

ZANICHELLI

Fabio Fanti

**Biologia,
microbiologia
e tecniche di
controllo sanitario**

Capitolo 5

Il controllo della crescita microbica

1. Adottare la corretta terminologia

Disinfezione: eliminazione dei patogeni (*disinfettante*)

Antisepsi: disinfezione su tessuto vivente (*antisettico*)

Asepsi: tecniche per impedire la contaminazione

Sanitizzazione: disinfezione per ridurre la carica microbica e minimizzare le trasmissibilità delle infezioni

Sterilizzazione: distruzione di tutti i microrganismi

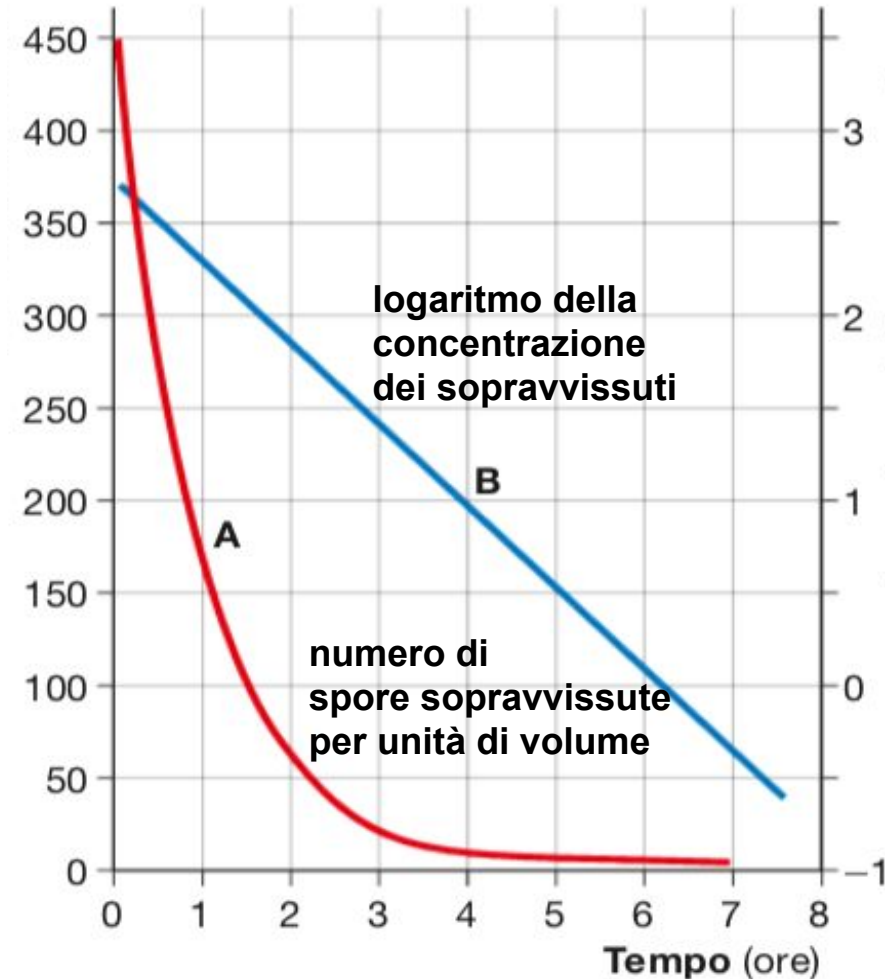
Microbicida: sostanza o azione che elimina microrganismi

Microbiostatico: sostanza o azione che ferma la crescita dei microrganismi

1. Adottare la corretta terminologia

Condizioni che influenzano l'attività degli antimicrobici

- Numero iniziale di microrganismi
- Tipo di microrganismo
- Concentrazione dell'agente chimico
- Stato fisiologico delle cellule
- Condizioni ambientali
- Temperatura
- Durata del trattamento
- Caratteristiche proprie dei microrganismi



