

Farmaci antibatterici:

classificazione, meccanismo di azione, meccanismi di resistenza

Farmaci antibatterici
Cosa è necessario conoscere

Cosa è ?

- struttura chimica, naturale o prodotto sintetico

Come agisce ?

- siti di legame e meccanismi di azione

Come può essere inattivato dai microrganismi ?

- meccanismi di resistenza batterica
- impatto clinico della antibiotico-resistenza

Quando deve essere utilizzato ?

- spettro di attività antimicrobica
- indicazioni all'uso clinico

Qual è il limite al suo impiego ?

- effetti collaterali per l'ospite
- insorgenza e livello di resistenza batterica

Chemioterapia
Cenni storici

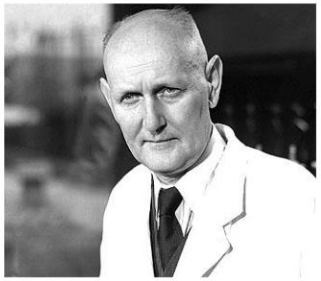
Chemioterapia "empirica"

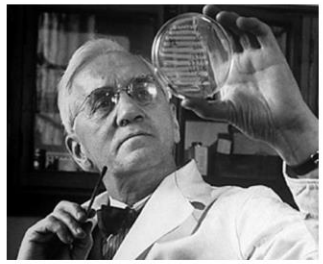
- Corteccia di cinchona vs malaria (indiani peruviani)
- Muffe vs ferite
- Mercurio vs sifilide (XVI secolo)

Chemioterapia "moderna" (scientifica)

- Paul Ehrlich (1854-1915)
  - Concetto di "tossicità selettiva"
  - Arsfenamina (Salvarsan) vs sifilide (solo *in vivo*)
- Domagk (1935)
  - Colorante rosso (Prontosil) vs infezioni batteriche
- Fleming (1929)
  - *Penicillium notatum* vs stafilococchi (penicillina)







Sir Alexander Fleming (1881-1955)
"L'intuito" del Ricercatore

- La creatività scientifica assume forme diverse. Una di queste è legata alla *serendipity*, ossia alla fortuna giunta inaspettatamente.

- Le grandi scoperte possono derivare dall'intuito, ossia dalla capacità di essere "preparati" a cogliere il significato eccezionale di un evento apparentemente insignificante.

- Il successo scientifico di Alexander Fleming risiede nella sua apertura, nel suo forte intuito tecnico, e nella sua propensione per l'osservazione naturalistica.

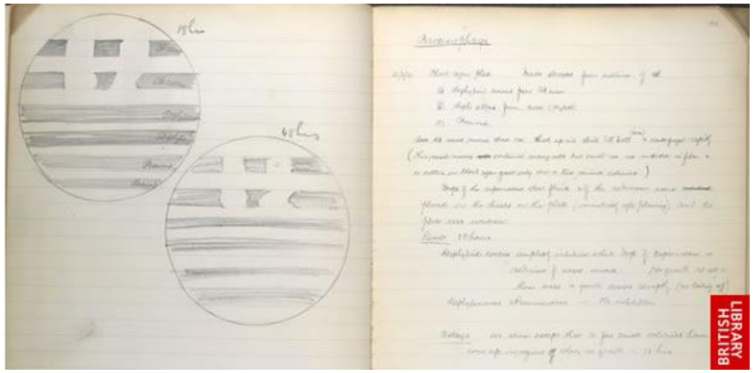


"Mi sono trovato in una situazione in cui ho potuto lasciare il mio precedente lavoro per seguire la strada che il destino mi aveva indicato" (A. Fleming)

1921: la scoperta del lisozima …
… il preludio alla …

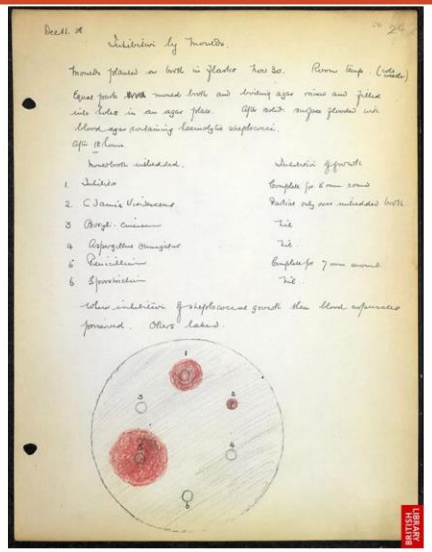
- Nell'autunno del 1921 Fleming, affetto da un forte raffreddore e mosso da curiosità, seminò un campione delle proprie secrezioni nasali su di un terreno agarizzato. Dopo alcune settimane egli notò la presenza di **segni di inibizione microbica in corrispondenza del muco seminato**.

- Fleming aveva scoperto, di fatto, il lisozima, enzima presente in molte secrezioni (muco, lacrime, saliva) e dotato di attività antibatterica. Sebbene il lisozima non risultava essere attivo verso i principali batteri patogeni, questa "osservazione" allertò Fleming sul **potenziale degli antibiotici naturali**.

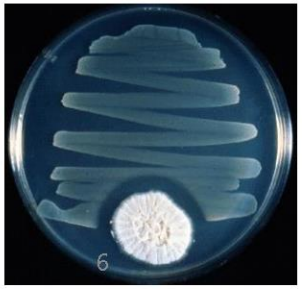


… scoperta della penicillina (1928)

- Nel 1928, osservando alcune piastre che aveva distrattamente dimenticato sul bancone durante le vacanze, Fleming osservò che la crescita batterica veniva inibita in vicinanza di una muffa contaminante (*Penicillum notatum*).
- Fleming ipotizzò che la muffa producesse una sostanza, che chiamò "penicillina", in grado di impedire la crescita dei batteri.
- Verificò sperimentalmente l'efficacia della penicillina nei confronti di numerosi batteri patogeni per l'uomo.
- Soltanto nel 1939 la penicillina venne prodotta in quantità significative ed in una forma stabile da Howard Florey e Ernst Chain.







Nel 1945, Sir Alexander Fleming, Sir Howard Florey e Sir Ernst Chain ricevettero il Premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina





Farmaco antibatterico

Agente antibatterico:

Composto in grado di interferire con la crescita e la moltiplicazione batterica.

Contrariamente al disinfettante, è attivo solo verso batteri metabolicamente attivi (tranne polimixine).

- **Antibiotico**: sostanza a basso peso molecolare prodotta dal metabolismo di un microrganismo: Actinomiceti (*Streptomyces*), Miceti (*Penicillium*, *Cephalosporium*).
  - meccanismo di «autoconservazione»: in presenza di altre specie o di aumentata densità cellulare, molti microrganismi producono sostanze (batteriocine, microbicine) al fine di competere per lo spazio ed il substrato nutrizionale
  - caratteristica di molti microrganismi tellurici
  - dalla modificazione strutturale degli antibiotici derivano gli antibiotici «semi-sintetici», migliorati per caratteristiche antibatteriche e/o farmacologiche
- **Chemioterapico**: prodotto di sintesi (analogo strutturale di un antibiotico).

Farmaci antibatterici
Caratteristiche «ideali» per un antimicrobico

Adeguata attività antimicrobica per prevenire l'insorgenza di varianti «resistenti»:

- attività biocida
- ristretto spettro di azione
- attivo a basse concentrazioni (bassa pressione selettiva)

Adeguate proprietà farmacologiche:

- lunga emivita plasmatica
- raggiunge adeguate concentrazioni tissutali
- basso legame con proteine plasmatiche
- possibilità di formulazione orale e parenterale
- nessuna interazione con altri farmaci
- non deve essere distrutto, neutralizzato od escreto fino a che abbia espletato la propria azione

Stabile, economico, facilmente somministrabile

Farmaci antibatterici
Caratteristiche «ideali» per un antimicrobico

Tossicità selettiva:

- attività rivolta verso il batterio e non verso la cellula ospite, per l'esistenza di diversità strutturali/funzionali esistenti tra patogeno ed ospite:
  - il «sito bersaglio» del farmaco è presente soltanto nella cellula microbica (es. parete cellulare);
  - diversa capacità di penetrazione del farmaco nelle cellule eucariotiche vs procariotiche (es. tetracicline);
  - differente affinità del farmaco per strutture funzionalmente ma non strutturalmente simili (es. antibiotici che inibiscono la sintesi proteica per la differente struttura del ribosoma procariotico);
  - il farmaco non interagisce con i meccanismi di difesa dell'ospite e con la flora commensale

Non tossico per l'ospite:

- indice terapeutico favorevole

$$\textbf{Indice terapeutico} = \frac{\textbf{concentrazione tossica}}{\textbf{concentrazione terapeutica}}$$

Quanto più l'indice di un farmaco è basso (vicino all'unità), tanto più ristretto è il margine di sicurezza nel dosaggio del farmaco

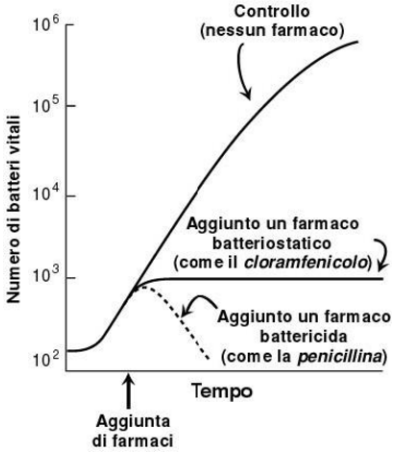


Dr. Erhlich's Magic Bullet (1940):
the greatest movie about chemotherapy

Farmaci antibatterici
Classificazione

Natura dell'inibizione:

- battericidi (β-lattamici, aminoglicosidi, anti-folati, chinoloni). Provocano la morte del batterio; indicati nel trattamento di infezioni gravi e dell'ospite immunocompromesso.
- Batteriostatici (tetracicline, macrolidi). Inibiscono la crescita del batterio. In fase «quiescente» il batterio è più facilmente aggredibile dall'immunità cellulo-mediata; per questo sono indicati nell'immunocompetente.



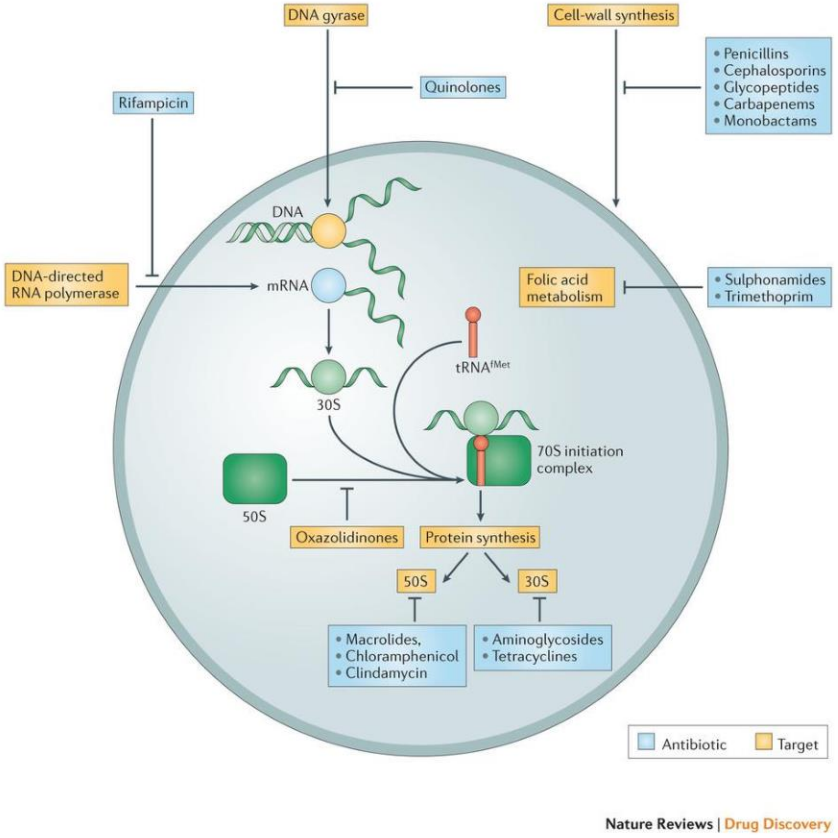
Tipologia di microrganismo (numerosità delle specie batteriche sensibili all'antibiotico):

- spettro ristretto: attivo vs limitato numero di specie (es. vs Gram+, come la penicillina); preferibili perché hanno un minore impatto sulla flora commensale e causano lievi effetti tossici
- ampio spettro: attivo vs numerose specie, generalmente sia Gram+ che Gram- (tetracicline, cefalosporine); generalmente associati ad un profilo di tossicità importante

Farmaci antibatterici
Classificazione

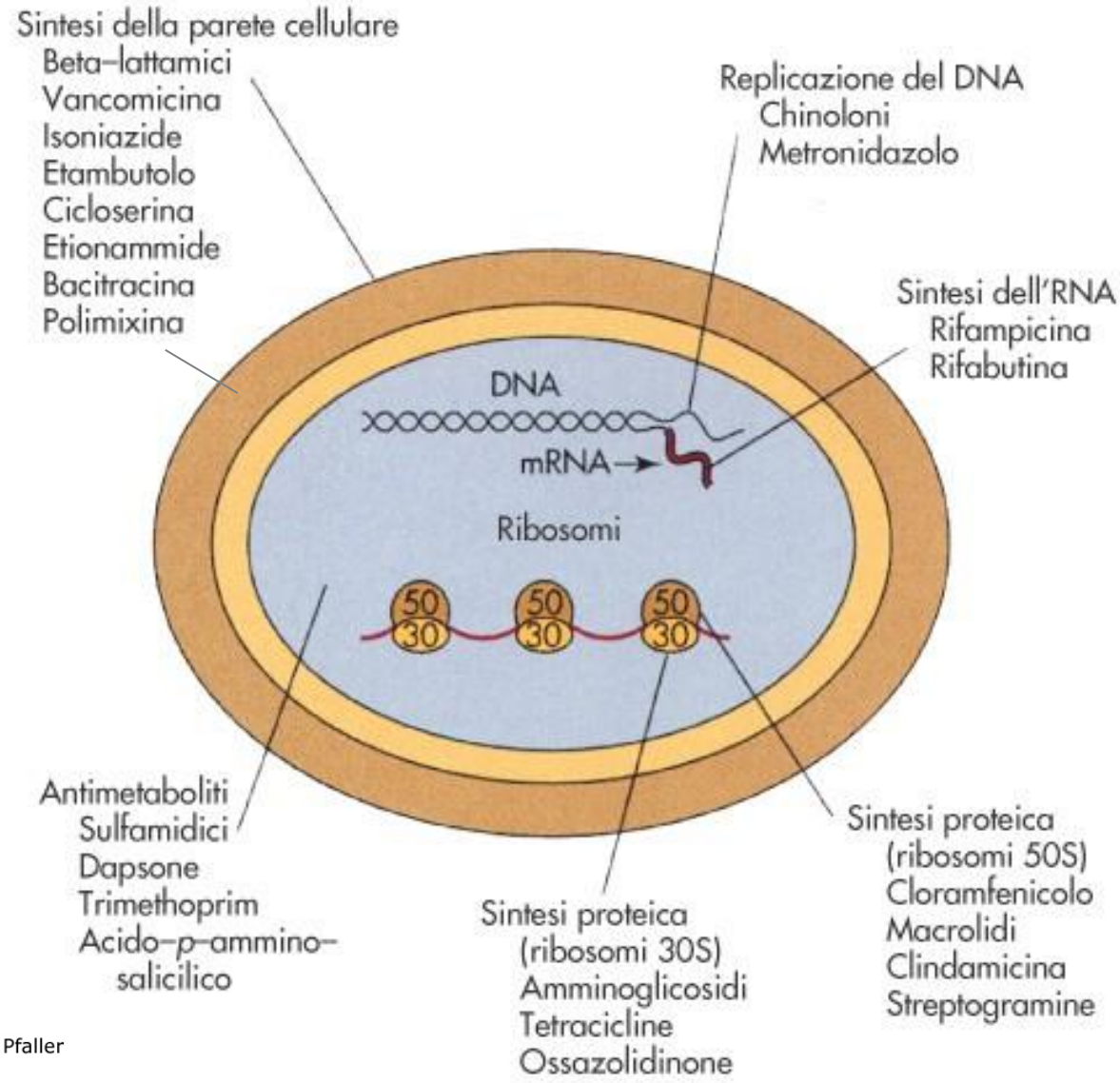
Meccanismo di azione:

- inibitori della sintesi di parete cellulare
- inibitori della funzionalità di membrana cellulare
- inibitori della sintesi proteica (30S, 50S, tRNA)
- inibitori della sintesi di acidi nucleici
- inibitori di enzimi metabolici



