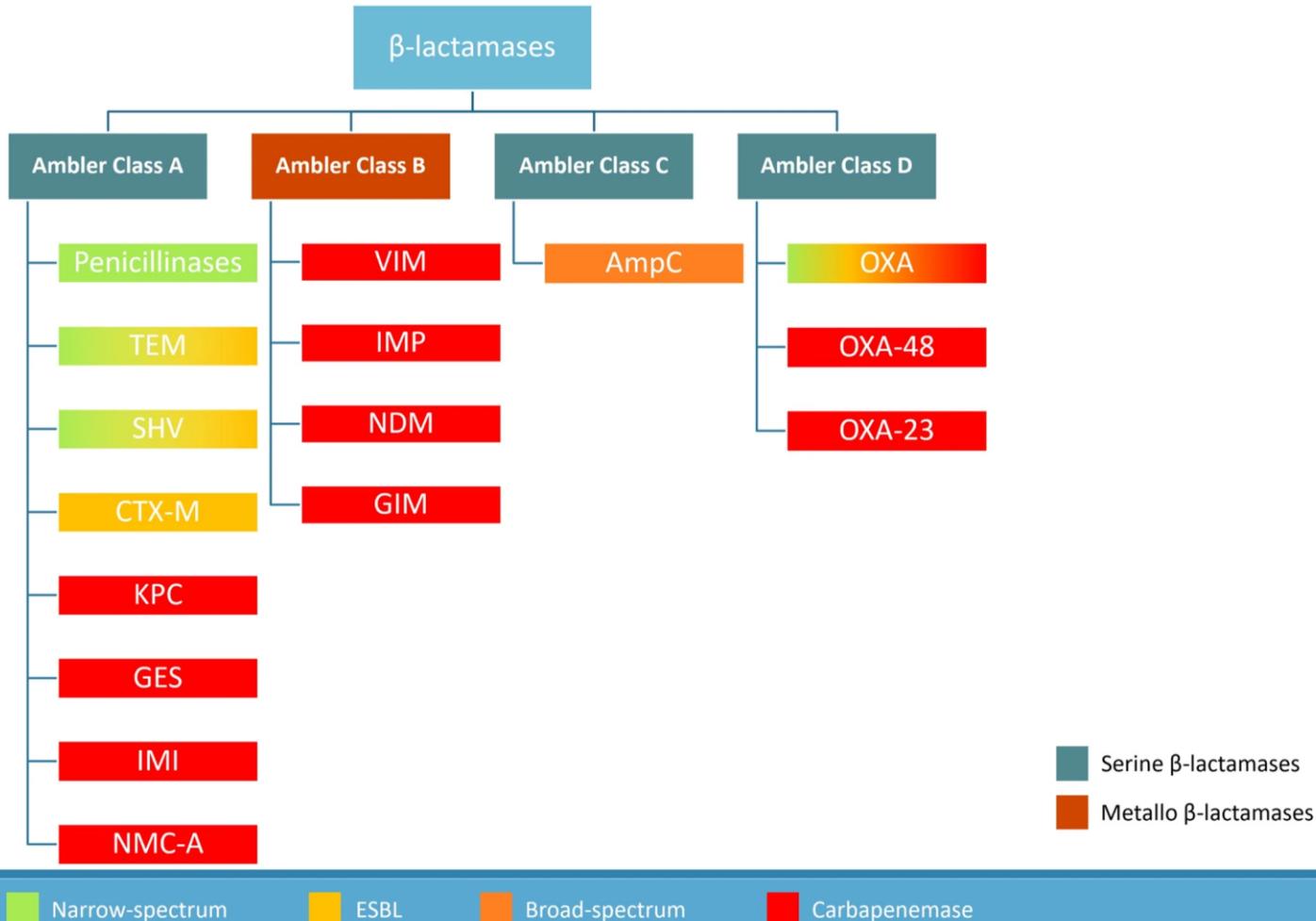
Mutazione del sito di legame dell'antibiotico sul target che lo rende insensibile all'azione dell'antibiotico (spesso queste mutazioni riducono a fitness del batterio)

Table 27.8 Bacterial resistance to antibiotics

Resistance mechanism	Antibiotic example	Genetic basis of resistance	Mechanism present in:
Reduced permeability	Penicillins	Chromosomal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enteric bacteria
Inactivation of antibiotic Examples: β -lactamases; modifying enzymes such as methylases, acetylases, phosphorylases, and others	Penicillins Chloramphenicol Aminoglycosides	Plasmid and chromosomal Plasmid and chromosomal Plasmid	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric Bacteria <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria
Alteration of target Examples: RNA polymerase, rifamycin; ribosome, erythromycin, and streptomycin; DNA gyrase, quinolones)	Erythromycin Rifamycin Streptomycin Norfloxacin	Chromosomal Chromosomal Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria Enteric bacteria Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Development of resistant biochemical pathway	Sulfonamides	Chromosomal	Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Efflux (pumping out of cell)	Tetracyclines Chloramphenicol Erythromycin	Plasmid Chromosomal Chromosomal	Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus</i>