2. I meccanismi d'azione degli antimicrobici

**Danneggiamento
della parete
cellulare**

**Alterazione delle
proteine e degli
acidi nucleici**

**Alterazione della
permeabilità delle
membrane cellulari**

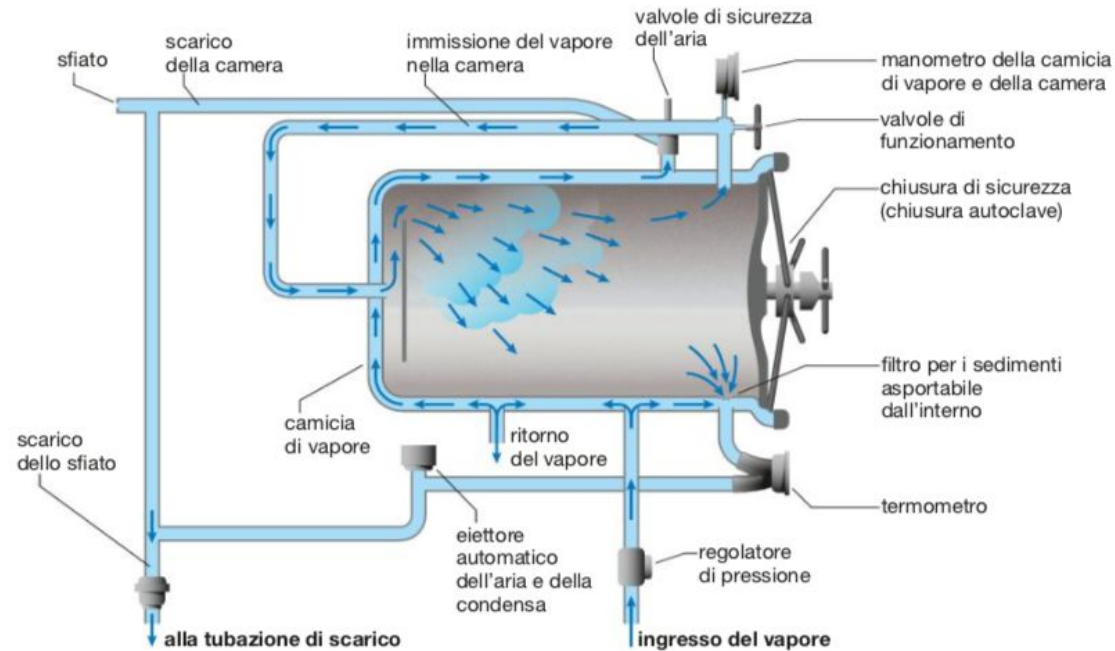
Antimetaboliti

3. Agenti fisici e crescita microbica

| Agente fisico | Meccanismi - Metodi |
|---|--|
| Alte temperature Calore secco | Ossidazione dei i costituenti chimici (<i>Stufe ad aria calda, Incenerimento</i>) |
| Calore umido | Denaturazione delle proteine (<i>Ebollizione, Pastorizzazione, Autoclave, Tindalizzazione</i>) |
| Basse temperature | Rallentamento o blocco della crescita microbica (<i>Refrigerazione, Congelamento</i>) |
| Filtrazione | Separazione fisica dei microrganismi |
| Disidratazione e liofilizzazione | Allontanamento di acqua, e blocco della crescita. |
| Pressione osmotica | Induzione della plasmolisi e disidratazione |
| Radiazioni Raggi UV - Raggi gamma | Danni al DNA |

3. Agenti fisici e crescita microbica

Calore umido



| Metodo | Usi raccomandati | Limitazioni |
|---------------------------------|---|--|
| Calore umido | | |
| Autoclave | Sterilizzazione di strumenti, biancheria, utensili e bacinelle, terreni di coltura e altri liquidi. | Inefficace contro microrganismi in materiali resistenti al vapore; non può essere usato per articoli termosensibili. |
| Vapore fluente o acqua bollente | Distruzione di organismi patogeni asporigeni; sanitizzazione di biancherie e coperte da letto, indumenti e stoviglie. | Non è garantito che sterilizzi con una sola esposizione. |
| Pastorizzazione | Eliminazione dei patogeni negli alimenti, senza intaccare le caratteristiche organolettiche | |
| Tindalizzazione | Sterilizzazione di materiali che non sopportano le condizioni di T e P dell'autoclave | |

3. Agenti fisici e crescita microbica

Calore umido

Alcuni tempi di distruzione di spore batteriche mediante calore umido

| Organismo | Tempo di distruzione, min | | | | | | | |
|------------------------------------|---------------------------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|----------|
| | A 100 °C | A 105 °C | A 110 °C | A 115 °C | A 120 °C | A 125 °C | A 130 °C | A 134 °C |
| <i>Bacillus anthracis</i> | 2 ÷ 15 | 5 ÷ 10 | | | | | | |
| <i>B. subtilis</i> | Molte ore | | | | | | | |
| Un batterio anaerobio putrefattivo | 780 | 170 | 41 | 15 | 5,6 | | | |
| <i>Clostridium tetani</i> | 5 ÷ 90 | 5 ÷ 25 | | | | | | |
| <i>C. welchii</i> | 5 ÷ 45 | 5 ÷ 27 | 10 ÷ 15 | 4 | 1 | | | |
| <i>C. botulinum</i> | 300 ÷ 530 | 40 ÷ 120 | 32 ÷ 90 | 10 ÷ 40 | 4 ÷ 20 | | | |
| <i>C. sporogenes</i> | 150 | 45 | 12 | | | | | |
| Batteri del suolo | Molte ore | 420 | 120 | 15 | 6 ÷ 30 | 4 | | 1,5 ÷ 10 |
| Batteri termofili | | 400 | 100 ÷ 300 | 40 ÷ 110 | 11 ÷ 35 | 3,9 ÷ 8,0 | 3,5 | 1 |