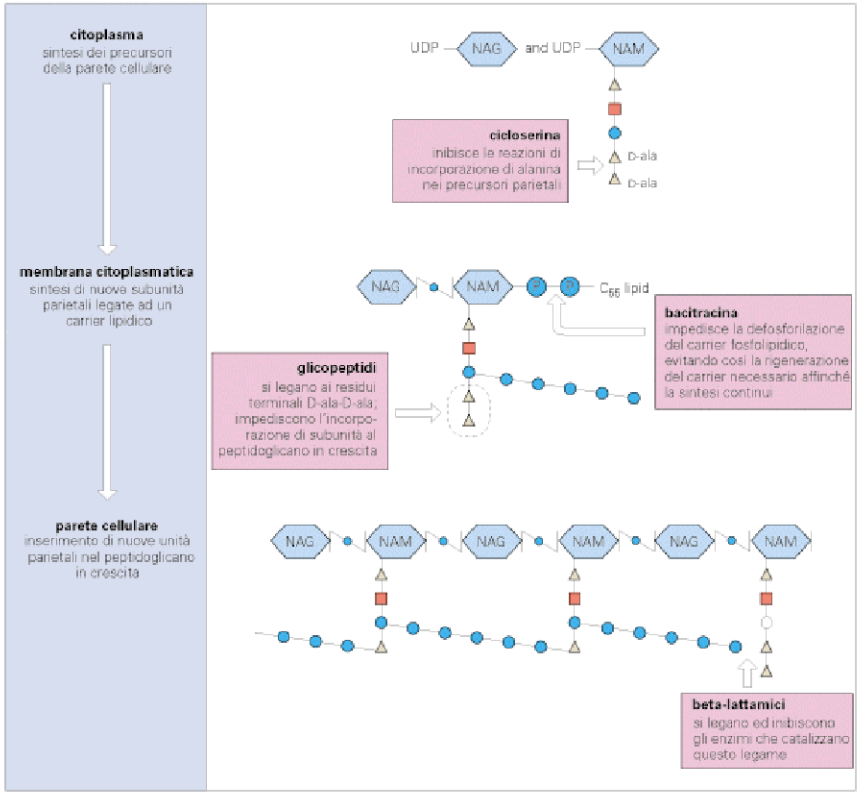
Siti bersaglio dell'attività di antibiotici e chemioterapici antibatterici

Membrana esterna:

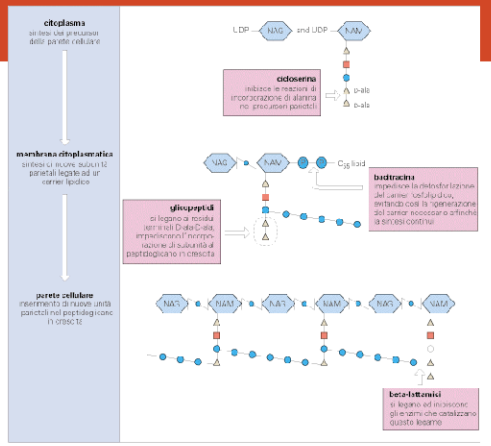


Murray - Rosenthal - Kobayashi - Pfaller
Microbiologia
EdiSES

Inibitori di parete cellulare
Glicopeptidi, β-lattamici



Inibitori di parete cellulare
Glicopeptidi



Struttura glicopeptidica

Naturali:

- Vancomicina: prodotta da *Streptomyces orientalis*
- Teicoplanina: prodotta da *Actinoplanes teichomyceticus*

Meccanismo di azione:

- inibizione dell'allungamento (polimerizzazione) del peptidoglicano
- l'antibiotico si lega al gruppo terminale D-ala D-ala di ciascun pentapeptide; in tal modo viene bloccata l'azione dell'enzima transglicosilasi che lega le diverse unità di disaccaride-pentapeptide

Ristretto spettro di azione:

- Gram+: cocchi (streptococchi, stafilococchi met-R), bacilli (*Listeria*, *Corynebacterium*), anaerobi (*Clostridium*)
- Gram- naturalmente resistenti perché i glicopeptidi non riescono ad attraversare la membrana esterna

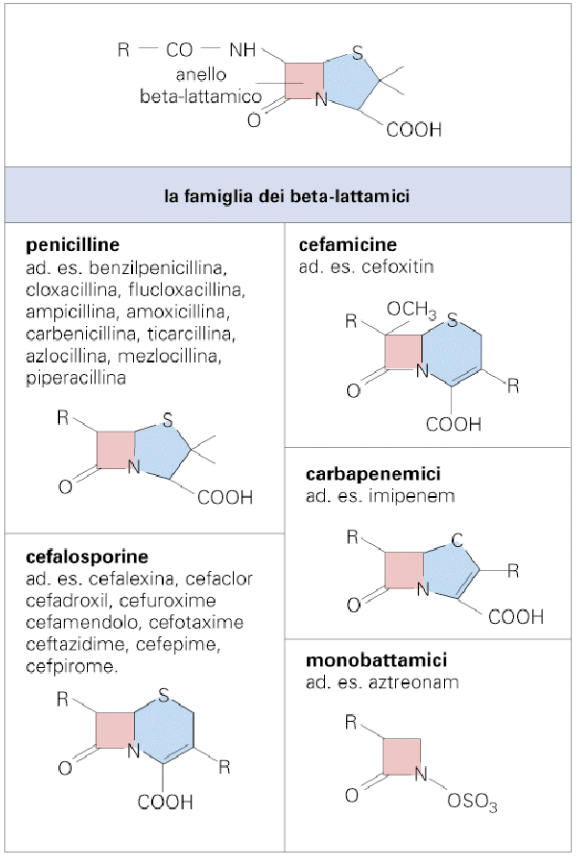
Tossicità:

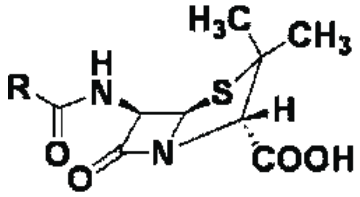
- intolleranza venosa locale (flebiti e tromboflebiti), reazioni allergiche (prurito, orticaria)
- ototossicità, nefrotossicità

Inibitori di parete cellulare
β-lattamici

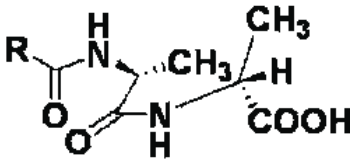
Rappresentano la classe di antibiotici più numerosa e di uso più comune, formata da diverse molecole battericide dotate di un anello β-lattamico:

- penicilline
- cefalosporine
- altri β-lattamici:
  - acido clavulanico, tienamicina, sulbactam
  - moxalactam
  - monobattamici (aztreonam)
  - carbapenemici

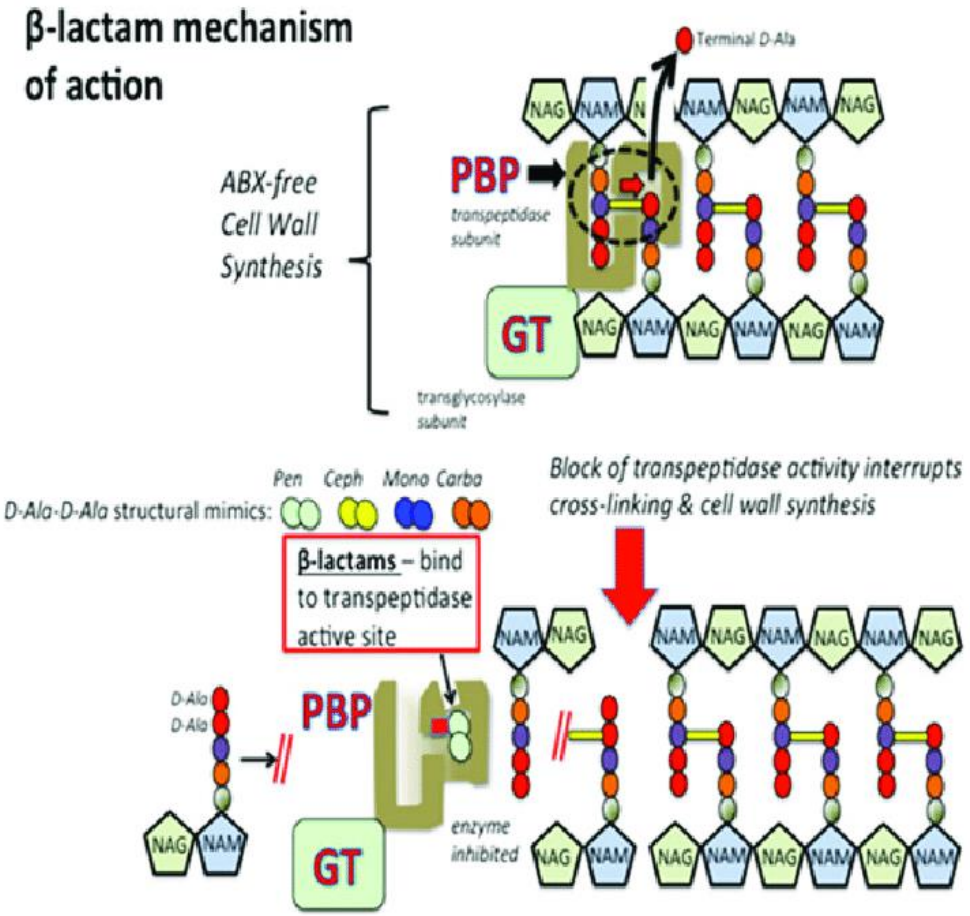




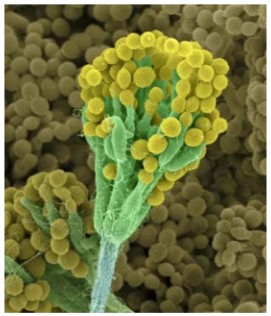
Penicillin



D-Ala-D-Ala



Inibitori di parete cellulare
β-lattamici - PENICILLINE



Prodotte da *Penicillium chrysogenum* (antibiotici)

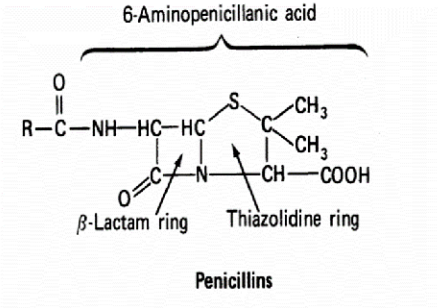
Nucleo fondamentale: acido 6-amino-penicillinanico

Naturali (estrattive):

- Benzil-penicillina (penicillina G), fenossimetil-penicillina (penicillina V)
  - attiva vs cocchi Gram+ e Gram-
  - sensibile a β-lattamasi

Semi-sintetiche (aggiunta di catene laterali al nucleo fondamentale; spettro ed intensità di azione maggiori vs penicillina G):

- Meticillina + Isossazolil-penicilline (oxa-, cloxa-, dicloxa-, flucloxa-)
  - resistenti a β-lattamasi
- Aminopenicilline (ampi-, amoxi-)
- Carbossipenicilline (carbeni-, ticar-)
- Ureidopenicilline (pipera-, azlo-, mezlo-)
- Sulfossipenicilline (sulbeni-, sun-)



Inibitori di parete cellulare
β-lattamici - CEFALOSPORINE

Prodotte da *Cephalosporium achremonium* (antibiotici)

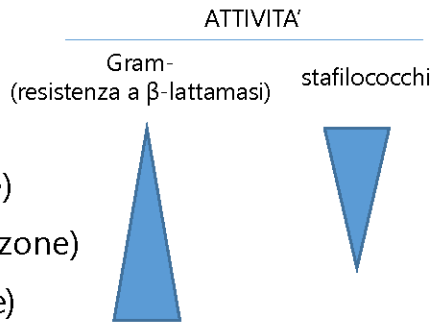
Nucleo fondamentale: acido 7-amino-cefalosporanico

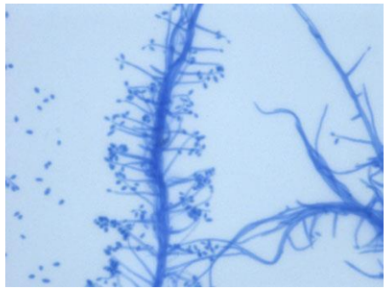
Naturali:

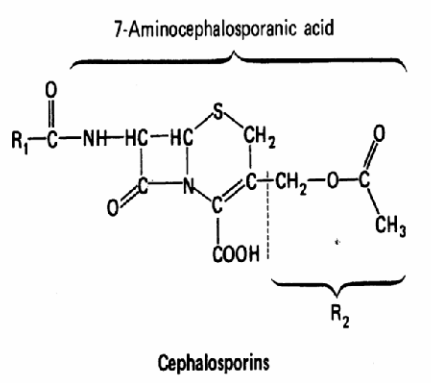
- Cefalosporina C

Semi-sintetiche*:

- I generazione (cefalotina, cefazolina)
- II generazione (cefoxitina, cefuroxime)
- III generazione (cefotaxime, cefoperazone)
- IV generazione (cefepime, cefodizime)







Cefamicine (cefuroxina, cefamandolo)

- naturali (*Streptomyces*)
- struttura simil-cefalosporanica (gruppo metossilico in C7)
- esteso spettro di azione (Gram- e soprattutto vs batteri anaerobi)

* Farmaci della stessa generazione hanno caratteristiche simili: attività antibatterica, spettro d'azione, capacità di resistenza vs β-lattamasi

Inibitori di parete cellulare
β-lattamici – meccanismo di azione

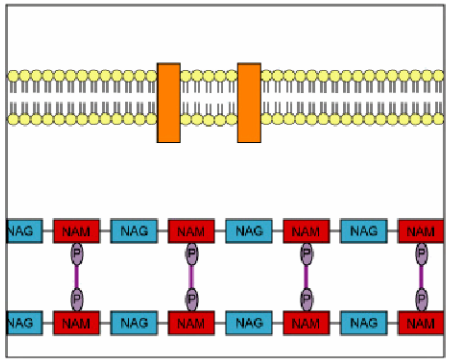
Target principale = parete cellulare batterica

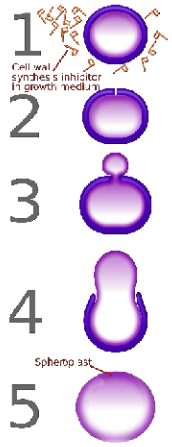
- bersaglio caratteristico della cellula microbica (tox selettiva)

Inibiscono la fase finale di polimerizzazione della sintesi del peptidoglicano (reazione di transpeptidazione), legandosi "selettivamente" agli enzimi coinvolti (Penicillin Binding Proteins – PBPs: carbossipeptidasi, transglicosilasi, transpeptidasi).

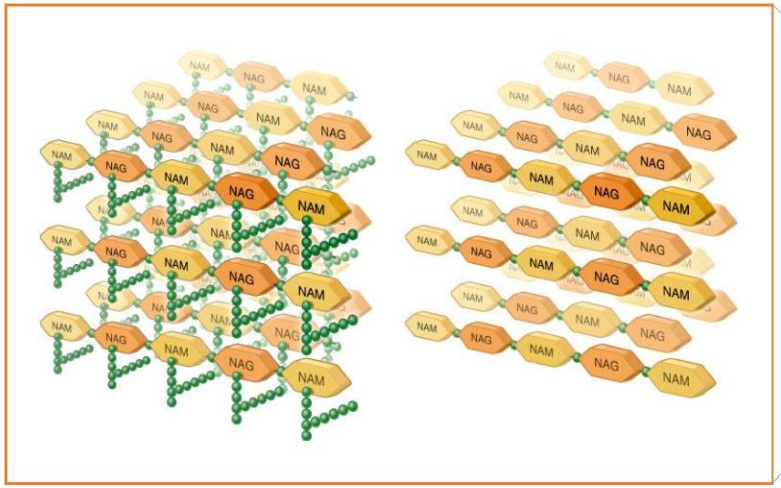
Attività battericida su cellule in attiva divisione:

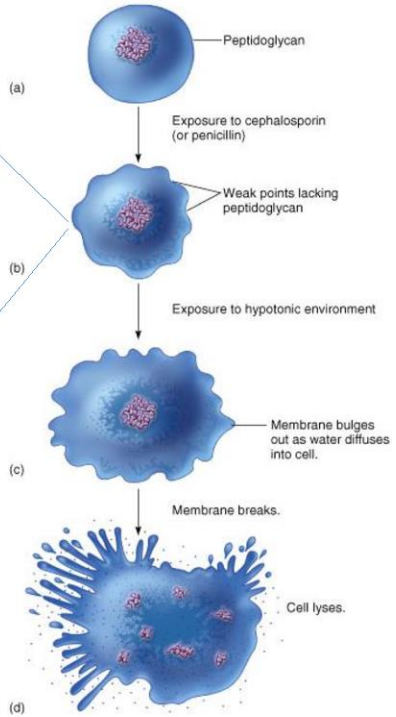
1. l'accumulo dei precursori di parete causa l'attivazione dei meccanismi autolitici (mureina-idrolasi)
2. produzione di peptidoglicano "lasso"
3. arresto crescita batterica
4. formazione dello sferoplasto
5. lisi cellulare

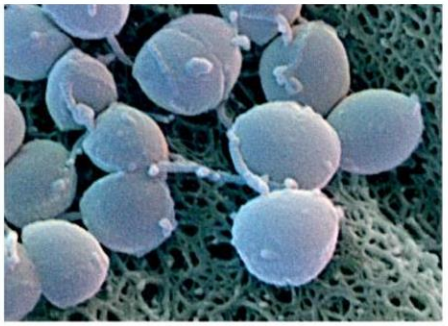


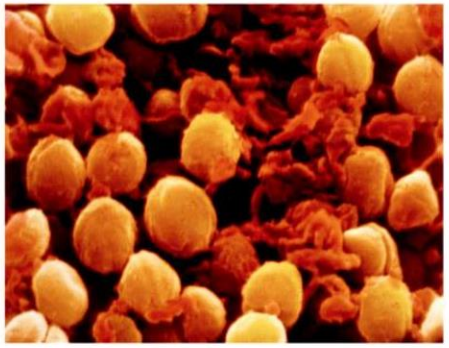


Inibitori di parete cellulare
β-lattamici – meccanismo di azione









Inibitori di parete cellulare
β-lattamici – spettro di azione

Penicilline:

- attive vs Gram + (aerobi ed anaerobi):
  - *S. aureus, S. pyogenes* (angina streptococcica, batteriemia, setticemia, faringite, otite media)
  - *S. pneumoniae* (meningite, polmonite)
- attive vs alcuni Gram-:
  - *Proteus, E. coli* (infezioni urinarie)
  - *Salmonella , Shigella* (gastroenteriti)

Cefalosporine:

- spettro esteso anche ai Gram-, dovuto alla resistenza a β-lattamasi (attive vs penicilline) ed alla maggiore penetrazione attraverso la membrana esterna:
  - *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis* (meningiti)

Non efficaci vs microrganismi intracellulari (*Brucella, Chlamydia, Legionella*), privi di parete (*Mycoplasma*) od impermeabili (micobatteri)

Inibitori di parete cellulare
altri β-lattamici

Inibitori delle β-lattamasi

- derivati strutturali dell'acido 6-amino-penicillanico (modifica anello tiazolidinico)
- acido clavulanico (*Streptomyces clavuligerus*), sulbactam, tazobactam
- dotati di scarsa attività antibatterica, espletano azione protettiva nei confronti delle β-lattamasi fungendo da inibitori «suicidi»: utilizzati in combinazione con una penicillina (amoxicillina/acido clavulanico, ampicillina/sulbactamam, piperacillina/tazobactam) si legano covalentemente alla β-lattamasi bloccandone irreversibilmente la attività, in tal modo proteggendo la penicillina.