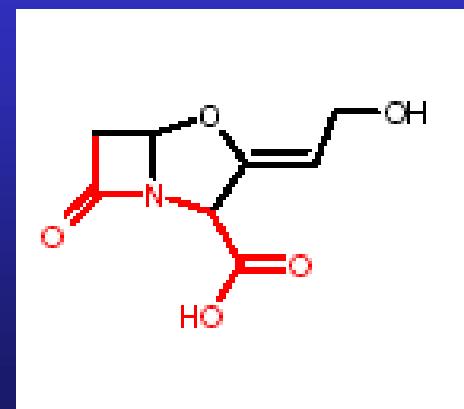
Varietà delle β -lattamasi



I meccanismi di resistenza agli antibiotici β -lattamici sono di almeno due tipi:

- Mutazione del sito attivo della PBP
- Sintesi da parte del batterio di una β -lattamasi

Per contrastare il secondo caso (più frequente) si possono utilizzare delle molecole in grado di inibire l'attività delle β -lattamasi, come è in grado di fare l'acido clavulanico



Oltre all'acido clavulanico

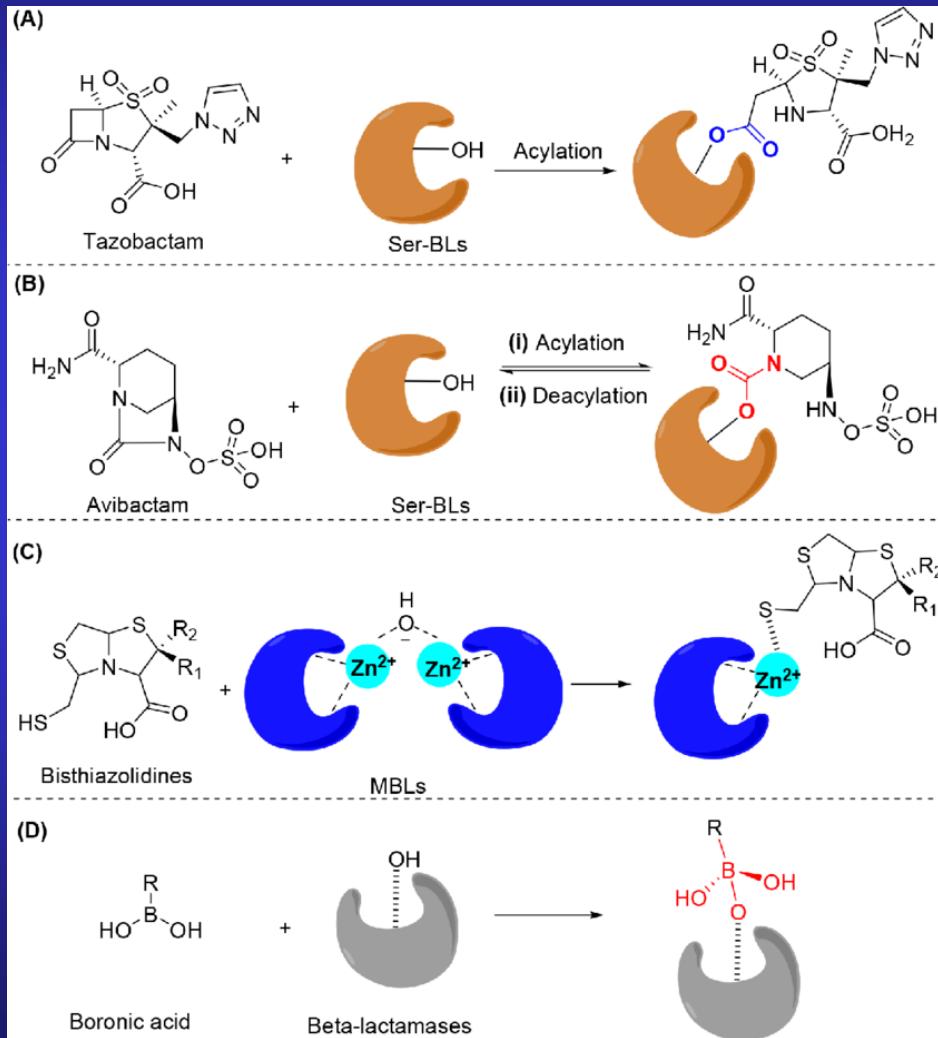


Table 27.8 Bacterial resistance to antibiotics

Resistance mechanism	Antibiotic example	Genetic basis of resistance	Mechanism present in:
Reduced permeability	Penicillins	Chromosomal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enteric bacteria
Inactivation of antibiotic Examples: β -lactamases; modifying enzymes such as methylases, acetylases, phosphorylases, and others	Penicillins Chloramphenicol Aminoglycosides	Plasmid and chromosomal Plasmid and chromosomal Plasmid	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric Bacteria <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria
Alteration of target Examples: RNA polymerase, rifamycin; ribosome, erythromycin, and streptomycin; DNA gyrase, quinolones)	Erythromycin Rifamycin Streptomycin Norfloxacin	Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria Enteric bacteria Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Development of resistant biochemical pathway	Sulfonamides	Chromosomal	Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Efflux (pumping out of cell)	Tetracyclines Chloramphenicol Erythromycin	Plasmid	Enteric bacteria