3. Agenti fisici e crescita microbica

Filtrazione

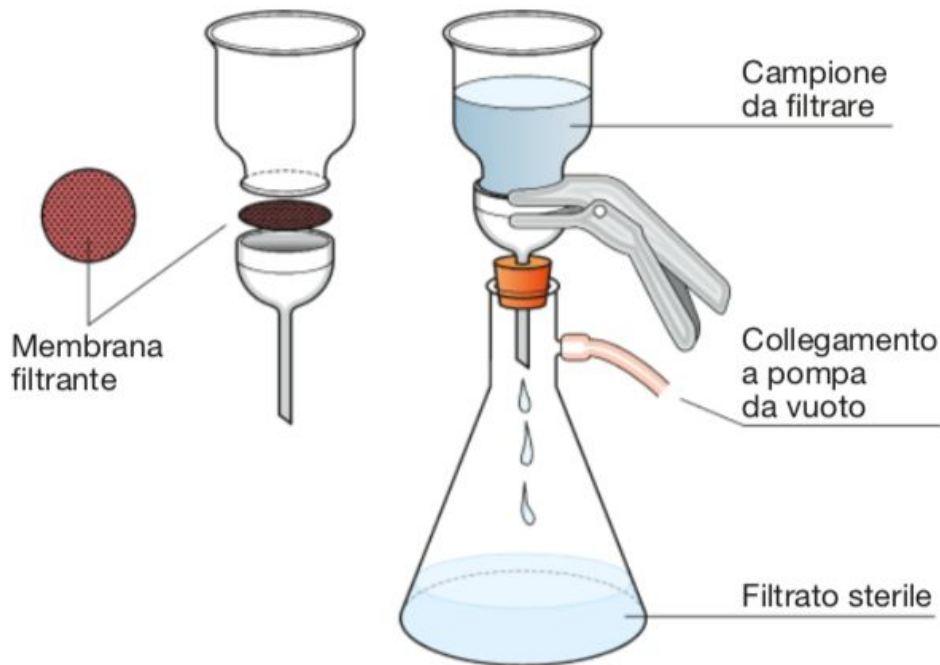


Figura 5.6 Filtrazione. Gli apparecchi per filtrazione sono costituiti da un imbuto in cui è messa la soluzione da sterilizzare, un recipiente sterile in cui è raccolta la soluzione sterilizzata e una membrana filtrante. Questa apparecchiatura è impiegata in laboratorio per il conteggio dei microrganismi, trasferendo la membrana dopo la filtrazione su terreni agarizzati e contando le colonie sviluppate dopo incubazione.

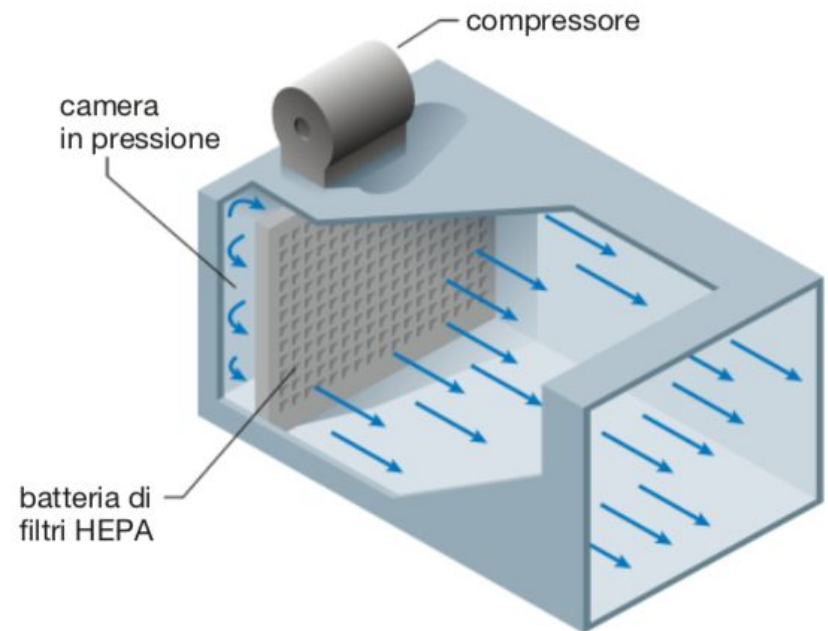


Figura 5.7 Sistema a corrente d'aria laminare. Disegno schematico di una galleria a corrente d'aria laminare orizzontale. Le frecce nella galleria indicano che le linee di flusso dell'aria sono parallele.

4. Agenti chimici antimicrobici

Criteria per la scelta corretta del disinfettante

- Natura del materiale da trattare
- Microorganismo su cui si intende agire
- Concentrazione del disinfettante
- Condizioni ambientali (pH, T, sostanze organiche presenti)
- Tempi di contatto con il disinfettante

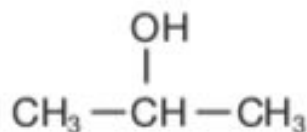
4. Agenti chimici antimicrobici

Alcoli, composti fenolici

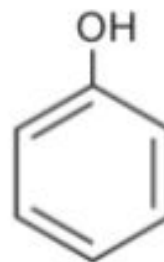
| Natura chimica | Forma e concentrazione d'uso | Modalità e spettro d'azione | Applicazioni | Caratteristiche importanti |
|--------------------------|--|---|---|---|
| Alcoli | | | | |
| Etanolo Isopropanolo | Soluzione acquosa al 70-85% | Denaturano le proteine e sciolgono i lipidi. Inattivi su spore batteriche, alcuni virus e bacillo tubercolare | Antisettici della cute a bassa efficacia | Infiammabili. Irritanti per gli occhi. Tossici per ingestione |
| Composti fenolici | | | | |
| Fenolo Timolo | Soluzione acquosa: 1-5% Soluzione al 2% | Denaturano le proteine e alterano la membrana batteriche. Prevalente azione antimicotica | Non più usato se non per ferri chirurgici Incorporato in colluttori e dentifrici | Irritante, tossico e corrosivo |