Moxalactam

- derivato strutturale dell'acido 7-amino-cefalosporanico (modifica anello diidrotiazinico)
- esteso spettro di azione, spiccata resistenza vs β-lattamasi

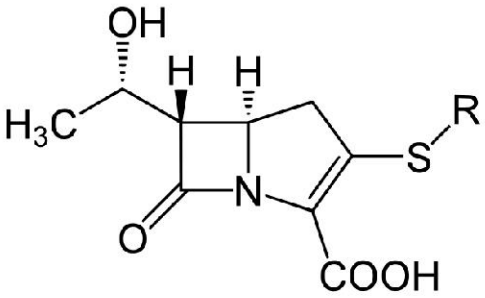
Monobattamici (aztreonam)

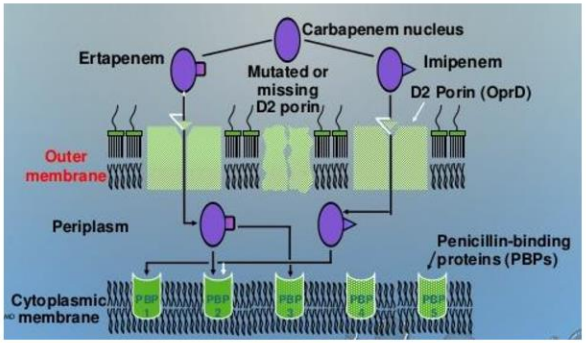
- *Chromobacterium violaceum*
- nucleo fondamentale β-lattamico monociclico (assenza anello eterociclico)
- rilevante attività vs Gram-negativi (anaerobi esclusi), spiccata resistenza vs β-lattamasi

Inibitori di parete cellulare
altri β-lattamici

Carbapenemici

- Imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem
- Esteso spettro di azione, il più ampio tra le β-lattamine :
  - Gram+, Gram-
  - anaerobi
  - rapida azione battericida rapida dovuta ad un attraversamento veloce delle porine D2 della parete batterica.
  - grande stabilità all'azione idrolitica operata da quasi tutte le β-lattamasi plasmidiche e cromosomiche.
- Indicati nelle infezioni intra-addominali, respiratorie, ginecologiche, setticemie, genito-urinarie, osteo-articolari, cutanee ed endocarditi





Inibitori di parete cellulare
β-lattamici – tossicità

Penicilline:

- reazioni di ipersensibilità immediata; allergia a penicillina frequentemente «crocia» con cefalosporine.
- shock anafilattico
- reazioni idiopatiche (ampicillina): rash cutaneo, 25% dei casi in corso di trattamento
- neurotossicità (benzilpenicillina a dosi> 40-50 milioni U, in pazienti con insufficienza renale)

Cefalosporine:

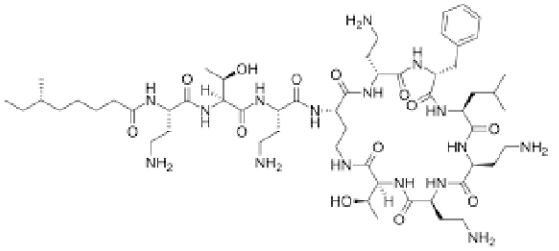
- intolleranze locali (cefalosporine I generazione parenterali)
- reazioni allergiche
- reazioni ematiche (trombocitosi, eosinofilia)
- disturbi gastroenterici (modesta diarrea)

2. Inibitori della funzionalità di membrana citoplasmatica
Polimixine

Antibiotici *(Bacillus polymyxa).*

Polipeptidi a struttura ciclica.

Polimixina B e polimixina E (colistina), le più utilizzate.



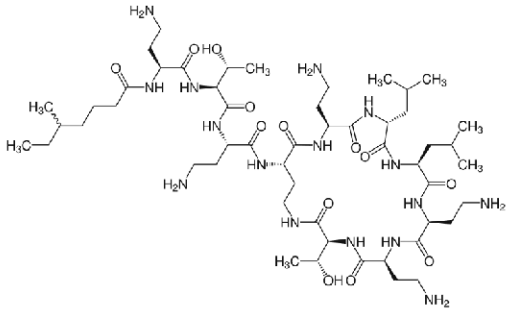
polimixina B

Meccanismo di azione battericida:

- agisce come detergente cationico, distruggendo la struttura fosfolipidica della membrana

Ristretto spettro di azione:

- Gram- (eccetto *Proteus spp.*)
- infezioni della cute e mucose (ferite, orecchio, occhio); batteriemia, UTI, meningite
- disinfettante vescicale

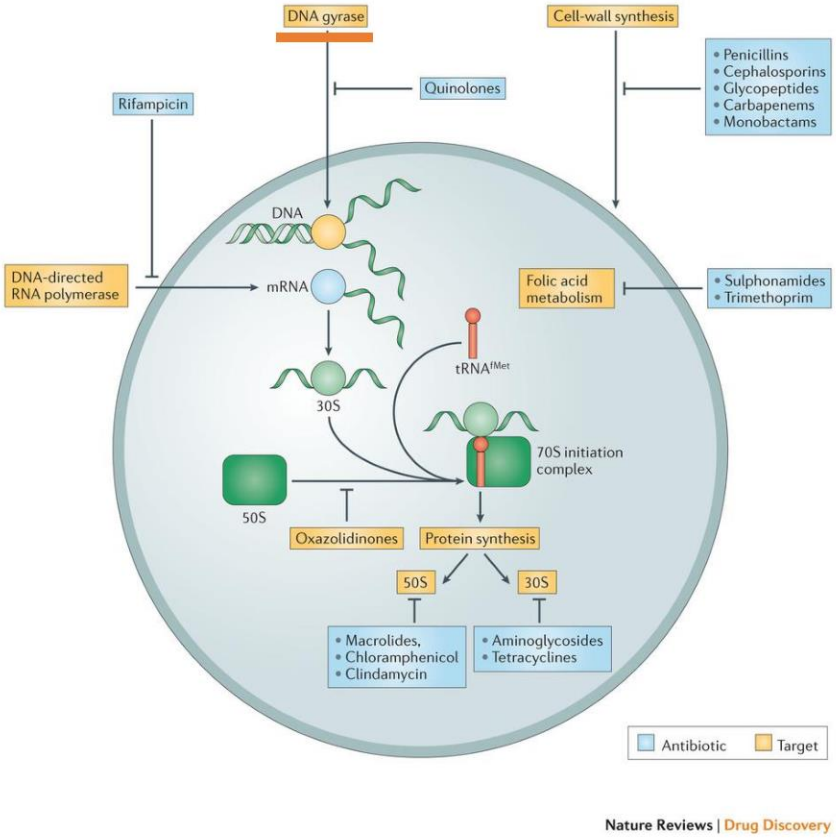


colistina

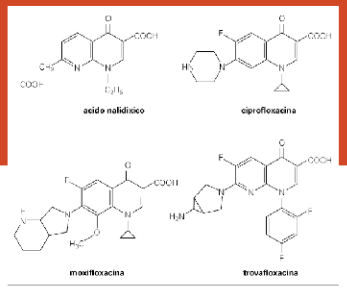
Elevata neurotossicità e nefrotossicità associate alla somministrazione i.v.. Antibiotici di «seconda scelta».

Principalmente ad uso topico (pomata, collirio); utilizzate anche per os (colistina, per decontaminazione intestinale nei pazienti neutropenici).

Farmaci antibatterici
Classificazione – meccanismo di azione



Inibitori della sintesi di DNA
Chinoloni



Agenti antibatterici di origine sintetica (**chemioterapici**)

Sono **classificati in generazioni**, sulla base del loro spettro di azione:

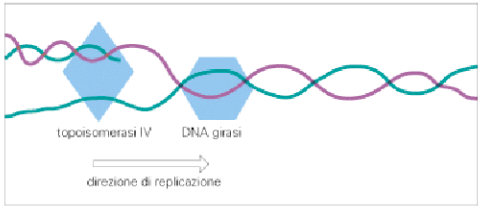
- I generazione: acido nalidixico
- II generazione: ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina
- III generazione: levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina, sparfloxacina
- IV generazione: trovafloxacina

Meccanismo di azione battericida

- legano la subunità GyrA della DNA-girasi e la subunità ParC della topoisomerasi IV, prevenendo la despiralizzazione del DNA e, quindi, la sua replicazione.

Ampio spettro di azione

- enterobatteri
- cocchi Gram+ e Gram-



Tossicità

- disturbi gastroenterici
- disturbi neuropsichici (cefalea, vertigini, convulsioni in pazienti anziani)
- cartilagini in accrescimento (sconsigliati durante gestazione ed allattamento)

CARATTERISTICHE DEI CHINOLONI PIÙ RAPPRESENTATIVI

farmaco	categoria*	spettro di attività generale
acido nalidixico	prima generazione	batteri Gram-negativi (escluso *Pseudomonas*)
ciprofloxacina enoxacina lomefloxacina norfloxacina ofloxacina	seconda generazione	stessa copertura della prima generazione con incluso *Pseudomonas* spp. , e alcuni Gram-positivi (*Staphylococcus aureus* ma non *Streptococcus pneumoniae*)
levofloxacina gatifloxacina moxifloxacina sparfloxacina	terza generazione	stessa copertura della seconda generazione, ma con una aumentata attività nei confronti dei Gram-positivi (*Streptococcus pneumoniae* penicillino-sensibile e -resistente) inoltre alcuni sono attivi contro gli anaerobi
trovafloxacina	quarta generazione**	stessa copertura della terza generazione, ma con attività anche nei confronti degli anaerobi

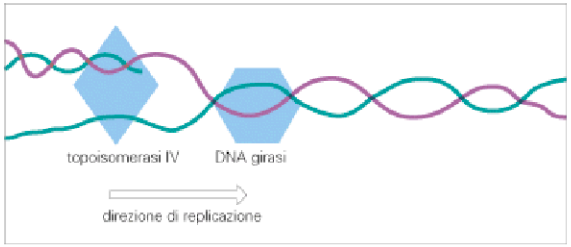
*tutti tranne i composti di prima generazione sono fluorochinoloni
**associati con casi di grave compromissione epatica; l'uso è riservato a situazioni cliniche terminali

Inibitori della sintesi di DNA
Novobiocina

Antibiotici (*Streptomyces spheroides, S. niveus*)

Meccanismo di azione battericida

- lega la subunità GyrB della DNA-girasi (topoisomerasi II), prevenendo la despiralizzazione del DNA e, quindi, la sua sintesi



- **Spettro di azione**: azione sinergica con quella dei chinoloni (terapia combinatoria).
- **Tossicità selettiva**: differente struttura enzimatica tra procarioti ed eucarioti.

Inibitori della sintesi di RNA
Rifamicine

Antibiotici (*Nocardia mediterranea*)

- Rifamicina (maggiormente utilizzata in clinica), rifabutina, rifapentina

Meccanismo di azione battericida:

- blocco della fase iniziale della trascrizione per legame alla subunità β della RNA-polimerasi

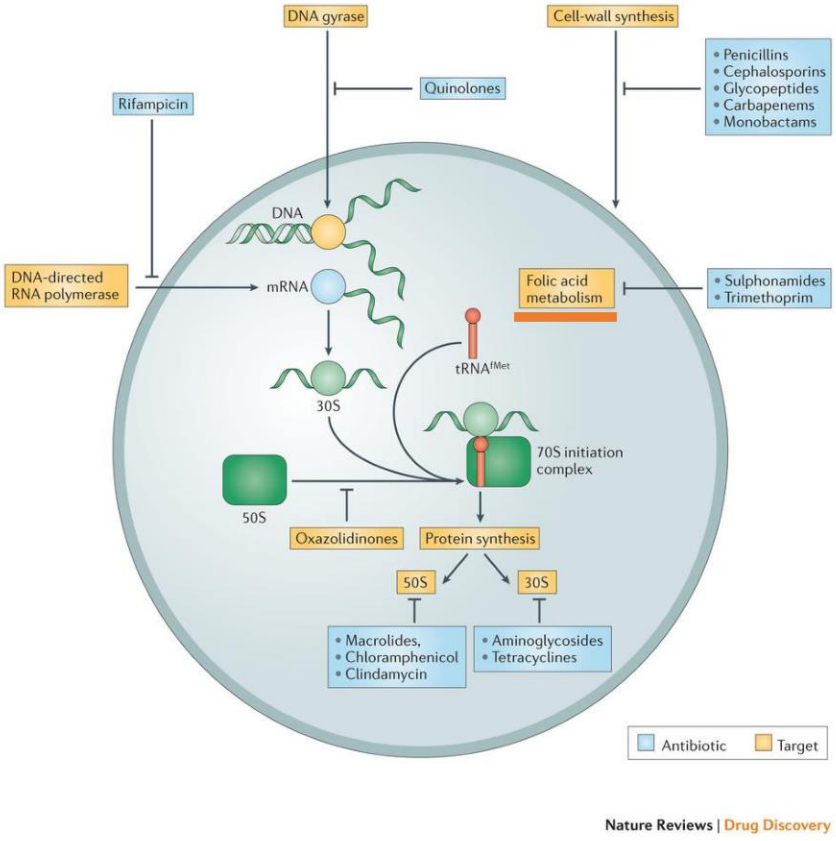
Spettro di azione:

- micobatteri tubercolari e atipici
- cocchi Gram+ (endocarditi protesiche causate da streptococchi, *S. aureus*)
- *N. meningitidis* (profilassi della meningite) e *H. influenzae*

Tossicità selettiva

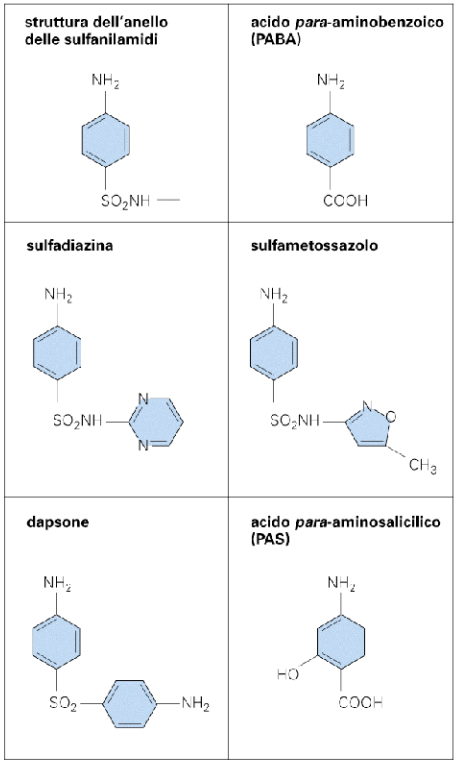
- disturbi gastroenterici
- epatotossicità (dosi elevate)

Farmaci antibatterici
Classificazione – meccanismo di azione



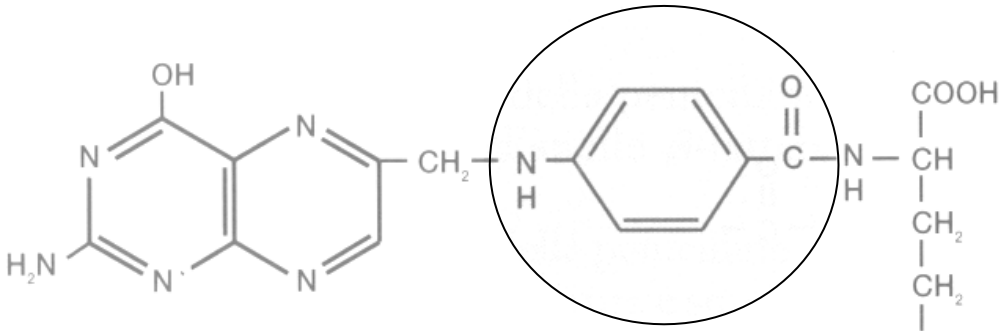
Inibitori della sintesi di acidi folici
Sulfonamidi

- Agenti antibatterici di sintesi (chemioterapici). Analoghi strutturali dell'acido para-aminobenzoico (PABA).
- Sulfametossazolo, dapsone, acido para-aminosalicilico.
- Meccanismo di azione batteriostatica: competono con PABA per il sito attivo della diidropteroato-sintetasi, enzima coinvolto nella biosintesi di acido tetraidrofolico (THFA), indispensabile per la sintesi di purine e pirimidine e, quindi, per la sintesi degli acidi nucleici.
- Tossicità selettiva: molti batteri sintetizzano THFA, mentre le cellule umane - incapaci di sintetizzarlo - utilizzano l'acido folico esogeno (dieta).
- Spettro di azione: esteso, Gram+ ma soprattutto Gram- (eccetto *Pseudomonas spp.*) causa di infezioni urinarie. Dapsone (*Mycobacterium leprae*), acido para-aminosalicilico (*M. tuberculosis*).
- Somministrate per via orale, spesso in combinazione con trimethoprim (come co-trimossazolo, al fine di prevenire l'insorgenza di ceppi resistenti), vengono metabolizzate nel fegato ed escrete attraverso il rene.
- Tossicità: prove di effetti collaterali, possono causare eritema e repressione del midollo osseo (sindrome di Stevens-Johnson).