Un esempio è dato dalla resistenza alla Vancomicina determinata dall'acquisizione di geni (HGT) codificanti enzimi responsabili della sintesi di dimeri alternativi (D-Ala-D-Lac or D-Ala-D-Ser) che sostituiscono quello di D-Ala-D-Ala nel peptidoglicano

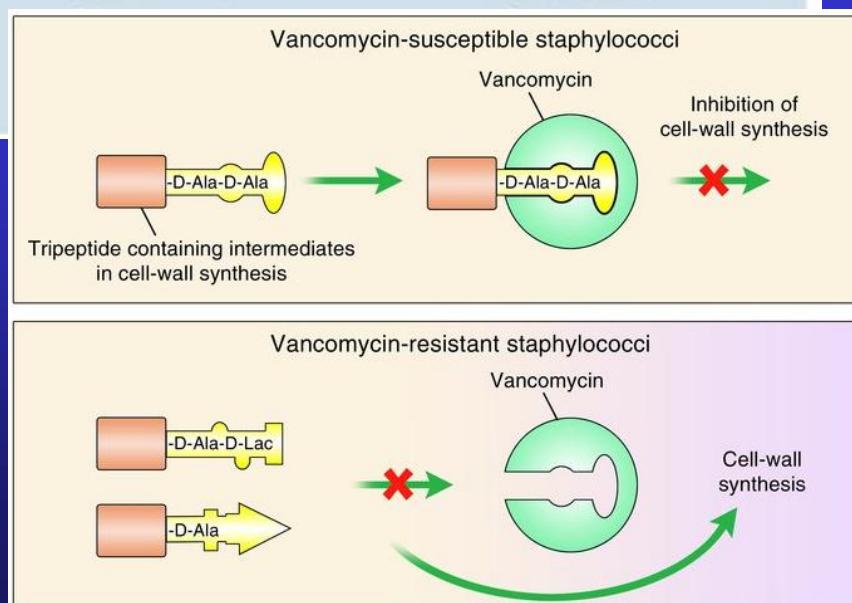
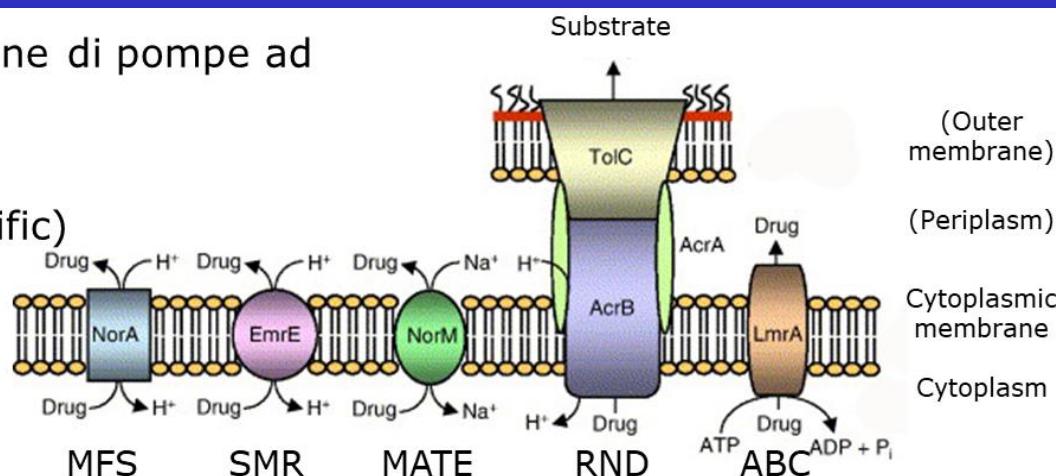