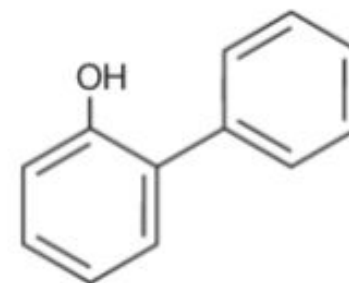
Etanolo



Isopropanolo



Fenolo



Ortofenilfenolo

4. Agenti chimici antimicrobici

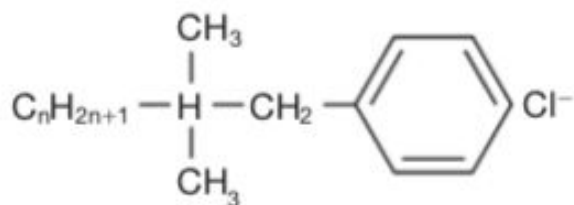
Alogeni

| Natura chimica | Forma e concentrazione d'uso | Modalità e spettro d'azione | Applicazioni | Caratteristiche importanti |
|---|---|---|---|---|
| <p><i>Preparati a base di iodio</i> Tintura di iodio: (I₂ + KI in soluzione idroalcolica)</p> <p>Iodofori Iodio complessato con tensioattivi e sostanze trasportatrici: iodopovidone</p> | <p>Soluzione idroalcolica di iodio e ioduro di potassio al 3%</p> <p>Composti iodofori in soluzione acquosa (10%) o alcolica (1%)</p> | <p>Lo iodio inattiva le proteine. Agisce contro batteri, funghi, virus ed endospore</p> | <p>Disinfettanti della cute</p> <p>Antisettici cutanei e disinfettanti di attrezzature e superfici</p> | <p>Irritanti per gli occhi. Tossici per ingestione</p> |
| <p><i>Composti del cloro</i> Ipocloriti come l'ipoclorito di sodio (candeggina, amuchina)</p> <p>Clorammina T</p> | <p>Cloro gassoso 1-3 ppm Ipocloriti in soluzione 0,1-5% (candeggina)</p> <p>Soluzione al 2,5%</p> | <p>Azione ossidante. Debolmente attivi sulle spore batteriche</p> | <p>Disinfettanti delle acque e di uso domestico e industriale. Disinfettante della cute. Disinfettante delle acque e della cute</p> | <p>Irritanti e tossici per ingestione</p> <p>Irritante per gli occhi, le vie respiratorie e la cute</p> |

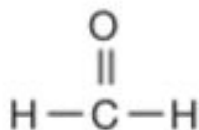
4. Agenti chimici antimicrobici

Tensioattivi, aldeidi

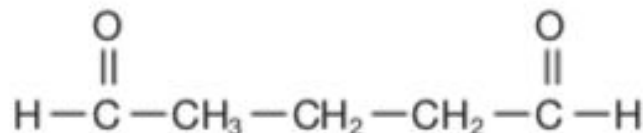
| Natura chimica | Forma e concentrazione d'uso | Modalità e spettro d'azione | Applicazioni | Caratteristiche importanti |
|--|---|--|--|--|
| Tensioattivi | | | | |
| <i>Anionici</i> Saponi | | Asportazione meccanica dei microrganismi | Pulizia personale, domestica e utensili nelle industrie alimentari | Alcuni saponi originano soluzioni alcaline che possono irritare la pelle |
| <i>Cationici</i> Cloruro di benzalconio e altri sali di ammonio quaternario | Soluzione acquosa allo 0,1-2,0% | Alterazione della funzionalità di membrana. Inattivi su spore batteriche, micobatteri, funghi, virus, alcuni Gram- | Antisettici cutanei e nella disinfezione di oggetti e superfici | Tossici per ingestione |
| Aldeidi | | | | |
| Formaldeide | In soluzione acquosa al 10-40% come formalina | Inattivazione delle proteine | Utilizzo limitato ad alcuni materiali ospedalieri | Irritante e tossica con rischio cancerogeno |
| Glutaraldeide | Soluzione al 2% | Attiva su virus, micobatteri e spore con tempi lunghi | Disinfezione di strumenti ospedalieri | Irritante, tossica per inalazione e mutagena |



Cloruro di benzalconio



Formaldeide



Glutaraldeide

4. Agenti chimici antimicrobici

Sterilizzanti gassosi, metalli pesanti, ossidanti

| Natura chimica | Forma e concentrazione d'uso | Modalità e spettro d'azione | Applicazioni | Caratteristiche importanti |
|---|---|--|---|---|
| Sterilizzanti gassosi | | | | |
| Ossido di etilene | Impiegato in impianti di sterilizzazione | Denaturazione delle proteine. Attivo su tutti i gruppi microbici e spore batteriche | Nella sterilizzazione di oggetti sensibili alle alte temperature | Irritante, tossico, esplosivo in forma pura |
| Metalli pesanti | | | | |
| <i>Mercurio</i> come derivati organici (es. mertiolato) | Soluzione allo 0,2%-2% | Precipitano le proteine reagendo con gruppi -SH | Antisettici della cute, conservante per prodotti biologici (vaccini, antisieri) | Velenosi per ingestione. Uso limitato a causa della tossicità |
| <i>Rame</i> come solfato di rame | Soluzioni a concentrazioni variabili | Attività antimicrobica più batteriostatica che battericida | Come fungicida in agricoltura e algicida nelle piscine | |
| Ossidanti | | | | |
| Acqua ossigenata | Alla diluizione del 3% pari a 10 volumi | Agisce da ossidante ma è inattivata dalle catalasi, microbiche e cellulari. Inattiva sulle spore | Disinfettante della cute. Disinfezione di strumenti e lenti a contatto morbide | Sono caustiche le soluzioni a concentrazione maggiore, per esempio al 30% p/v |
| Ozono | Utilizzato in fase gassosa o in soluzione | Agisce da ossidante. Battericida, fungicida e attivo contro i virus | Depurazione delle acque. Deodorazione di ambienti | |