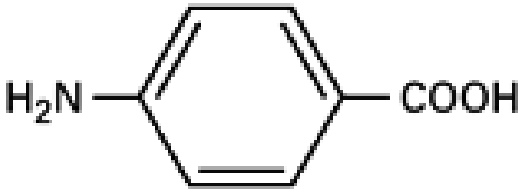


Antimetaboliti

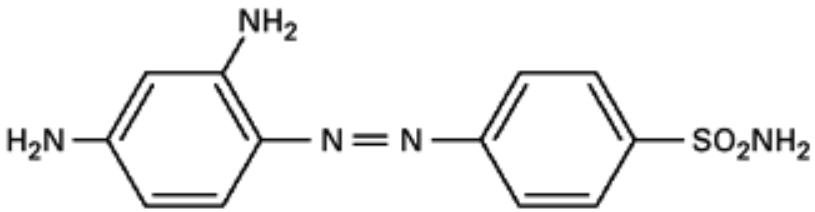
Sulfamidici - Trimethoprim



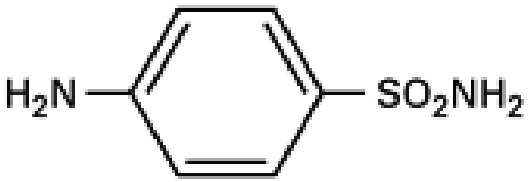
Acido folico



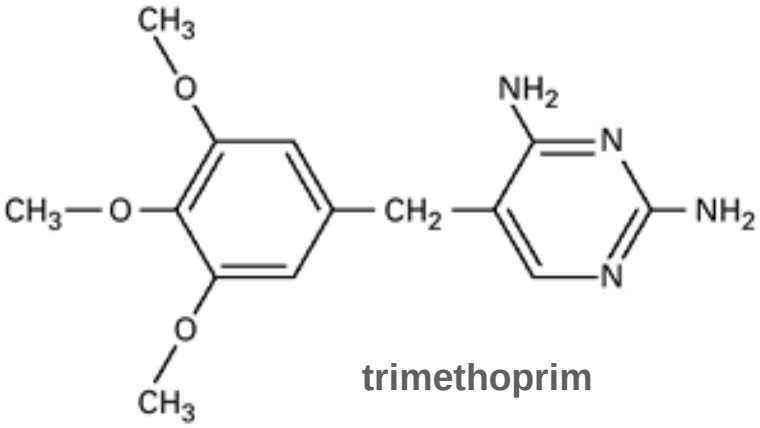
acido para-aminobenzoico



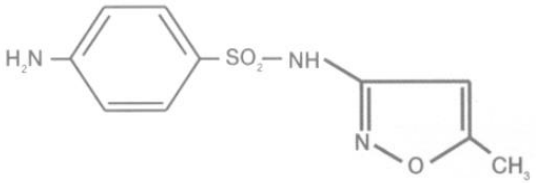
prontosil



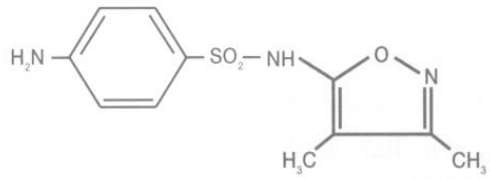
sulfanilamide



trimethoprim



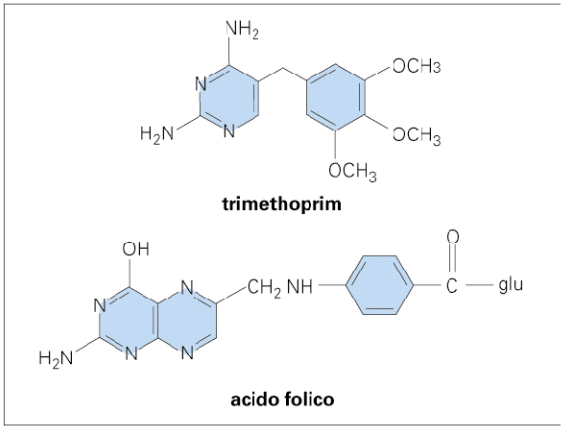
sulfametossazolo



sulfisossazolo

Inibitori della sintesi di acidi folici
Trimethoprim

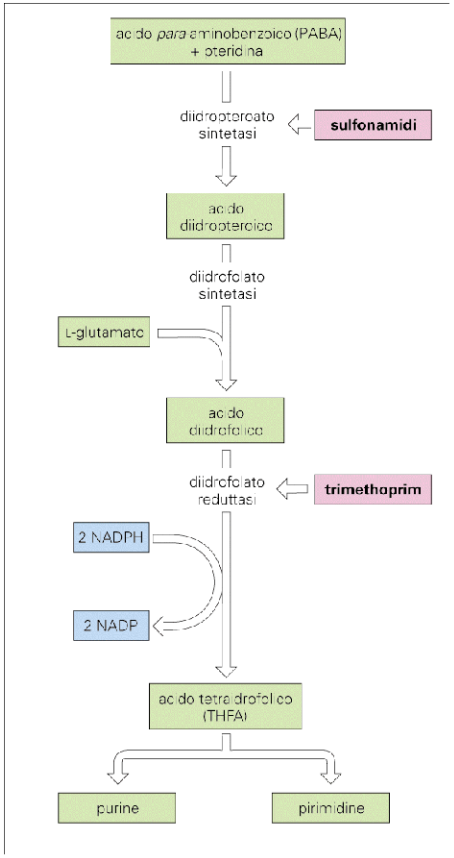
- Chemioterapico (sintetico), appartiene al gruppo delle molecole pirimidina-simili. Analogo strutturale del gruppo aminoidrossipirimidinico dell'acido folico.
- Meccanismo di azione batteriostatica: competono con acido folico per il sito attivo della diidrofolato-reduttasi, enzima coinvolto nella biosintesi di THFA, indispensabile per la sintesi di purine e pirimidine e, quindi, per la sintesi degli acidi nucleici.
- Tossicità selettiva: sebbene diidrofolato-reduttasi sia presente sia nelle cellule dell'ospite che in quelle batteriche, il trimethoprim ha maggiore affinità per l'enzima batterico.



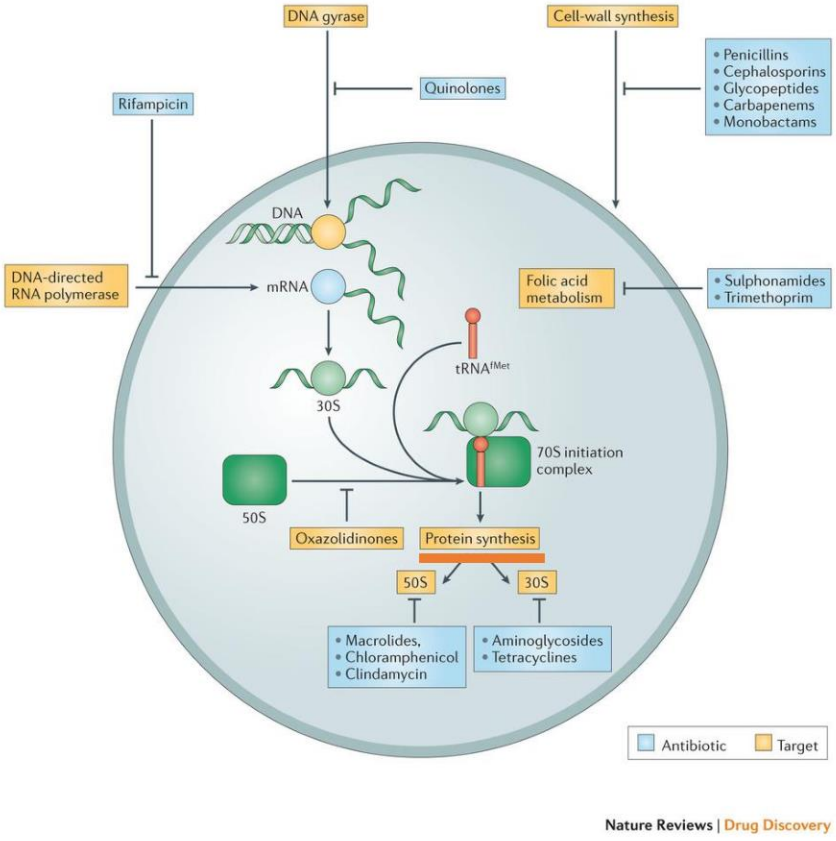
- Spettro di azione: Gram- (eccetto *Pseudomonas spp.*). In combinazione con sulfametossazolo è attivo vs patogeni urinari e *Salmonella typhi*, polmoniti (*Pneumocystis jiroveci*), nocardiosi, ulcera molle.
- Somministrato per via orale o per i.v., spesso in combinazione con sulfametossazolo, viene metabolizzato nel fegato ed escreto attraverso il rene. Nei pazienti con insufficienza renale viene escreto più rapidamente delle sulfonamidi, potendo in tal modo perdere l'effetto sinergico.
- Tossicità: somministrato da solo od in combinazione con sulfametossazolo può provocare, soprattutto nei pazienti con AIDS, neutropenia, nausea e vomito

Inibitori della sintesi di acidi folici
Sulfametossazolo + Trimethoprim

- Sulfametossazolo e trimethoprim vengono spesso somministrati in associazione, come co-trimossazolo.
- Il vantaggio di una terapia combinatoria rispetto ai singoli farmaci è dovuto al fatto che:
  - è improbabile la simultanea resistenza ad entrambe le molecole.
  - i due farmaci agiscono in maniera sinergica, ossia l'azione risultante in combinazione è maggiore rispetto alla sommatoria degli effetti derivanti dall'utilizzo delle singole molecole. In tal modo, è possibile utilizzare concentrazioni minori di ciascuna molecola al fine di ottenere lo stesso effetto terapeutico, limitando/prevenendo in tal modo l'insorgenza di ceppi resistenti.

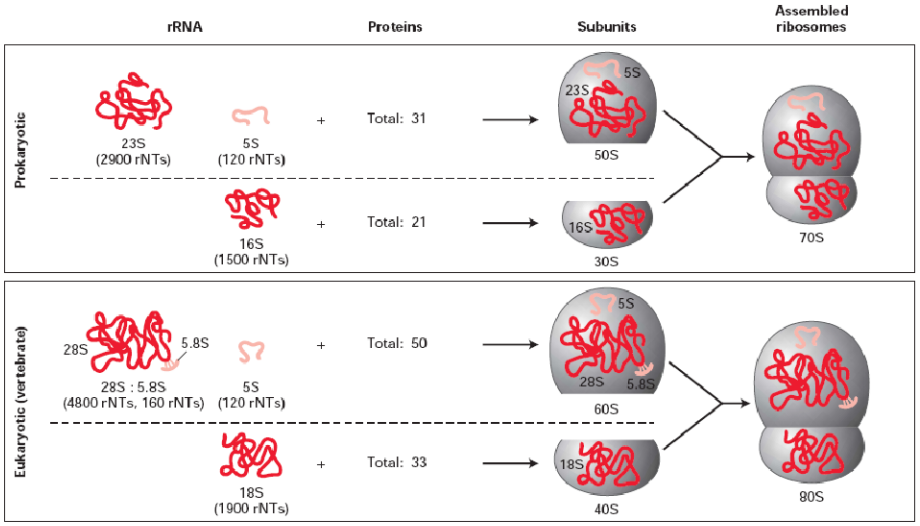


Farmaci antibatterici
Classificazione – meccanismo di azione

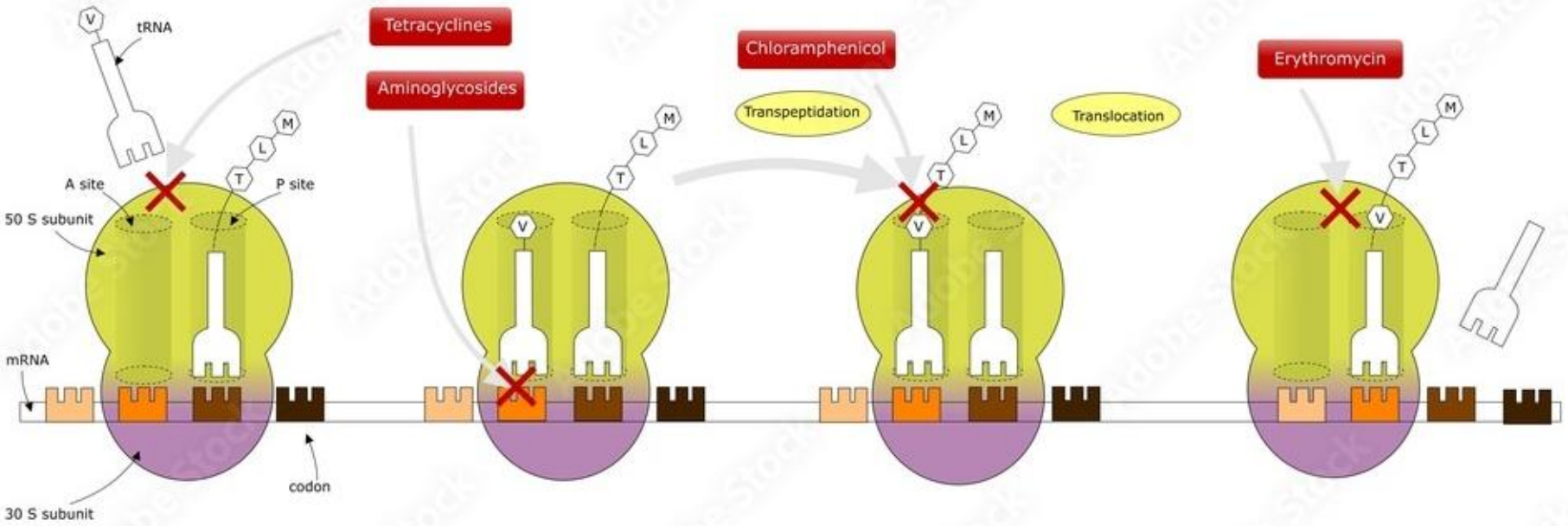


Inibitori della sintesi proteica
Tossicità selettiva

Sebbene la sintesi proteica avvenga sia nei procarioti che negli eucarioti secondo modalità similari, la tossicità selettiva di questi farmaci si basa sulla esistenza di alcune **sostanziali differenze strutturali esistenti tra i ribosomi procariotici ed eucariotici**.



Bacterial protein synthesis



Aminoglycosides:

Examples: Streptomycin, Gentamicin, Tobramycin
Mechanism: Bind to the 30S subunit of the bacterial ribosome, causing misreading of mRNA and inhibiting protein synthesis.

Tetracyclines:

Examples: Tetracycline, Doxycycline, Minocycline
Mechanism: Bind to the 30S subunit and inhibit the binding of aminoacyl-tRNA to the A site of the ribosome, preventing the addition of new amino acids to the growing polypeptide chain.

Macrolides:

Examples: Erythromycin, Azithromycin, Clarithromycin
Mechanism: Bind to the 50S subunit and inhibit the translocation of the growing peptide chain from the A site to the P site on the ribosome.

Lincosamides:

Example: Clindamycin
Mechanism: Binds to the 50S subunit, inhibiting the translocation step of protein synthesis.

Oxazolidinones:

Example: Linezolid
Mechanism: Inhibits the initiation of protein synthesis by preventing the formation of the initiation complex.