Table 27.8 Bacterial resistance to antibiotics

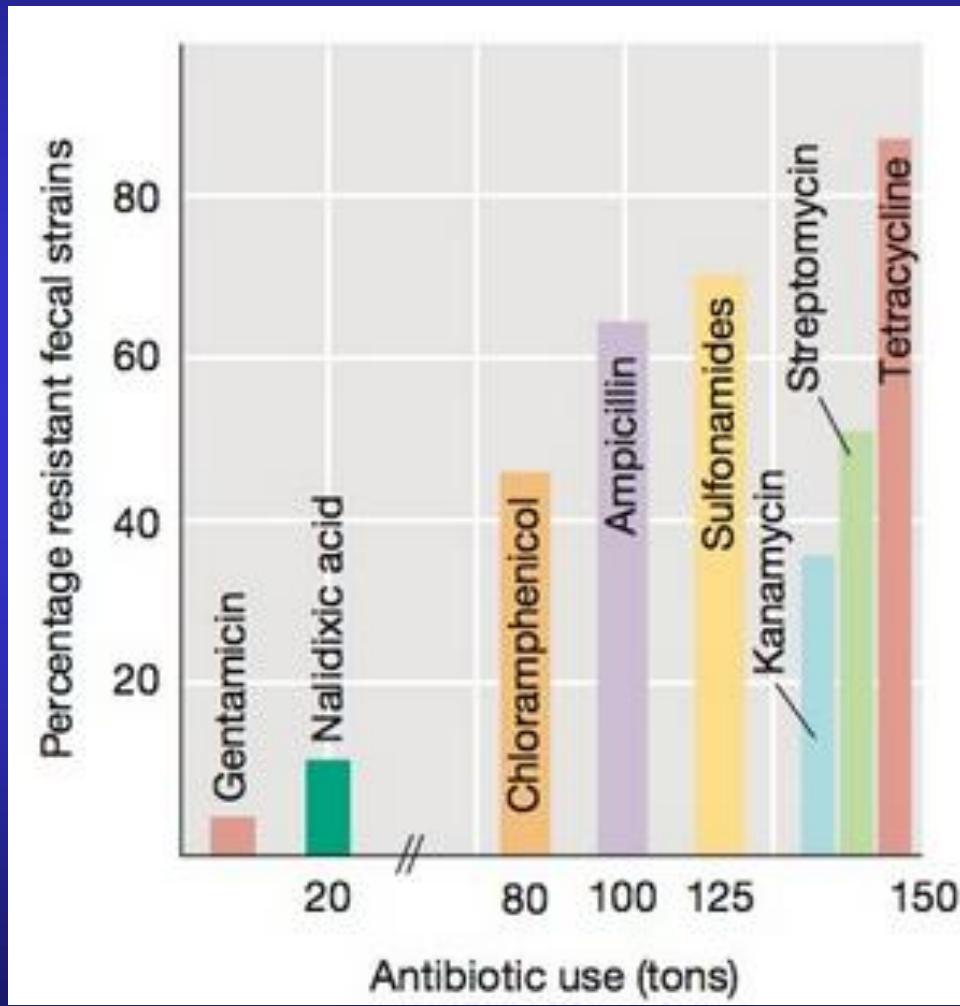
Resistance mechanism	Antibiotic example	Genetic basis of resistance	Mechanism present in:
Reduced permeability	Penicillins	Chromosomal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enteric bacteria
Inactivation of antibiotic Examples: β -lactamases; modifying enzymes such as methylases, acetylases, phosphorylases, and others	Penicillins Chloramphenicol Aminoglycosides	Plasmid and chromosomal Plasmid and chromosomal Plasmid	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric Bacteria <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria
Alteration of target Examples: RNA polymerase, rifamycin; ribosome, erythromycin, and streptomycin; DNA gyrase, quinolones)	Erythromycin Rifamycin Streptomycin Norfloxacin	Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric bacteria Enteric bacteria Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Development of resistant biochemical pathway	Sulfonamides	Chromosomal	Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Efflux (pumping out of cell)	Tetracyclines Chloramphenicol Erythromycin	Plasmid Chromosomal Chromosomal	Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus</i>

Acquisizione e sovraespressione di pompe ad efflusso

1. specifiche
2. Ad ampio spettro (polyspecific)