5. I conservanti per le preparazioni alimentari

Utilizzati per prevenire lo sviluppo dei microrganismi e le conseguenti alterazioni microbiche

Sostanze antimicrobiche

- **Anidride solforosa** (E220), industria enologica
- **Acido sorbico** (E200) e **sorbato di potassio** (E202), antimuffa
- **Acido benzoico** (E210), fungicida e battericida nelle bibite analcoliche
- **Difenile** (E230), antimuffa.
- **Nisina** (E234) antifungino
- **Pimaricina**, o **natamicina** (E235), antifungino

Conservanti secondari

- **Acido propionico** (E280), antimuffa e antibatterico.
- **Propionato di calcio**, antimuffa e antibatterico
- **Sodio nitrato** (E250) e **sodio nitrito** (E251), impediscono la germinazione delle spore di *Clostridium botulinum*.
- **Diossido di carbonio** (CO₂), blanda azione antimicrobica.
- **Acido lattico** (E270) addizionato a latticini, a paste per il pane, a conserve vegetali.

Antiossidanti

- **Butilidrossianisolo** (E320), antiossidante
- **Acidi citrico** (E330) e **tartarico** (E334), addizionati a bevande e prodotti da forno.
- **Lecitina** (E322), antiossidante ed emulsionante.

6. Farmaci antimicrobici:

chemioterapici

ottenuti per sintesi
(es.: sulfamidici, chinoloni)

e

antibiotici

prodotti naturalmente da
microrganismi (es.: penicillina,
streptomina)

- Si distinguono: antibatterici (batteriostatici o battericidi), antimicotici, antiprotozoari, antielmintici, antivirali.
- Sono caratterizzati da **tossicità selettiva**: danneggiano i microrganismi senza alterare le strutture dell'ospite
- Possono avere **spettro d'azione limitato** o essere **ad ampio spettro**
- Attraverso un **antibiogramma** è possibile verificare in vitro l'efficacia degli antibiotici.

7. Chemioterapici antibatterici

Sulfamidici

**Acido para -
aminosalicilico**

Isoniazide

Etambutolo

Niroimidazoli

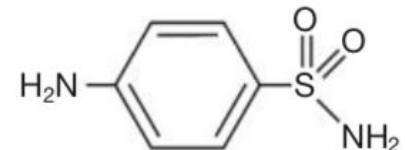
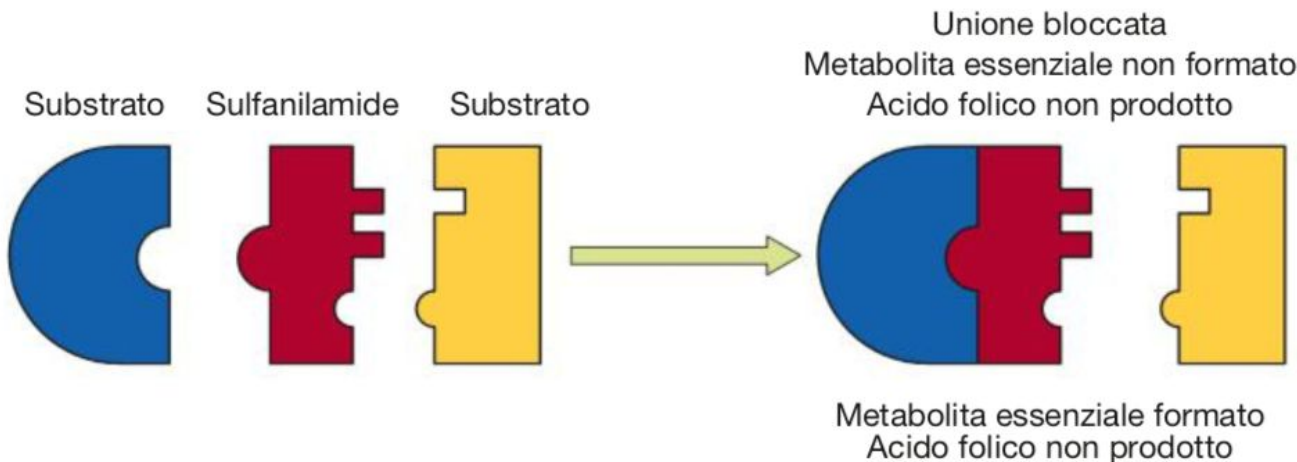
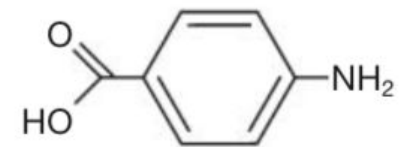
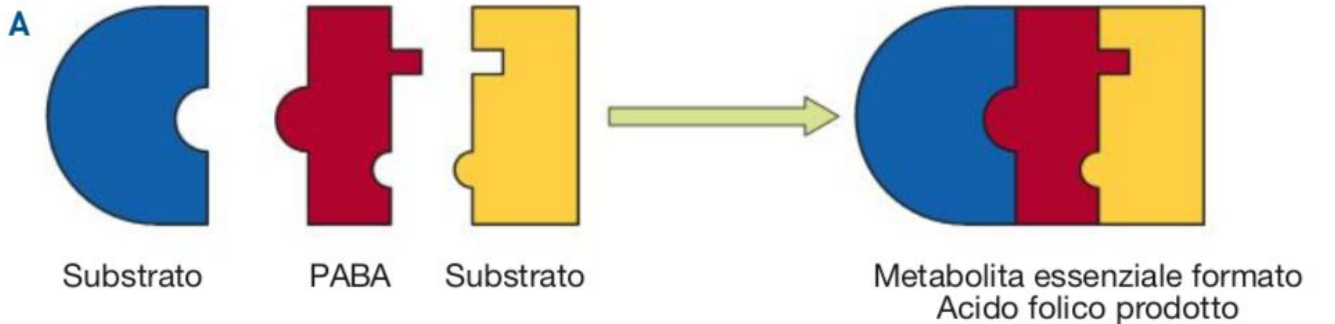
Chinoloni