Inibitori della sintesi proteica
Aminoglicosidi

Aminozuccheri uniti con legame glicosidico ad un nucleo aminociclitolo

Naturali (*Streptomyces*, *Micromonospora*):

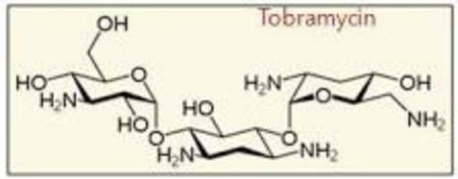
- Streptomicina
- Neomicina
- Kanamicina
- Gentamicina
- Tobramicina
- Sisomicina

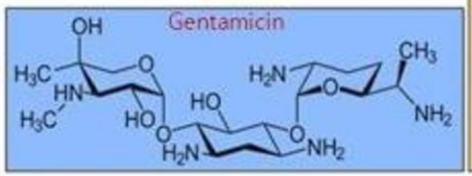
Semi-sintetici:

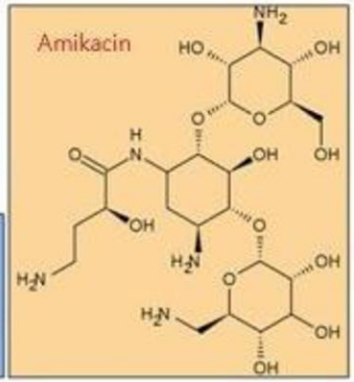
- Amikacina
- Netilmicina



Streptomyces





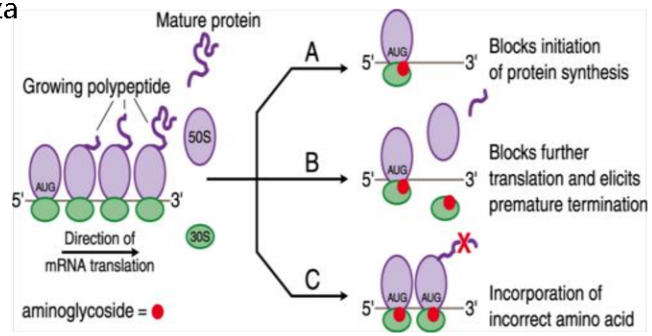


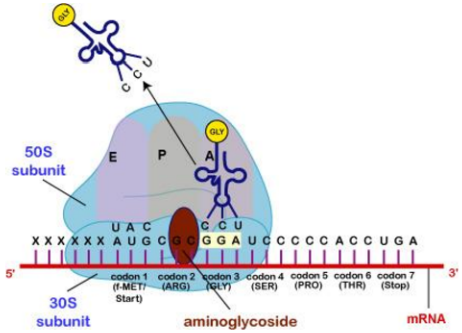
Inibitori della sintesi proteica
Aminoglicosidi

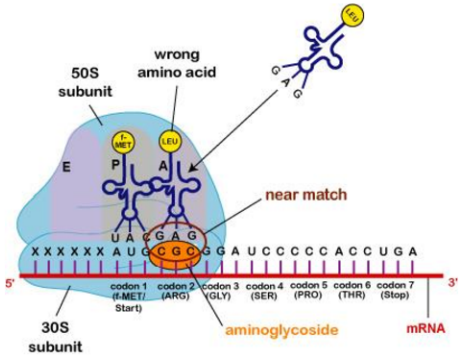
- **Meccanismo di azione battericida «multi-step»**:

Gli aminoglicosidi attraversano la membrana con un processo O_2-dipendente, quindi legano la subunità ribosomiale 30S (proteina S12):

- inibiscono la formazione dei complessi di iniziazione (inibizione azione fmet-tRNA, modificazione siti di attacco del ribosoma) indispensabili per la sintesi proteica nei procarioti
- inibiscono la traslocazione dal sito A al sito P, bloccando la formazione della catena peptidica in neo-sintesi
- inducono errori di lettura dei codoni di mRNA: formazione di proteine «anomale» che, inserite a livello di membrana, formano pori in grado di aumentare l'ingresso di antibiotico all'interno della cellula. Effetto paradosso: streptomicina-dipendenza







Inibitori della sintesi proteica
Aminoglicosidi

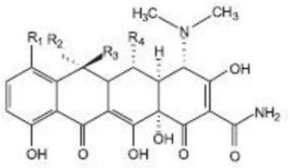
- **Esteso spettro di azione**:
  - Gram- (infezioni gravi, sepsi, polmoniti, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* compresi)
  - Gram+ (in combinazione con β-lattamici): streptococchi, stafilococchi
  - inattivi vs anaerobi
  - micobatteri (streptomicina, amikacina, kanamicina)
  - profilassi/ terapia infezioni chirurgiche addominali
- **Somministrati generalmente mediante fleboclisi**, in quanto non assorbiti a livello intestinale, non penetrano nei tessuti molli e non superano la barriera emato-liquorale. Vengono eliminati per via renale.
- **Tossicità**:
  - indice terapeutico (C_{tox}/C_{ter}) assai «ridotto»
  - potenzialmente nefrotossici ed ototossici (perdita cellule ciliate e danno permanente all'organo del Corti)
  - necessità di monitorare i livelli ematici, specialmente in caso di insufficienza renale

Inibitori della sintesi proteica
Tetracicline

Tetraciclina: antibiotico (*Streptomyces spp.*)

Posseggono una struttura tetraciclica di grandi dimensioni, con numerosi siti chimicamente sostituibili:

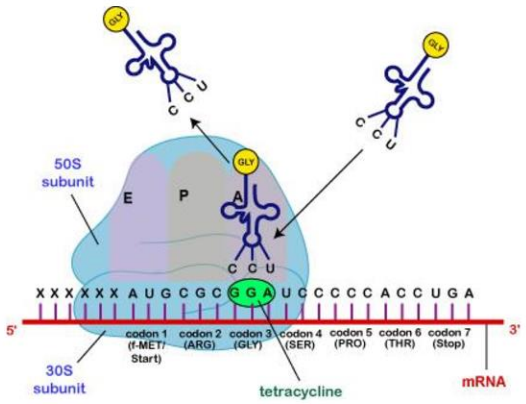
- Tetracicline semi-sintetiche
  - oxitetraciclina
  - clortetraciclina
  - doxiciclina
  - demeclociclina



Compound	R_1	R_2	R_3	R_4
Tetracycline	H	CH_3	OH	H
Oxytetracycline	H	CH_3	OH	OH
Chlortetracycline	Cl	CH_3	OH	H
Doxycycline	H	CH_3	H	OH
Demeclocycline	Cl	H	OH	H

Meccanismo di azione batteriostatica

- penetrano nella cellula complessate a Mg^{2+}, legano la subunità ribosomiale 30S impedendo l'accesso degli aminoacil-tRNA al sito recettoriale A del ribosoma e, quindi, bloccano la sintesi proteica



Inibitori della sintesi proteica
Tetracicline

- **Esteso spettro di azione**:
  - patogeni intracellulari (infezioni genito-urinarie causate da micoplasmi, clamidie, rickettsie)
  - cocchi Gram+ (acne) e Gram- (*Neissseria*)
  - Gram- (infezioni vie aeree)
  - spirochete (sifilide)
  - alcuni protozoi
- **Tossicità selettiva**:
  - maggiore penetrazione nella cellula batterica (vs cellula eucariotica)
  - possono inibire anche la sintesi proteica eucariotica, ma raramente raggiungono concentrazioni tossiche
- **Tossicità**:
  - superinfezioni (*S. aureus, Candida*), a seguito di killing della flora commensale (intestinale, in particolare)
  - alterazioni dentarie (colorazione dei denti in fase di sviluppo) ed ossee (ritardato sviluppo osseo)
  - epatotossicità
  - alterazioni cutanee: fotosensibilità

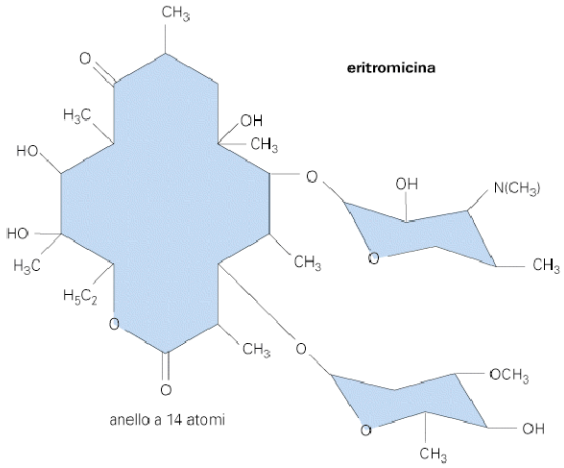
Inibitori della sintesi proteica
Macrolidi

Antibiotici (*Streptomyces spp.*)

Molecole cicliche di grandi dimensioni (14, 15 o 16 atomi), contenenti un nucleo lattonico macrociclico con funzione chetonica unito a differenti zuccheri:

- eritromicina → NATURALE
- roxitromicina
- azitromicina
- claritromicina

SEMISINTETICI: migliori proprietà farmacocinetiche (vs eritromicina)



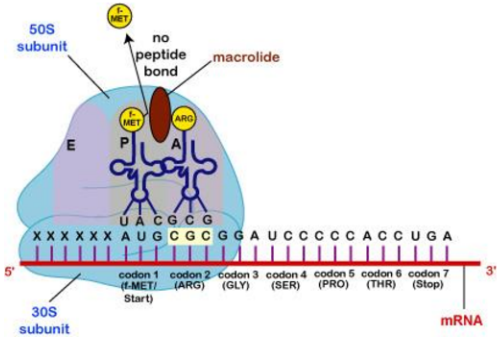
nuovi macrolidi	attività in vitro comparata con eritromicina	farmacocinetiche umane
roxitromicina (anello a 14 atomi)	comparabile	alti picchi di concentrazione ematica $T^{1}/_{2}$ = 12 h
azitromicina (anello a 15 atomi)	migliorata contro i batteri Gram-negativi	alta concentrazione tissutale, somministrata una volta al giorno
claritromicina (anello a 14 atomi)	migliorata contro i batteri Gram-positivi e *Legionella* spp.	il picco di concentrazione ematica è più alto rispetto a quello dell'eritromicina

Inibitori della sintesi proteica
Macrolidi

- **Meccanismo di azione batteriostatica**:

Si legano a RNA ribosomiale 23S all'interno della subunità ribosomiale 50S. In tal modo:

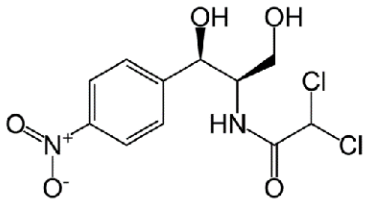
  - impediscono la formazione del legame peptidico tra gli aminoacidi ai siti A-P.
  - bloccano la traslocazione impedendo il rilascio di tRNA «scarico» a seguito della formazione del legame peptidico, con conseguente blocco della sintesi proteica.



- **Esteso spettro di azione**:
  - cocchi Gram+ e Gram-
  - eritromicina: alternativa a penicillina vs streptococco (nei soggetti allergici)
  - Gram-: *Legionella pneumophila, Campylobacter jejuni, Yersinia, Bordetella pertussis*
  - patogeni intracellulari: micoplasmi, clamidie (polmoniti atipiche, infezioni genitali), rickettsie
- **Tossicità**:
  - epatotossicità (dosaggi elevati)
  - disturbi gastroenterici (vomito, nausea, ittero): eritromicina: per via orale

Inibitori della sintesi proteica
Cloramfenicolo

Antibiotico (*Streptomyces venezuelae*), sebbene attualmente ottenuto per sintesi.

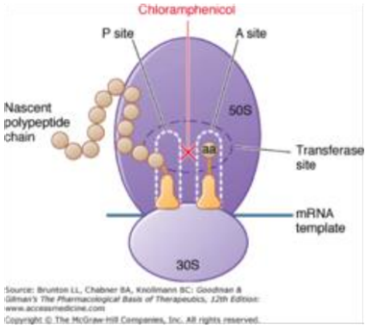


Struttura semplice: singolo nucleo nitrobenzenico.

Sintetizzati altri derivati, sebbene scarsamente impiegati in terapia.

Meccanismo di azione batteriostatico:

- lega la subunità 50S, blocca l'enzima peptidil-transferasi inibendo la formazione del legame carbo-amidico.
- può riconoscere anche i ribosomi eucariotici (subunità 70S mitocondriale), causando tossicità midollare dose-dependente.



Inibitori della sintesi proteica
Cloramfenicolo

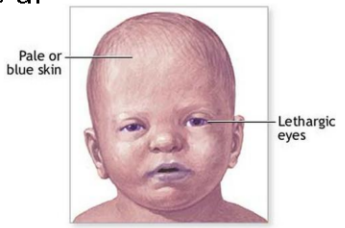
Esteso spettro di azione:

- cocchi Gram+ e Gream- (*Neisseria*); Gram-, enteritogeni in particolare (*Salmonella*, *Shigella*, *Brucella*, *Vibrio*)
- meningite batterica, ascessi cerebrali (*H. influenzae, S. pneumoniae*), infezioni oculari
- anaerobi Gram+ e Gram-
- *Rickettsia, Chlamydia, Mycoplasma*

Somministrato per os, i.v. ed anche per via topica, viene ben assorbito (soprattutto a livello della barriera emato-encefalica). Metabolizzato nel fegato, viene eliminato per via renale.

Tossicità rilevante:

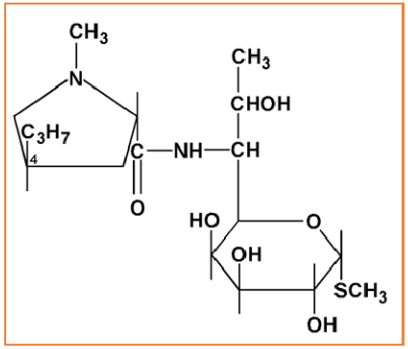
- soppressione dose-dipendente del midollo osseo (analogia strutturale al nitrobenzene), in caso di trattamento per lunghi periodi; reversibile
- anemia aplastica; irreversibile, ma molto rara (1 caso/30.000 pazienti)
- tossico nei neonati, soprattutto se prematuri (mancanza di enzimi epatici; «gray-sindrome»)



Inibitori della sintesi proteica
Lincosamidi

Lincomicina (*Streptomyces lincolnensis*).

Clindamicina (derivato clorinato della lincomicina) è il farmaco più importante della classe.



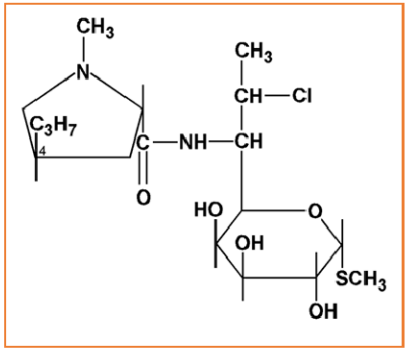
lincomicina

Meccanismo di azione batteriostatica:

- si legano alla subunità 50S inibendo la formazione del legame peptidico sito A-sito P

Spettro di azione intermedio (clindamicina):

- anaerobi, Gram+ (*Clostridium spp.*) e Gram- (*Bacteroides spp.*)
- Gram+ (osteomielite da *S. aureus*, in particolare)
- non attiva vs Gram- aerobi (scarsa penetrazione m. esterna) e *Clostridium difficile* (prima evidenza di colite pseudomembranosa a seguito di terapia).



clindamicina

Somministrata per os, i.m., i.v., clindamicina penetra nel tessuto osseo, leucociti polimonorfonucleati e macrofagi. Metabolizzata dal fegato, i derivati vengono eliminati con le feci.

Inibitori della sintesi proteica
Streptogramine

Antibiotici *(Streptomyces)*.

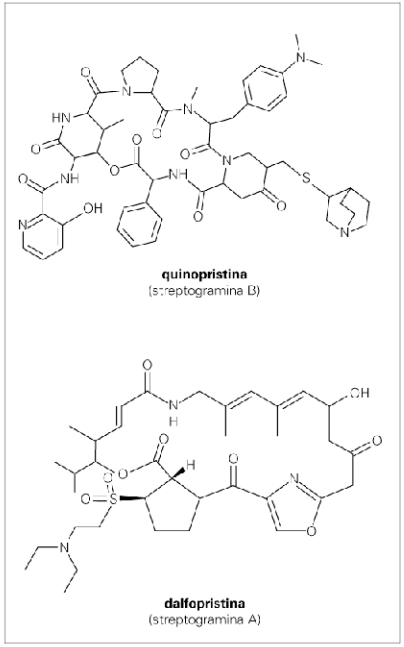
Formulazione classica: streptogramina A (dalfopristina) + streptogramina B (quinopristina).