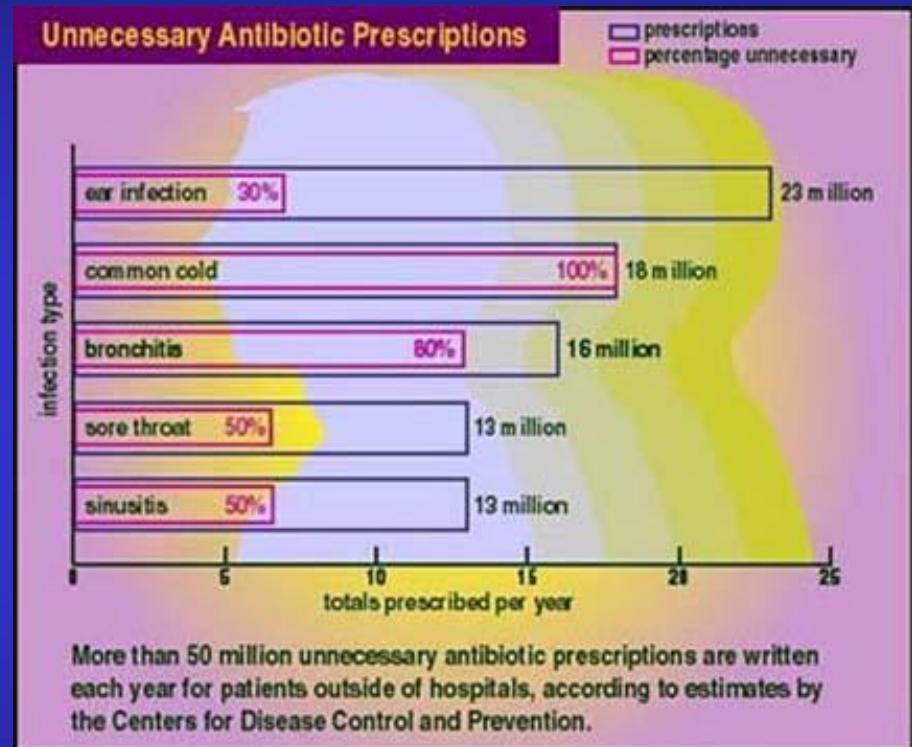


Correlazione tra uso degli antibiotici e diffusione delle antibiotico resistenze



Fattori che promuovono le antibiotico resistenze

- Prescrizioni non corrette
- Uso di antibiotici nel trattamento di infezioni virali
- Uso degli antibiotici in allevamento
- Diffusione degli antibiotici resistenti in ambiente nocosomiale
- Uso di antibiotici a largo spettro



Soluzioni alternative:

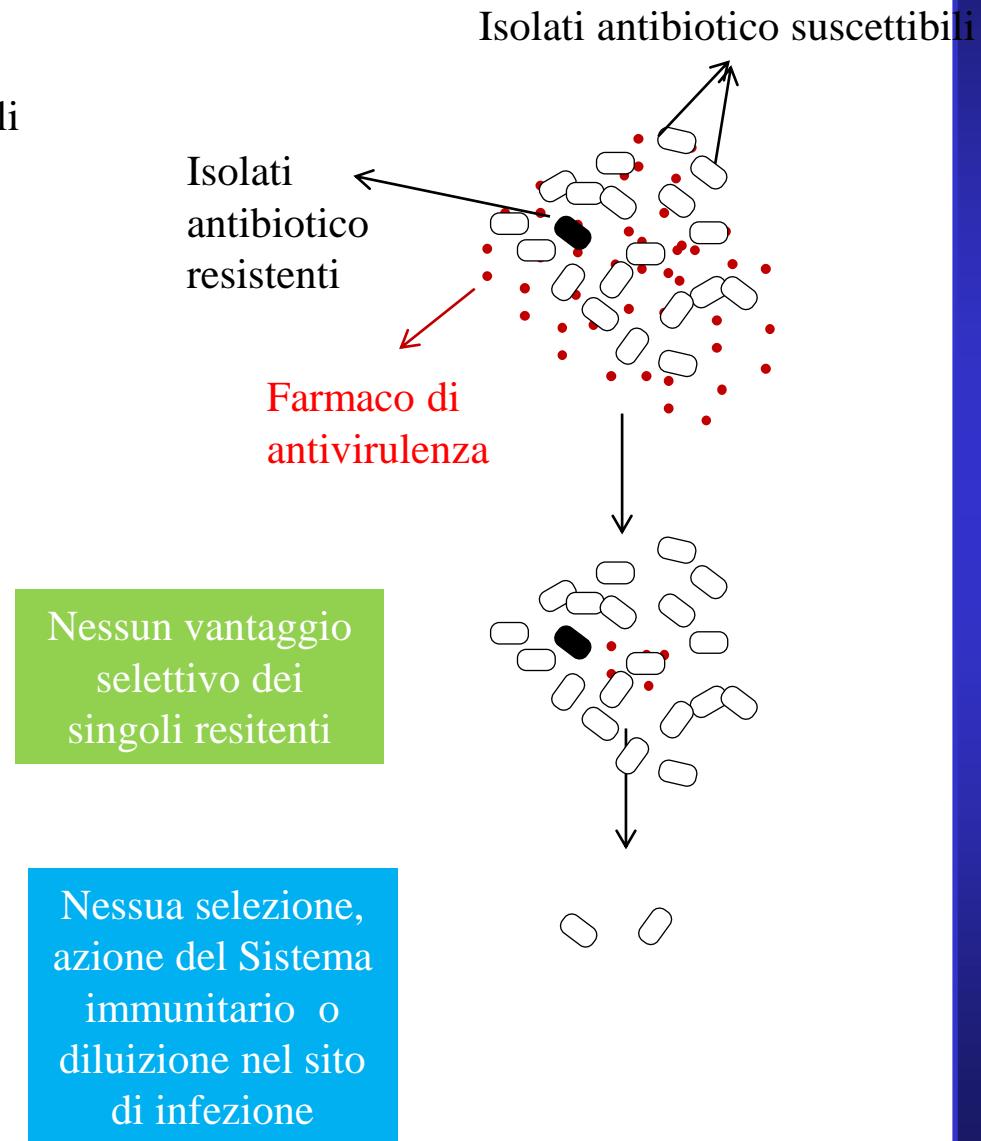
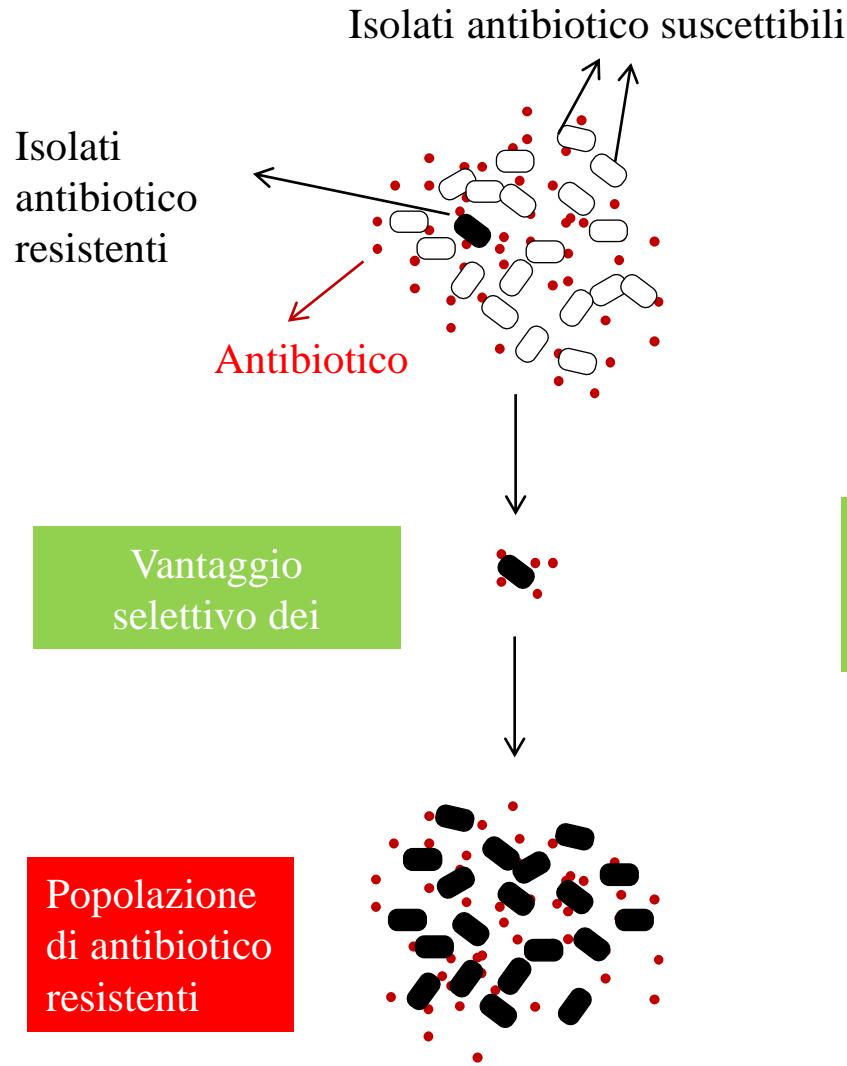
- Farmaci di antivirulenza:

Molecole in grado di inibire i fattori di virulenza senza influenzare la sopravvivenza del batterio patogeno;

- Terapia fagica:

Uso dei batteriofagi per ridurre o annientare la popolazione batterica (nel sito di infezione)