Nitrofurani

7. Chemioterapici antibatterici

Sulfamidici

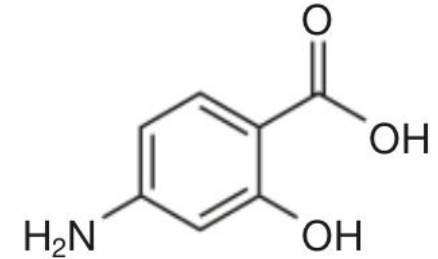
Farmaci batteriostatici che agiscono come antimetaboliti, per analogia di struttura.



7. Chemioterapici antibatterici

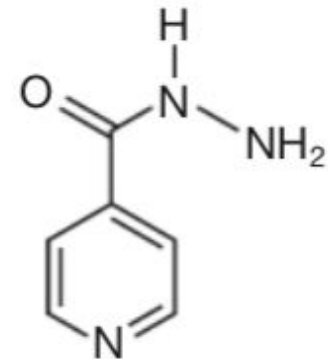
Acido para - aminosalicilico

Derivato dell'acido benzoico, agisce come antimetabolita del PABA



Isoniazide

Inibisce la sintesi degli acidi micolici, tipici dei micobatteri.



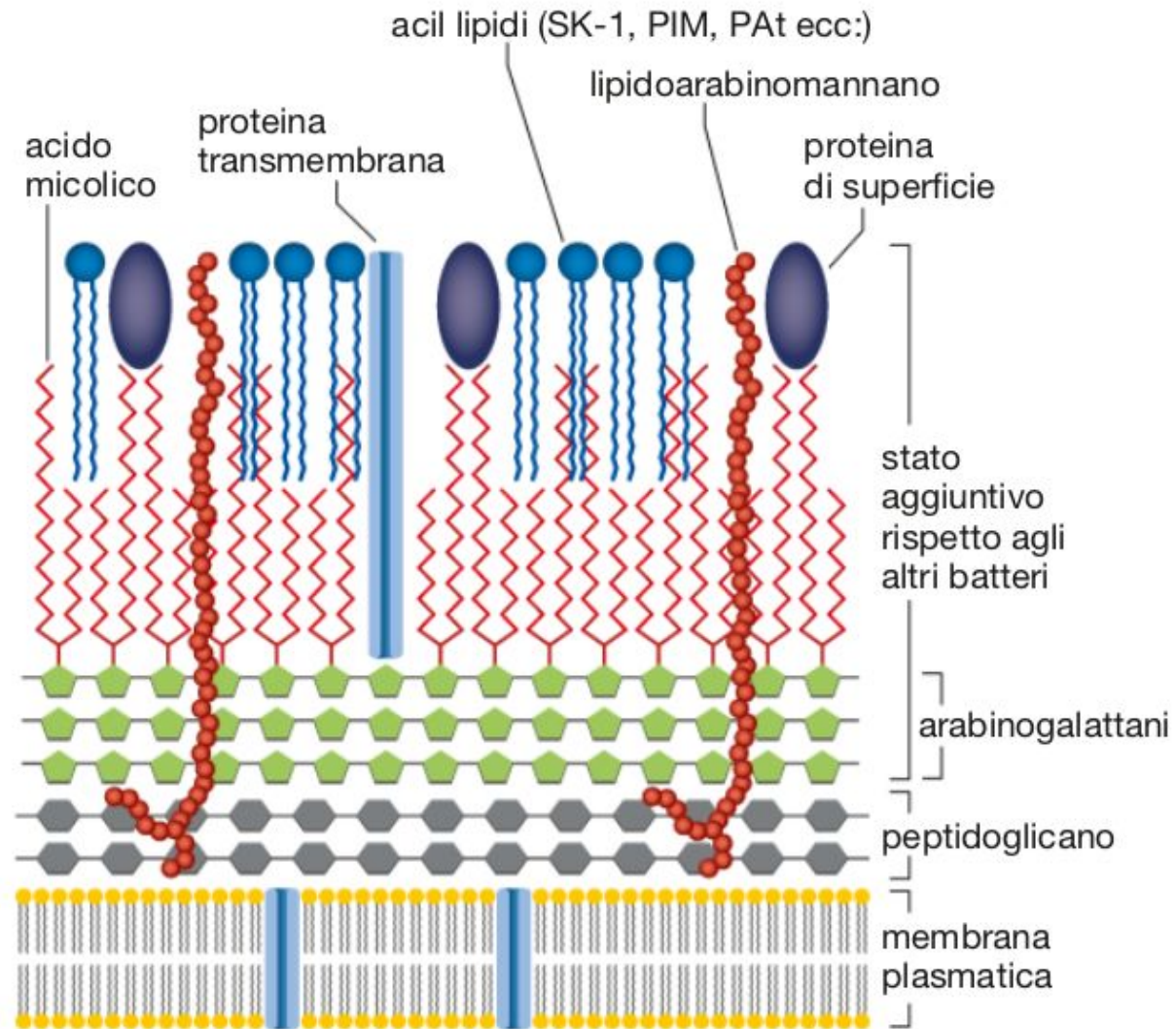
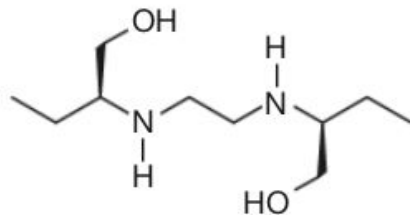
Chinoloni