Meccanismo di azione:

- si legano alla subunità 50S inibendo, a differenti livelli (interazione sinergica), l'allungamento della catena peptidica: streptogramina A (inibizione legame peptidico), streptogramina B (allungamento di catena)
- batteriostiche in singolo, streptogramina A e B sono battericide in associazione

Ristretto spettro di azione:

- cocchi Gram+
- *Enterococcus faecium*, ma non *E. faecalis*
- attive vs ceppi multi-antibiotico resistenti (VRSA, vancomycin-resistant *S. aureus*; VRE, vancomycin-resistant *Enterococcus*)

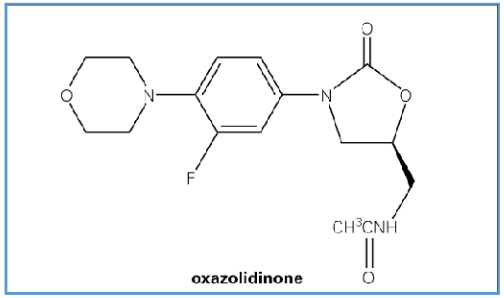


Elsevier Science
Mims: Medical Microbiology
M3259.33.f012a
100%
Artist: Richard Morris

Inibitori della sintesi proteica
Oxazolidinoni

Chemioterapici (sintetici)

Linezolid

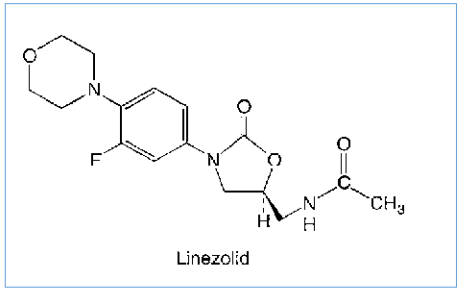


Meccanismo di azione batteriostatica:

- si lega alla subunità 50S inibendo la formazione del complesso di iniziazione

Ristretto spettro di azione:

- Gram+ (*Staphylococcus, Enterococcus, Listeria monocytogenes, Clostridium difficile*)
- attivo vs ceppi multi-antibiotico resistenti (VRSA, vancomycin-resistant *S. aureus*; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*)
- *Mycobacterium tuberculosis*



Tossicità:

- Disturbi gastroenterici (anoressia, nausea, vomito)

Farmaci antitubercolari
Isoniazide, etambutolo, pirazinamide

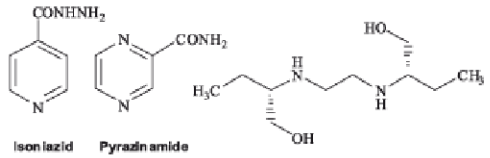
La terapia delle infezioni sostenute da *M. tuberculosis* è complicata da una serie di caratteristiche strutturali, funzionali e patogenetiche:

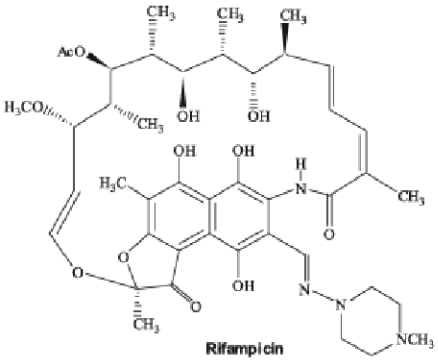
- involucri parietali cellulari, la cui complessità strutturale e chimica si oppone all'attraversamento degli antibiotici
- localizzazione intracellulare (difficile accesso agli antibiotici)
- a crescita lenta (necessità di terapia di lunga durata, fino a 9 mesi; scarsa compliance ed aumentata probabilità di comparsa di resistenze)
- infezione tubercolare secondaria a AIDS epidemico (difficile attuazione della terapia nei Paesi in via di sviluppo)

I farmaci antitubercolari attualmente in uso sono: isoniazide, etambutolo, rifampicina, pirazinamide, streptomicina.

Generalmente utilizzati in combinazione per prevenire l'insorgenza di resistenze.

Farmaci antitubercolari
Isoniazide, etambutolo, pirazinamide





Isoniazide

- idrazide dell'acido nicotinico
- battericida: inibisce la sintesi degli acidi micolici
- complicanze neurologiche

Etambutolo

- sintetico
- batteriostatica: inibisce la polimerizzazione dell'arabinoglicano di parete cellulare
- neurite ottica

Pirazinamide

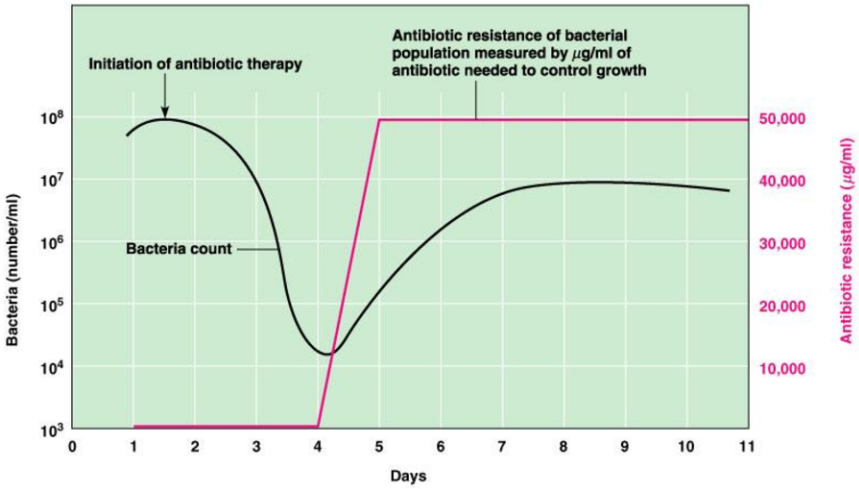
- analogo della nicotinamide
- meccanismo non ancora chiaro: convertito ad acido pirazinoico che acidifica l'ambiente intracellulare con effetto letale; inibizione della sintesi degli acidi micolici
- favorisce insorgenza di resistenza: utilizzato in associazione con altre molecole
- epatotossico

Resistenza ai farmaci antimicrobici
Tipologie

Microrganismo antibiotico-resistente: microrganismo che non può essere inibito nella crescita od ucciso alle concentrazioni farmacologiche della molecola raggiungibili al sito di infezione a seguito di somministrazione di una dose terapeutica «abituale».

La antibiotico-resistenza indica una parziale o totale perdita di attività da parte di un antibiotico vs microrganismo precedentemente sensibile.

Predice il possibile fallimento della terapia antibiotica.



Resistenza ai farmaci antimicrobici

Tipologie di resistenza:

- **NATURALE** (intrinseca): la refrattarietà all'azione della molecola dipende dalla mancanza del bersaglio biologico o dalla presenza di peculiari strutture cellulari che interferiscono con il meccanismo di azione della molecola:
  - meccanismo evoluto a livello di specie: intrinseca (innata), quindi immutabile nel tempo e si manifesta in TUTTI i ceppi della STESSA specie
  - Gram- (*E. coli*) vs glicopeptidi e penicilline (incapacità di attraversare la membrana esterna)
  - Clamidie e Micoplasmi vs β-lattamici (assenza di parete cellulare)

La **resistenza NATURALE**, essendo un carattere prevedibile in quanto noto, non **pone particolari problemi** al Clinico nella scelta della terapia antibiotica

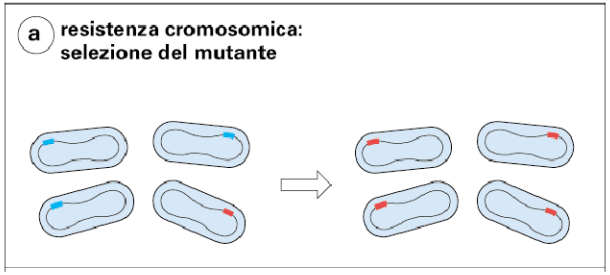
- **ACQUISITA**: comparsa di ceppi resistenti in una specie naturalmente sensibile ad un dato farmaco antibatterico:
  - cromosomica: mutazione spontanea
  - extra-cromosomica: acquisizione di determinanti genetici a localizzazione plasmidica o transposonica

La **resistenza ACQUISITA** può essere la **causa di insuccessi terapeutici** qualora venga instaurata una terapia antibiotica senza aver preventivamente saggiato la sensibilità *in vitro* del patogeno ai farmaci (**antibiogramma**)

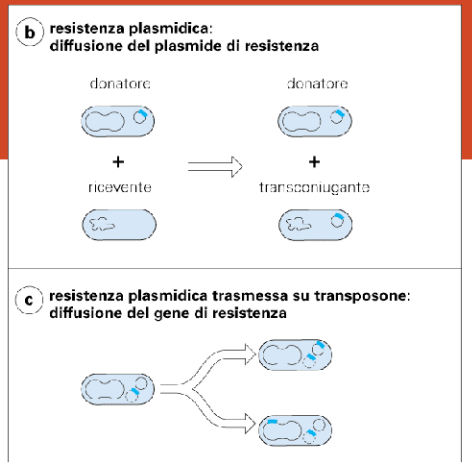
Resistenza «acquisita» ai farmaci antimicrobici
Le basi della resistenza genetica

RESISTENZA CROMOSOMICA

- causata da mutazioni spontanee: **molto rare** (1 evento ogni 10^6-10^8 cellule), causano il 10-15% delle resistenze
- la resistenza può essere dovuta ad un meccanismo:
  - «single-step»: una singola mutazione può causare la sintesi alterata di una proteina, oppure la sostituzione di un aminoacido (diidropteroato-sintetasi)
  - «multi-step»: c'è bisogno di una serie di mutazioni per modificare la proteina (PBPs, proteine che legano la penicillina)
- la presenza dell'antibiotico esercita una **azione selettiva** (seleziona i mutanti, inibendo le cellule sensibili)
- la resistenza **interessa solo l'antibiotico verso cui sono stati isolati i mutanti** resistenti
- gli stessi mutanti possono essere resistenti anche ad altri antibiotici con caratteristiche similari (**resistenza crociata** o cross-resistenza)
- a **trasmissione verticale** (da cellula madre a cellula figlia)

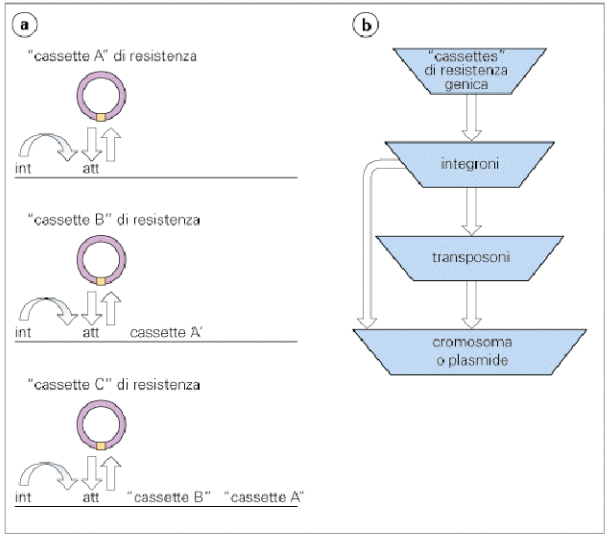


Resistenza «acquisita» ai farmaci antimicrobici
Le basi della resistenza genetica

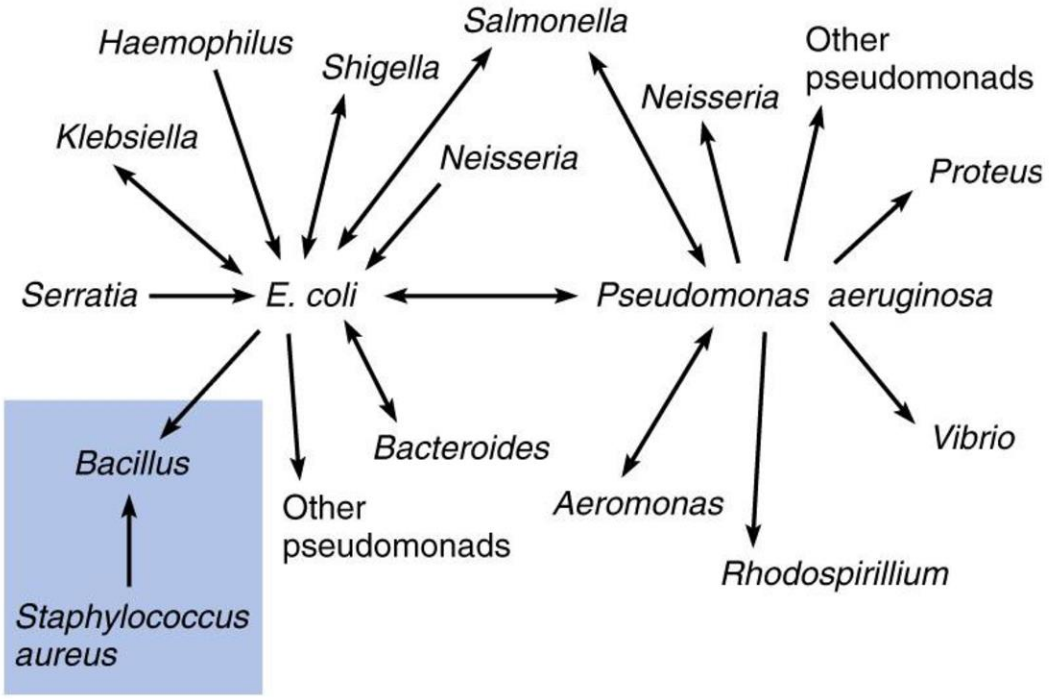


RESISTENZA EXTRA-CROMOSOMICA

- **elevata frequenza** di insorgenza, responsabile della maggior parte (90% circa) delle resistenze
- si origina a seguito di acquisizione di nuova informazione genetica derivante da altri microrganismi, mediante i **meccanismi di trasferimento di materiale genetico** (coniugazione, trasformazione, trasduzione)
- è dovuta a **geni localizzati su elementi extra-cromosomici mobili** (plasmidi, elementi trasponibili)
- la resistenza **interessa più antibiotici** (resistenza multipla)
  - gli elementi mobili possono contenere differenti determinanti di resistenza (ossia diversi geni codificanti per resistenza ad antibiotici di differenti classi) organizzati a formare un integrone (o «cassetta»)
- a **trasmissione orizzontale**: diffusione tra cellule appartenenti alla stessa specie o tra specie differenti (resistenza «contagiosa»)



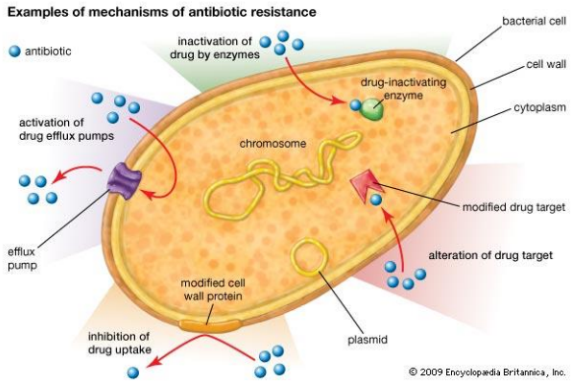
Resistenza «acquisita» ai farmaci antimicrobici
Resistenza «contagiosa»



Resistenza ai farmaci antimicrobici
Meccanismi di resistenza

I meccanismi responsabili di antibiotico-resistenza possono essere riconducibili alle seguenti tipologie:

- **produzione di enzimi inattivanti il farmaco,** i cui metaboliti sono biologicamente inattivi:
  - β -lattamasi (β-lattamici)
  - trasferasi (aminoglicosidi, cloramfenicolo)
- **modificazione del bersaglio cellulare**, e conseguente mancato riconoscimento da parte del farmaco:
  - penicillin-binding proteins (penicilline, cefalosporine)
  - subunità DNA-girasi (chinoloni, novobiocina)
  - subunità-β della RNA-polimerasi (rifamicine)
  - subunità 50S (macrolidi, lincosamidi)
  - DPS (sulfamidici), DHFR (trimethoprim)
- **alterata permeabilità cellulare al farmaco,** atta a ridurre la sua [intracellulare]:
  - ridotta permeabilità cellulare al farmaco (*Pseudomonas* vs aminoglicosidi)
  - aumentato efflusso del farmaco (tetracicline)
- **inattivazione dell'enzima attivante il «profarmaco»,** e mancata attivazione a «farmaco»:
  - mutazione katG (isoniazide)



Resistenza ai farmaci antimicrobici
Meccanismi di resistenza

Mechanism	Activity	Antibiotics affected	Examples
Enzyme inactivation or degradation	Splitting of amide bond in β-lactam antibiotics.	β-lactams, chloramphenicol	β-lactamase (TEM-1) GNRs,[1] *Haemophilus influenzae, Neisseria gonnorrhoeae*; ESBLs[2] (TEM-3, SHV-1 &2, 0XA-1, K1(OXY-1) CTX-M) *E coli, K pneumoniae*
Decreased cell membrane permeability	Porins (protein channels) in outer layer of GNRs allow hydrophilic and small molecules in; block larger molecules. Decreased uptake.	Imipenem — small Carbenicillin — large Aminoglycosides	PSE-1, *Pseudomonas* spp. CARB-4 *P aeruginosa, S marcescens* *P aeruginosa*
Efflux	Membrane transport system acts to pump antibiotics out of cell	Tetracycline from GNRs; macrolides from GPC[3]	*E coli, Shigella* spp. *S pneumoniae and S aureus*
Altered target sites (caused by point mutation)	Alteration of a ribosome disrupts inhibition of protein synthesis and cell growth.	Tetracycline Aminoglycosides	*S aureus, Bacteroides fragilis, Clostridium perfringens, Helicobacter pylori* *Enterococci*
Altered target enzymes	Target proteins in peptidoglycan layer (PBPs[4]); decreased affinity for antibiotic; can be lost, replaced, or induced by exposure (e.g., growth at lower temperature).	β-lactams Quinolones	*S pneumonia, mecA* in *S aureus* (MRSA) *Enterococcus faecium, N gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, H influenzae*; DNA gyrase, *gyrA* in GNRs, *S aureus*
Protection of target site	Interference with binding to ribosome.	Tetracycline resistance Plasmid-mediated quinolone resistance	*tetM* gene protects ribosome protects from DNA gyrase binding
Overproduction of target site	Chromosomal genes produce excess enzyme; compete with para-aminobenzoic acid.	Sulfonamides Trimethoprim	DHPS[5] *folP* DHFR[6] *folA*

[1]GNRs, Gram-negative rods
[2]ESBLs, extended-spectrum-β-lactamases
[3]GPC, Gram-positive cocci
[4]PBP, penicillin-binding protein
[5]DHPS, dihydropteroate synthesis
[6]DHFR, dihydrofolate reductase

Adapted from Opal SM, Medeiros AA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia, PA; Elsievier Churchill, Livingstone Inc. 2005;(1):253-270.