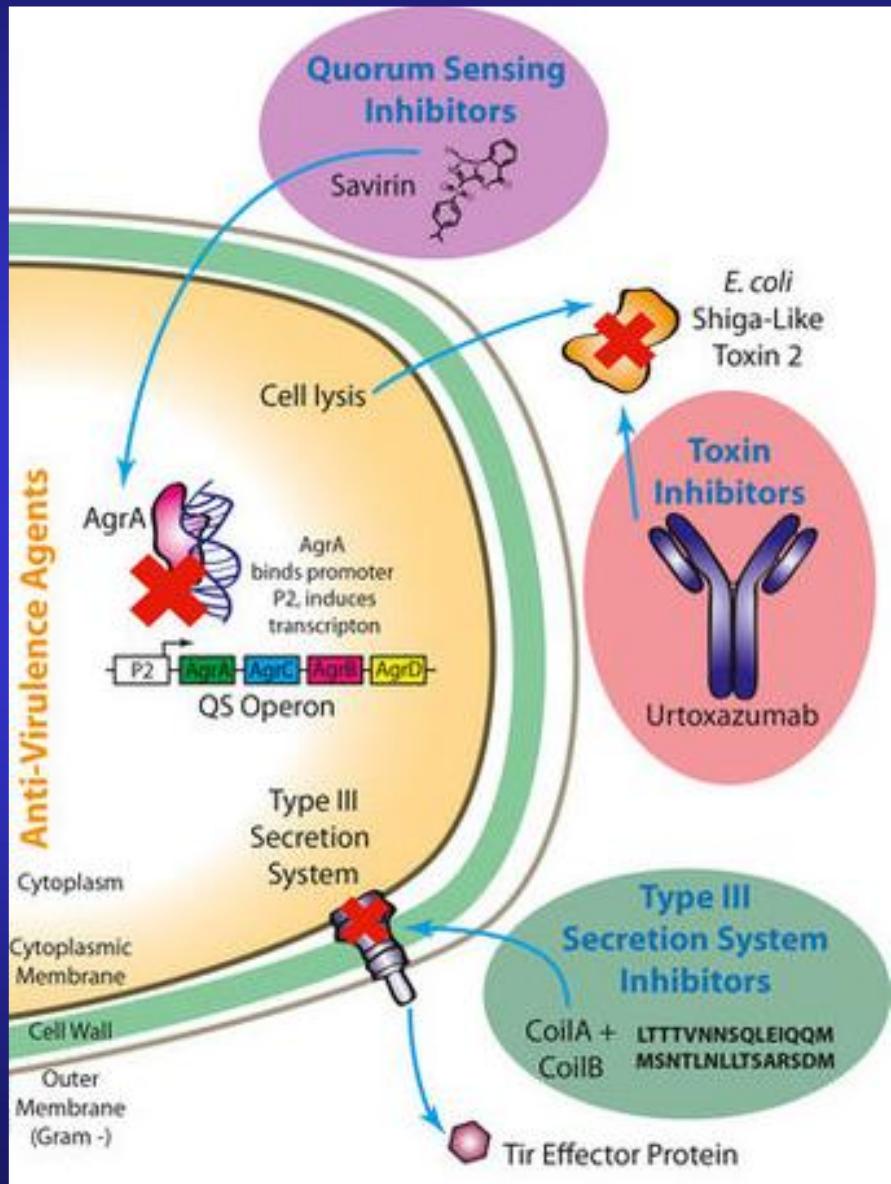
Differenze nell'uso degli antibiotici e farmaci di antivirulenza



Farmaci di antivirulenza

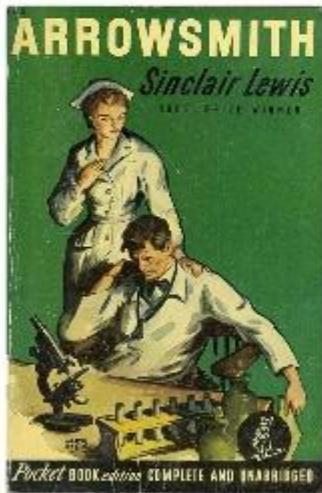
Uso dei farmaci di antivirulenza:

- Non influenzano la vitalità dei batteri simbionti (microbiota)
- Non influenzano la sopravvivenza dei batteri patogeni, di conseguenza non esercitano pressione selettiva



Terapia Fagica nasce con la scoperta dei Fagi

Felix d'Herelle scoprì nel 1917 un «microbo»
antagonista del bacillo della dissenteria



D'Herelle 1873-1949



Wollman 1883-1943

- I batteriofagi sono stati utilizzati per la prima volta come agente terapeutico da d'Herelle nel 1919 a Parigi per il trattamento di quattro ragazzini che manifestavano una dissenteria bacillare.
- Il primo caso documentato risale però al 1921, quando Bruynoghe e Maisin pubblicarono il loro lavoro sul trattamento di infezioni cutanee da *Stafilococci* in sei pazienti.
- I fagi venivano somministrati oralmente (compresse o liquido), per via rettale, per aerosol e addirittura per iniezione.
- Prima dell'avvento degli antibiotici (tra il 1930 e il 1940) molte case farmaceutiche avevano in produzione preparati di fagi per uso terapeutico. Tra queste quelle che in seguito sarebbero state la Squibb, la Myers –Abbott.