Acido nalidixico e fluorochinoloni, bloccano la replicazione del DNA. Possono interferire con lo sviluppo delle cartilagini in feti, bambini e adolescenti

7. Chemioterapici antibatterici

Etambutolo

Impiegato nelle infezioni da *Mycobacterium tuberculosis*. Blocca una transferasi, coinvolta nella sintesi della parete cellulare

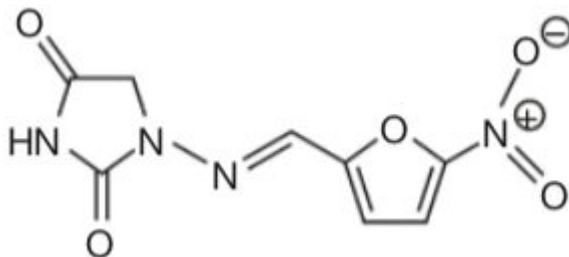


7. Chemioterapici antibatterici

Nitrofurani

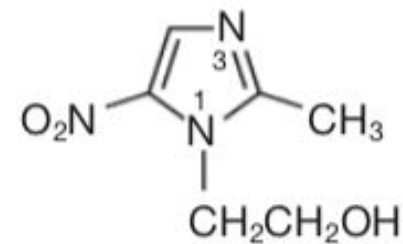
Derivati di vegetali, hanno ampio spettro d'azione su batteri e funghi.