Resistenza ai farmaci antimicrobici
Meccanismi di resistenza

La antibiotico-resistenza può essere causata **da uno o più meccanismi di resistenza che possono coesistere ed interagire in maniera sinergica**

Particolarmente nel caso degli antibiotici che presentino più meccanismi di resistenza, **l'attività antibatterica sarà funzione inversa del grado di utilizzo della molecola in terapia**.

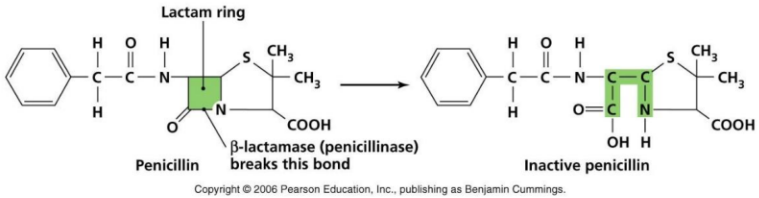
In questi casi, sarà maggiore la possibilità di insorgenze di resistenze a fronte di una pressione selettiva (terapia antibiotica).

RESISTENZA AGLI AGENTI ANTIMICROBICI			
antibatterici	**meccanismo di resistenza**		
	bersaglio alterato	alterato assorbimento	inattivazione del farmaco
beta-lattamici	+	+	+
glicopeptidi	+		
aminoglicosidi	+	+	+
tetracicline	+	+	
cloramfenicolo		+	+
macrolidi	+	+	+
lincosamidi	+		
streptogramine	+		
oxazolidinoni	+		
acido fusidico	+		
sulfonamidi/ trimethoprim	+	+	
chinoloni	+	+	
rifampicina	+		

Meccanismi di resistenza
1. Produzione di enzimi inattivanti il farmaco

PRODUZIONE DI β-LATTAMASI

β-lattamasi: enzimi che idrolizzano il legame amidico dell'anello β-lattamico causandone l'apertura con formazione di metaboliti biologicamente inattivi



Tipologia: **descritte centinaia di varianti enzimatiche**, sulla base della differente affinità per i diversi β-lattamici

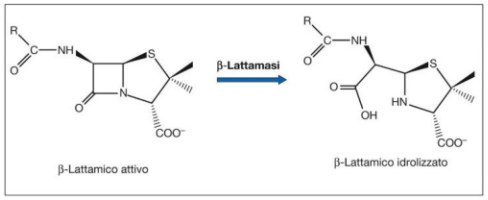
- penicillinasi: dirette vs penicilline (ac. 6-aminopenicillanico → ac. penicilloico)
- cefalosporinasi: dirette vs cefalosporine (ac. 7-aminocefalosporanico → ac. cefalosporoico)
- ad ampio spettro: metallo-β-lattamasi, ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamases)

Localizzazione:

- Gram+: **inducibili** (in presenza di antibiotico), **esocellulari** (liberati nell'ambiente extracellulare)
- Gram-: **costitutivi** (indipendente dalla presenza di antibiotico), **intracellulari** (spazio periplasmico)

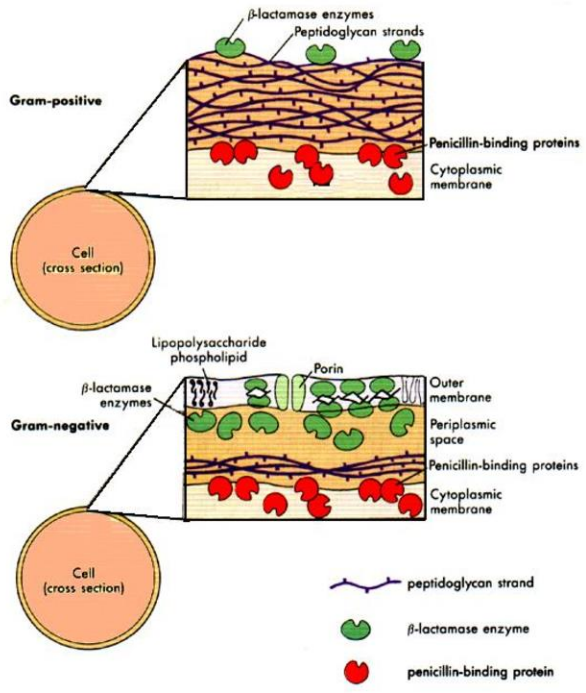
Controllo:

- **cromosomico** (cefalosporinasi nei Gram-)
- **plasmidico** (*S. aureus, P. aeruginosa, H. influenzae*)
- **trasposonico** (Tn2-Tn3, *Enterobacteriaceae / Pseudomonas*)



Meccanismi di resistenza
1. Produzione di enzimi inattivanti il farmaco

LOCALIZZAZIONE DELLE β-LATTAMASI



CLASSIFICAZIONE DELLE β-LATTAMASI

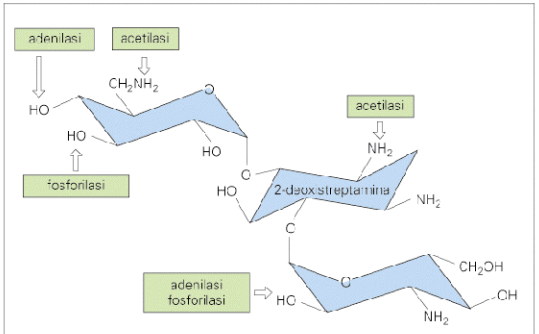
Bush-Jacoby-Medeiros (Integron) system	Ambler system	Enzyme activity — Examples
Group 1 cephalosporinases	C	Chromosomal AmpC resistance (usual) to β-lactams, except carbapenems; not inhibited by clavulanic acid (e.g., *Enterobacteriaceae*, except *Salmonella* and *Klebsiella*)
Group 2 penicillinases	D	Staphylococcal penicillinases;TEM-1, TEM-2, SHV-1 (broadspectrum); TEM and SHV variants (e.g., ESBLs,1 cephalosporinase inhibited by clavulanic acid; carbapenemases inhibited by clavulanic acid)
	A	Oxacillin-hydrolyzing, OXA; cloxacillin; ESBL cephalosporins; weak activity for carbapenems (e.g,. *A baumannii*)
Group 3 metallo-β-lactamase	B	Zinc-dependent carbapenemases; resistant to inactivation by clavulanic acid, sulbactam, tazobactam, some to aztreonam; (bla_{VIM-1}, bla_{VIM-2}) *Pseudomonas aeruginosa* ... IMP (e.g., *Pseudomonas putida, Serratia marcescens, A baumannii, K pneumoniae, Klebsiella oxytoca*, et al. NDM-1 in *E coli, K pneumoniae, Enterobacter cloacae*)

Adapted from: Rice LB, Bonomo RA. Mechanisms of Resistance to Antibacterial Agents. In: Murray PR, Jorgensen JH, Pfaller MA, et al, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Vol. 1. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2007:1114-1130. 1 ESBLs — extended-spectrum-β-lactamases.

Meccanismi di resistenza
1. Produzione di enzimi inattivanti il farmaco

RESISTENZA AGLI AMINOGLICOSIDI

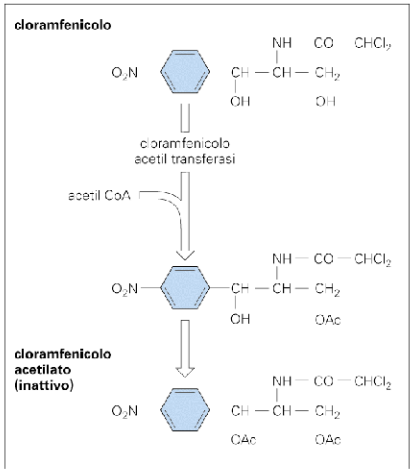
- Il più importante meccanismo acquisito di resistenza agli aminoglicosidi è rappresentato dalla produzione di enzimi (transferasi) che modificano la struttura molecolare.
- In tal modo, la molecola non è più in grado di interagire con il ribosoma (subunità 30S).
- I geni codificanti tali enzimi sono a localizzazione plasmidica o su elementi trasponibili.
- La tipologia degli enzimi posseduti dal microrganismo ne determina lo spettro di resistenza (esteso oppure ristretto).



enzimi che modificano gli aminoglicosidi	gruppi reattivi degli aminoglicosidi	co-fattori	prodotti degli aminoglicosidi prodotti
acetilasi	$-NH_2$	acetyl CoA	$-NHAc$
adenilasi (nucleotidil transferasi)	$-OH$	ATP	$-O-AMP$
fosforilasi	$-OH$	ATP	$-O-PO_2-CH$

RESISTENZA AL CLORAMFENICOLO

- Inattivazione mediante l'aggiunta di un gruppo acetile ad opera di acetil-transferasi (Chloramphenicol AcetylTransferases, CAT), a codificazione plasmidica o trasposonica.



Meccanismi di resistenza
2. Modificazione del bersaglio cellulare

La modificazione del bersaglio (dell'antibiotico) è dovuta ad **eventi di mutazione**; essa non ne compromette la funzionalità biologica ma ne previene l'interazione con il farmaco.

Esempi più comuni e clinicamente rilevanti:

- mutazioni dei geni codificanti per DNA-topoisomerasi tipo II (fluorochinoloni)
- mutazioni del gene codificante per subunità β della RNA-pol DNA-dipendente (rifampicina)
- produzione di Penicillin-Binding Proteins (PBPs) mutate, con ridotta affinità per i β-lattamici (*S. pneumoniae*):
  - nuove sequenze codificanti PBPs vengono acquisite per trasformazione, quindi ricombinano con geni «originali» codificanti per PBPs formando dei «mosaici» genici.

Il bersaglio molecolare può subire anche una **modificazione biochimica** che lo rende insensibile all'antibiotico:

- metilazione di RNA ribosomiale 23S ad opera di metilasi specifiche (geni *erm*) che conferisce a molti Gram+ resistenza a macrolidi e lincosamidi
- metilazione di RNA ribosomiale 16S ad opera di metilasi specifiche (geni *rmt*, *arm*) che conferisce ai Gram- resistenza agli aminoglicosidi
- impedito accesso dell'antibiotico (glicopeptide) al dimero D-ala+D-ala: trasformazione in D-ala+lattato (enterococchi) oppure sintesi di una proteina che crea impedimento sterico (stafilococchi)

Meccanismi di resistenza
3. Alterata permeabilità cellulare al farmaco

L'espressione del fenotipo di resistenza è conseguente alla ridotta concentrazione intracellulare del farmaco, che può derivare da un **ridotto uptake** (ingresso attraverso membrana esterna, porine) oppure da una **aumentata espulsione** del farmaco (sistemi di efflusso attivo).

Il **ridotto uptake** del farmaco può essere dovuto a:

- membrana esterna (Gram- vs glicopeptidi)
- diminuita/mancata espressione di porine (porina oprD2 di *P. aeruginosa* vs carbapenemici)

La **aumentata espulsione** del farmaco è dovuta alla presenza di sistemi di efflusso in grado di espellere il farmaco: contro gradiente di concentrazione, utilizzando ATP (od il gradiente protonico di membrana) come sorgente di energia. La loro aumentata espressione si associa alla comparsa del fenotipo di resistenza.

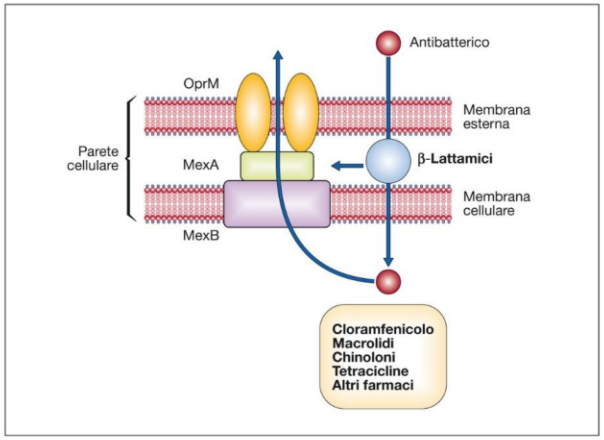
Esistono sistemi «multidrugs», cromosomiali, in grado di espellere molecole appartenenti a differenti classi:

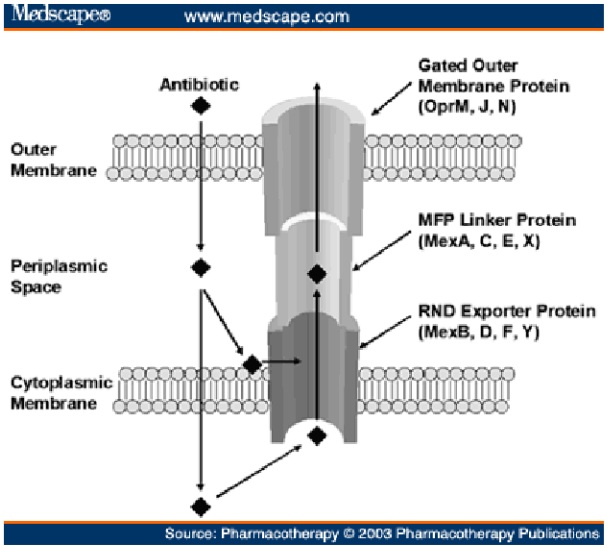
- MexA-MexB-OprM in *P. aeruginosa* vs β-lattamici, cloramfenicolo, macrolidi, chinoloni, tetracicline
- NorA in *S. aureus* vs chinoloni e cloramfenicolo

Sistemi «targeted», plasmidici, in grado di espellere soltanto specifiche classi di antibiotici:

- geni *tet* (tetracicline), *mef* (macrolidi), *qepA* (chinoloni)

Meccanismi di resistenza
3. Alterata permeabilità cellulare al farmaco





Struttura e funzionamento delle pompe di efflusso del complesso "MexAB-OprM" di *P. aeruginosa*. Gli antibiotici vengono "sequestrati" nello spazio periplasmico, dalla membrana citoplasmatica, e/o nello spazio citoplasmatico da MexB, D, F, o Y (RND, resistance-nodulation-division exporter proteins). MexA, C, E, o X (MFP, membrane fusion proteins) fungono da "canale" tra le membrane citoplasmatica ed esterna. OprM, J, o N (gated outer membrane porin proteins) consentono la fase finale di rimozione dell'antibiotico dalla cellula.