Nel 1923, Giorgi Eliava fondò il primo istituto di ricerca dedicato alla terapia con i fagi a Tbilisi, in Georgia

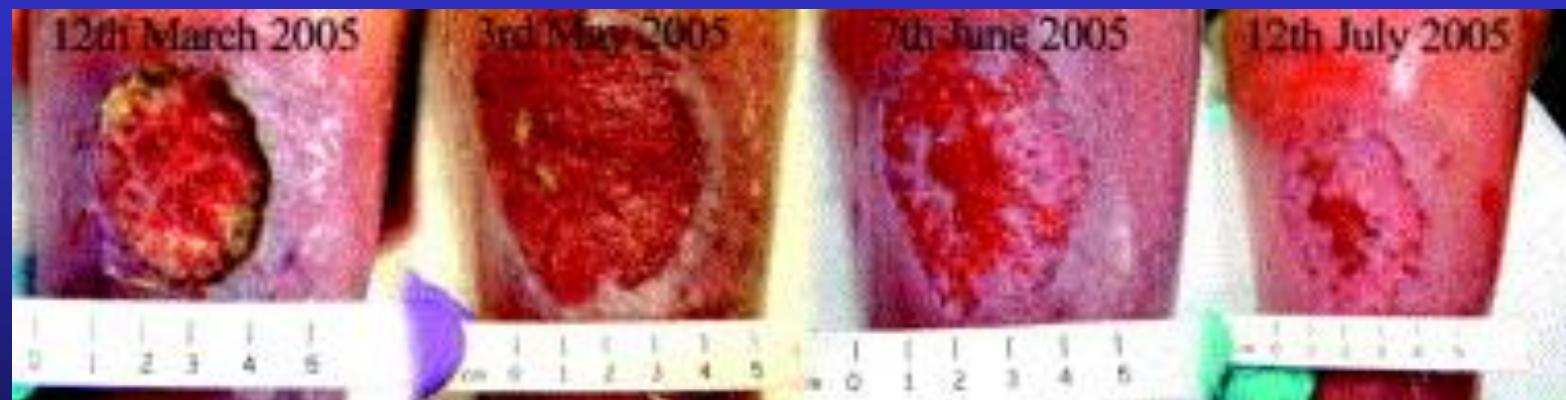


Eliava 1892-1937



Lavrentiy
Beria 1899-1953

Esempi di trattamento con medicinali a base di fagi



I fagi possono essere impiegati anche nella sicurezza alimentare



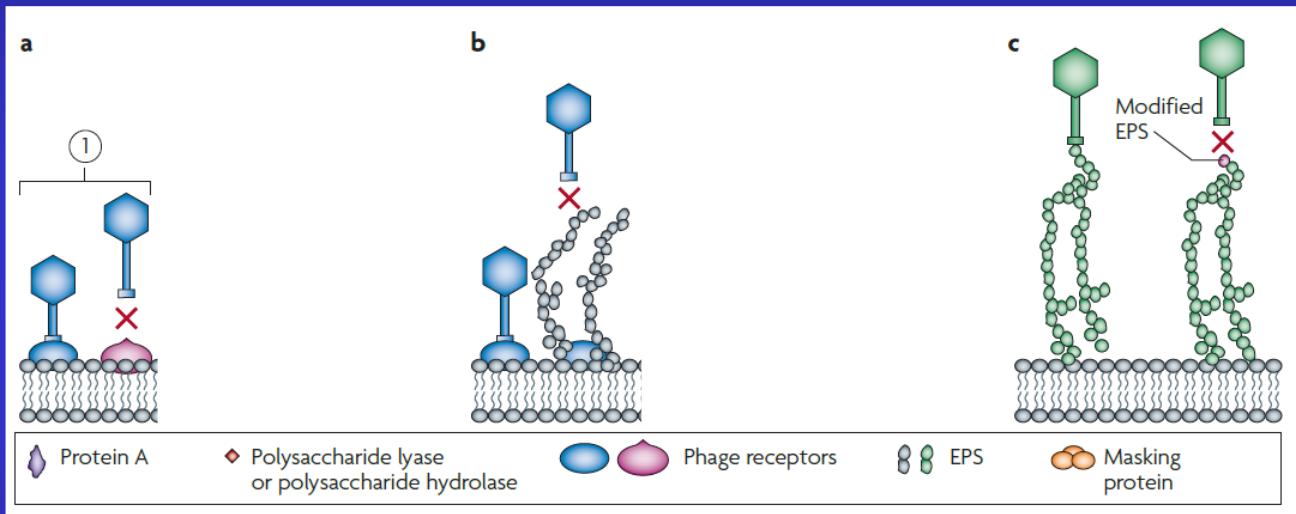
Anche per i Fagi, però, esistono dei limiti:

- Inapplicabilità per batteri patogeni intracellulari
- Lo spettro d'ospite è un limite nel trattamento generalizzato
- Si selezionano ceppi BIM (Bacteriophage Insensitive Mutant)

Una possibile soluzione parziale agli ultimi due punto è l'utilizzo di Cocktail di Fagi opportunamente formulati

Resistenza ai batteriofagi (BIM)

Inibizione della fase di adsorbimento



- Modifica del recettore
- Mascheramento del recettore

Ostruzione da EPS

Modifica dell'EPS
(quando l'EPS funge
da recettore)

Approcci alternativi e complementari....