Attività antimicrobica di alcuni antibiotici antibatterici

Attività battericida

β-lattamici

Bacitracina

Chinoloni

Glicopeptidi

Polimixina

Rifamicine

Sulfamidici + Trimethoprim

Fosfomicina

Aminoglicosidi

Isoniazide

Attività batteriostatica

Cloramfenicolo

Macrolidi

Sulfamidici

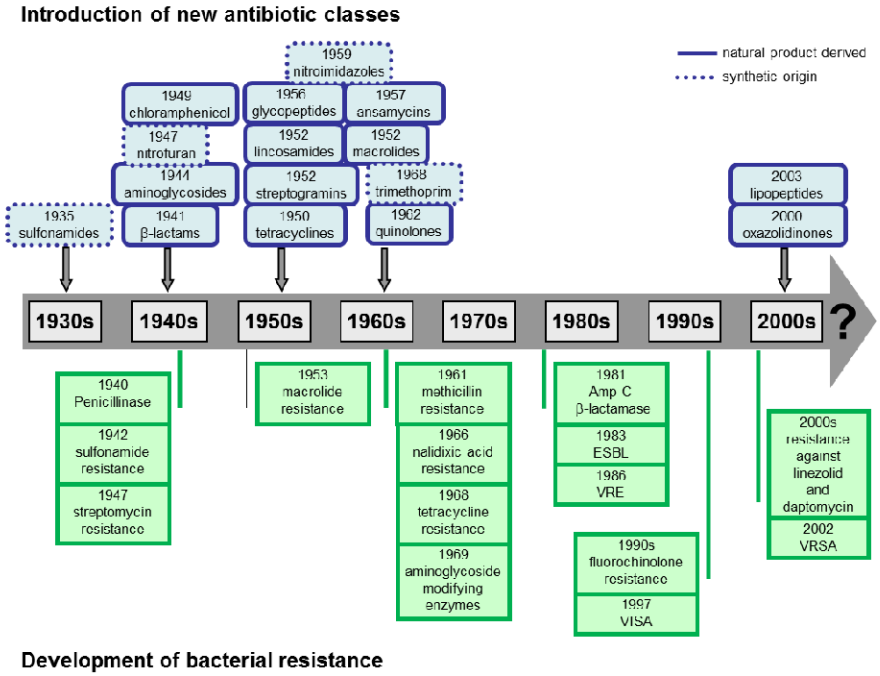
Trimethoprim

Tetracicline

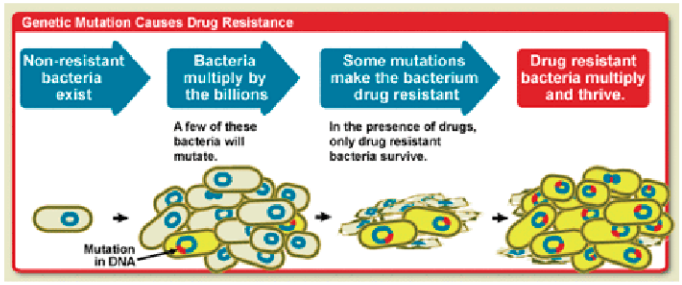
Nitrofurani

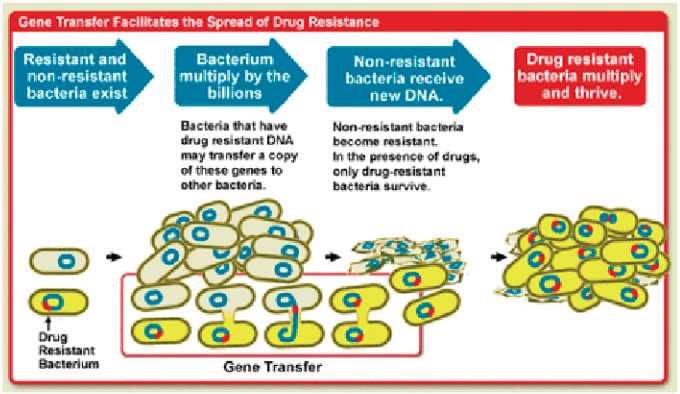
Spectinomicina

Resistenza ai farmaci antimicrobici
«Evoluzione» temporale



Resistenza ai farmaci antimicrobici
Le cause «naturali»





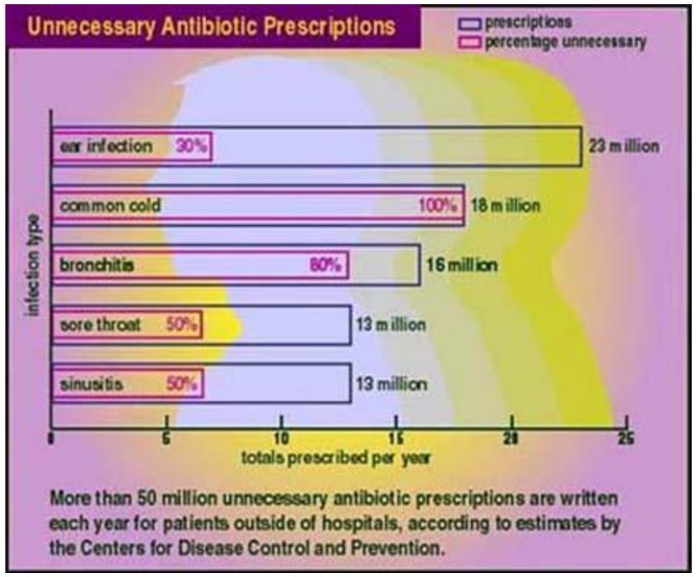


Resistenza ai farmaci antimicrobici
Le cause «artificiali»

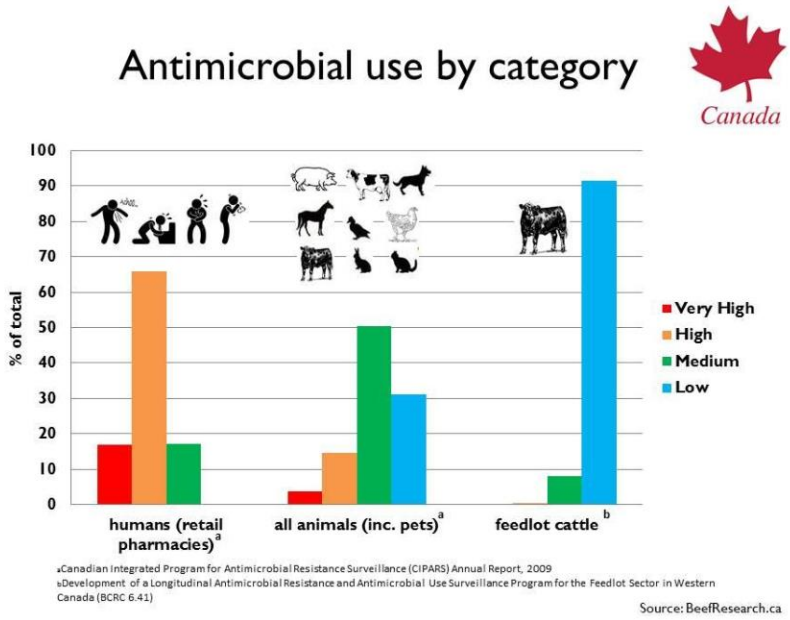
Lo sviluppo della antibiotico-resistenza è correlato al livello di impiego degli antibiotici.

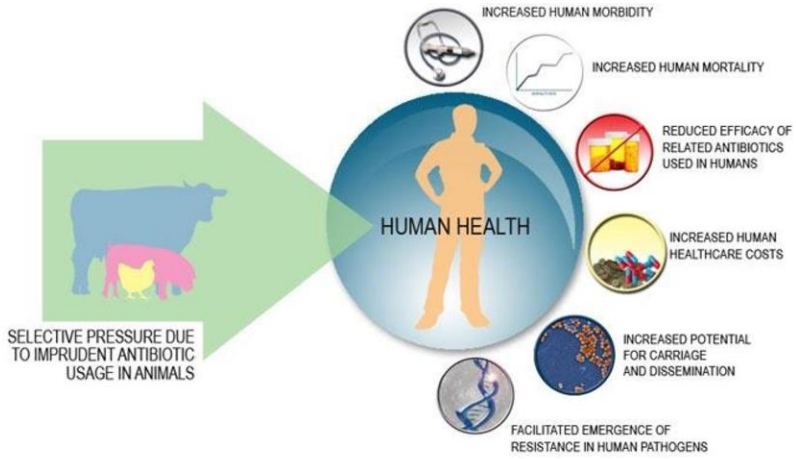
L'abuso (od un uso non corretto) ha aumentato l'incidenza e la selezione delle mutazioni associate a resistenza:

- uso inappropriato (pediatrico per infezioni virali, prescrizioni errate, utilizzo senza controllo medico)
- profilassi in chirurgia
- uso empirico (agente eziologico ignoto)
- aumentato uso di antibiotici ad «ampio spettro»
- scarsa compliance del paziente
- uso di antibiotici con funzione di «probiotici» nei mangimi animali

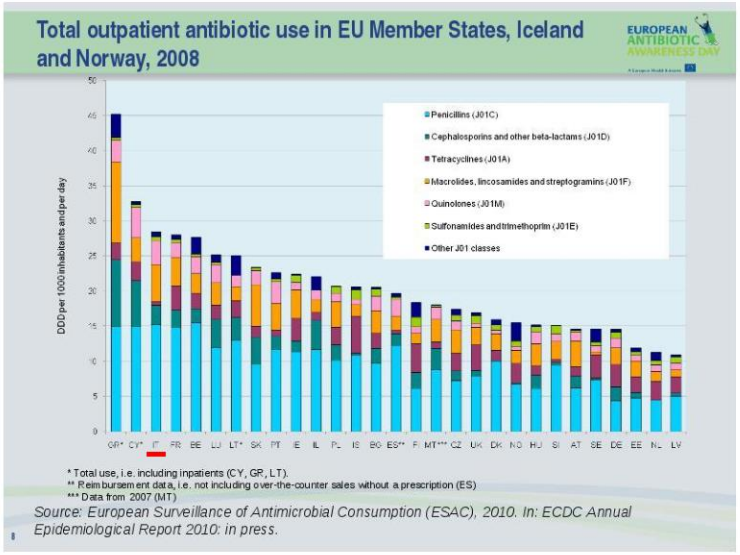


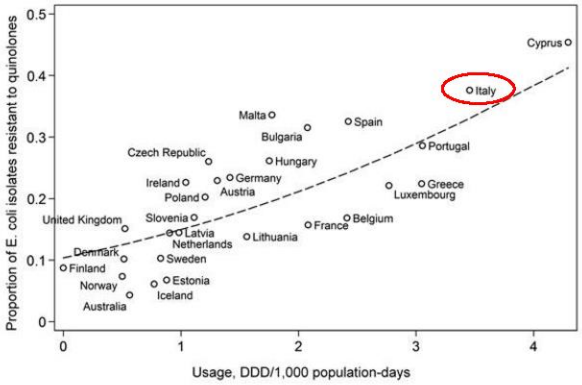
Resistenza ai farmaci antimicrobici
Le cause «artificiali»: impiego di antibiotici in zootecnia

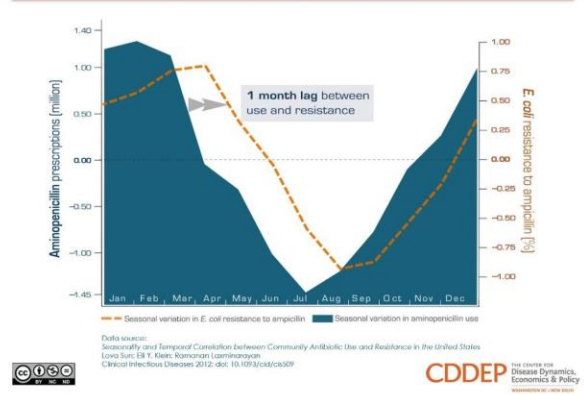


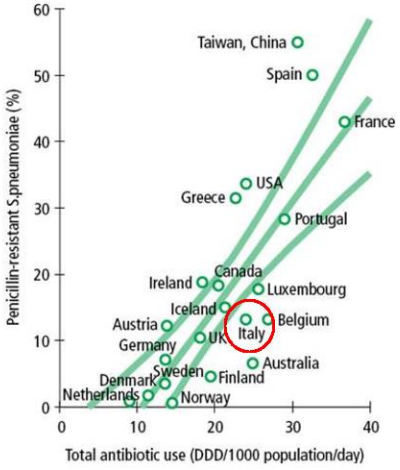


Resistenza ai farmaci antimicrobici
Le cause «artificiali»: impiego di antibiotici e resistenza

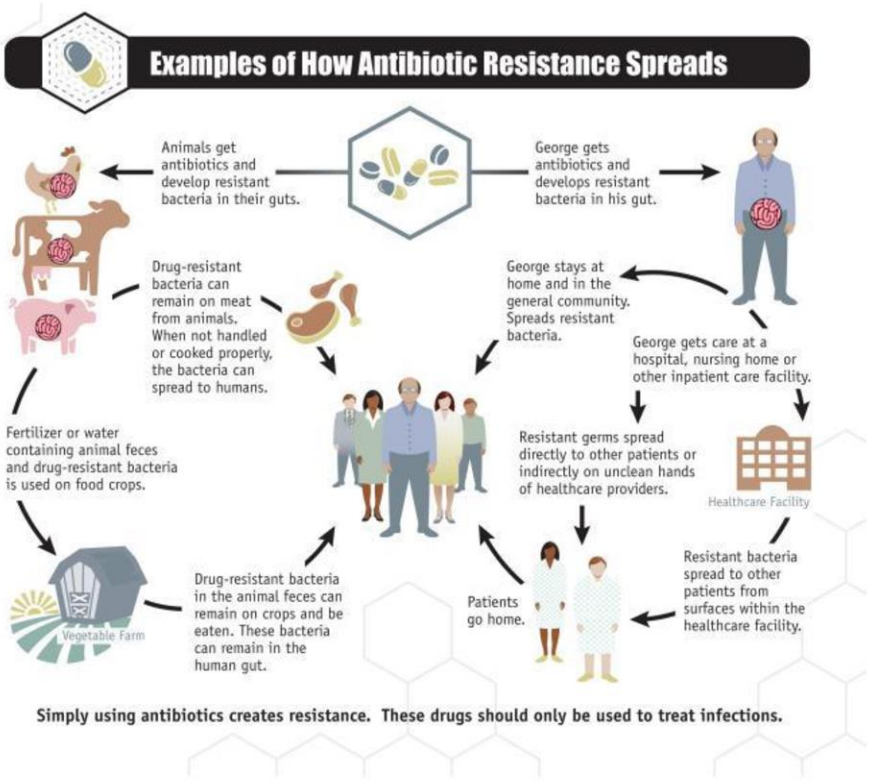








Resistenza ai farmaci antimicrobici
La diffusione



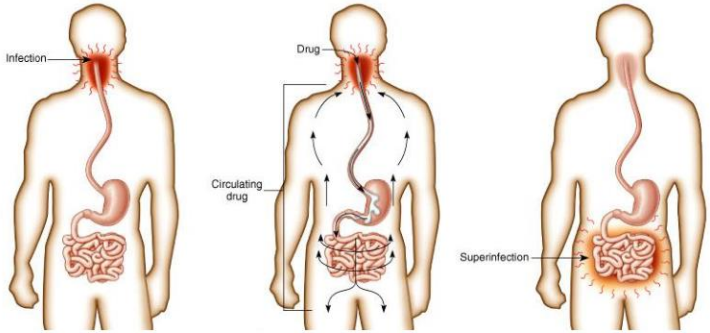
Source: CDC.gov, Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013

Resistenza ai farmaci antimicrobici
Danno all'ospite

- Tossicità di organo (oto-, neuro-, nefro-, gastro-, emato-, odonto-, etc.)
- Reazioni allergiche
- Modifica i rapporti quali- e quantitativi tra le specie microbiche (dismicrobismo), causando superinfezioni
  - enterocolite da *Clostridium difficile*
  - candidiasi vaginale (*C. albicans*)



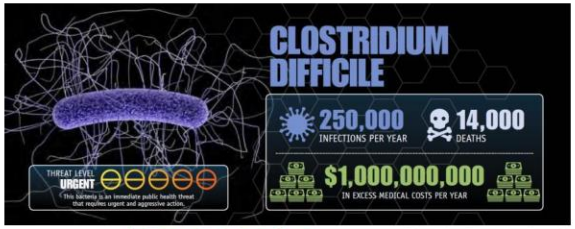
Alterazione della dentina causata da uso di tetracicline



Dismicrobismo e superinfezione

Resistenza ai farmaci antimicrobici
Le «dimensioni» del fenomeno

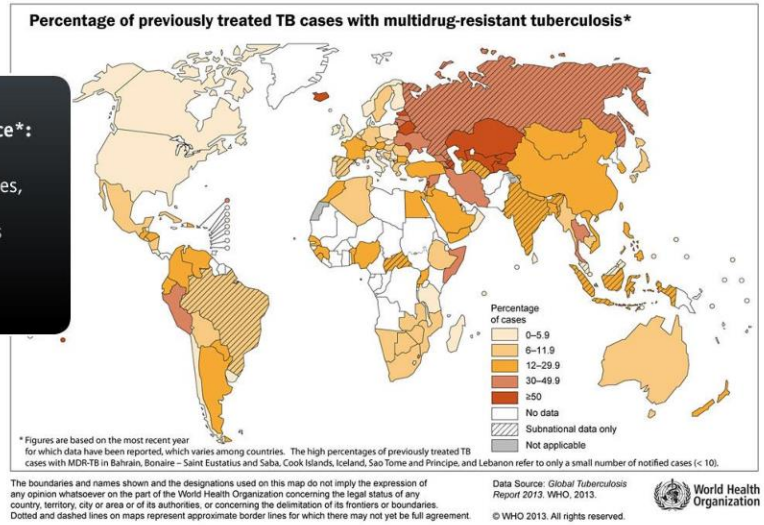
CDC's three "urgent" resistant pathogens







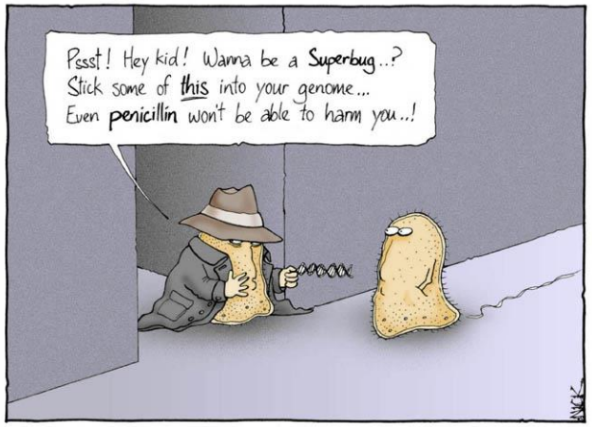




Il tasso di mortalità dei pazienti affetti da tubercolosi multi-resistente è pari a circa il 90%

Resistenza ai farmaci antimicrobici
Come cercare di arginare il fenomeno

- Evitare l'impiego ripetuto della stessa molecola
- Modificare l'antibiotico per eludere il meccanismo di resistenza
- Usare combinazioni antibiotiche
- Ridurre il consumo di antibiotici
  - educazione sanitaria, limitare l'uso di mangimi animali
- Aumentare la compliance del paziente
  - educazione sanitaria
- Sviluppo di nuove molecole
  - peptidi naturali: magainine (da rane e squali), BMAPs (bovini)
- Ottimizzazione delle tecniche per la determinazione dell'antibiotico-sensibilità



It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.