Agiscono sulle funzioni di acidi nucleici e sulla sintesi di acetil-CoA

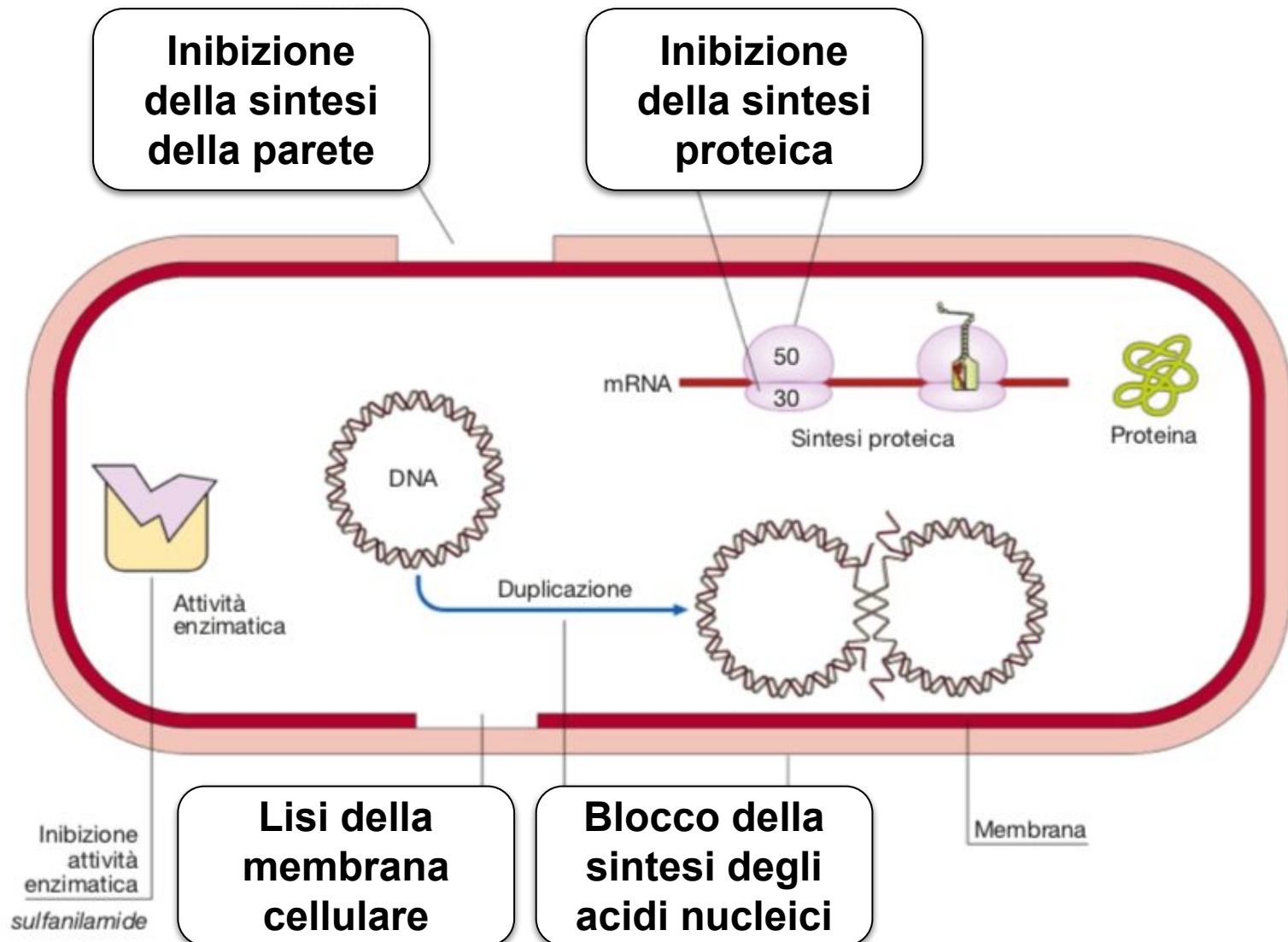


Nitroimidazoli

Agiscono contro batteri anaerobi o microaerofili, o protozoi



8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione



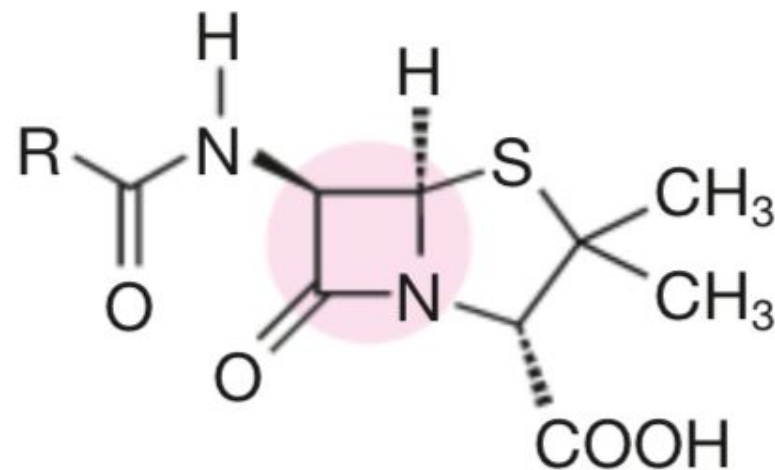
8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione

Antibiotici che inibiscono la sintesi della parete cellulare

Agiscono bloccando gli enzimi responsabili della sintesi del peptidoglicano, con siti di legame per molecole contenenti un anello β - lattamico.

Si distinguono:

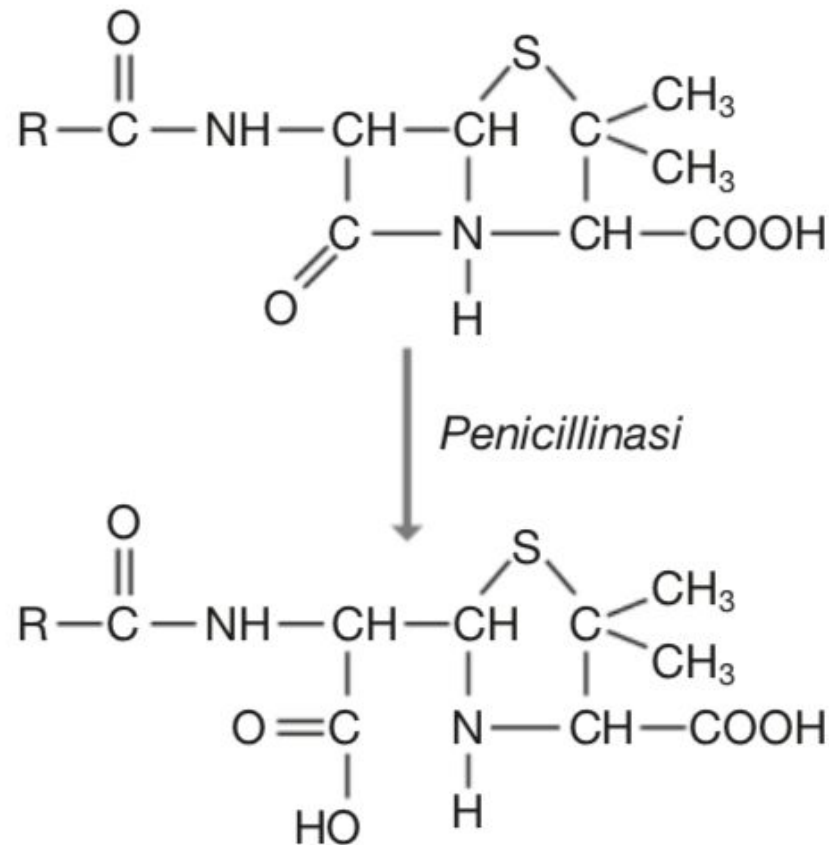
- Penicilline
- Carbapenemi
- Monobattamici
- Cefalosporine
- Antibiotici polipeptidici



anello β - lattamico delle penicilline

8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione

Alcuni batteri sono in grado di produrre *penicillinasi* che inattivano l'anello β - lattamico.



8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione

Antibiotici che provocano la lisi della membrana cellulare

Agiscono alterando la permeabilità della membrana, senza bloccare particolari vie biosintetiche. Sono scarsamente selettivi a causa della similarità tra membrana procariotica ed eucariotica.

Sono esempi:

- polimixina B (infezioni da *Pseudomonas*),
- daptomicina (stafilococchi e streptococchi)
- oritavancina (Gram positivi)

8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione

Antibiotici che bloccano la sintesi degli acidi nucleici

Queste molecole non hanno azione selettiva sui procarioti, e possono quindi dare problemi di tossicità. Sono esempi:

- novobiocina (topoisomerasi 2 batterica),
- mitomicina (farmaco antitumorale),
- actinomicine (inibizione della sintesi di RNA),
- rifamicine (mRNA-polimerasi batterica, usate per micobatteri).

8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione

Antibiotici che bloccano la sintesi proteica

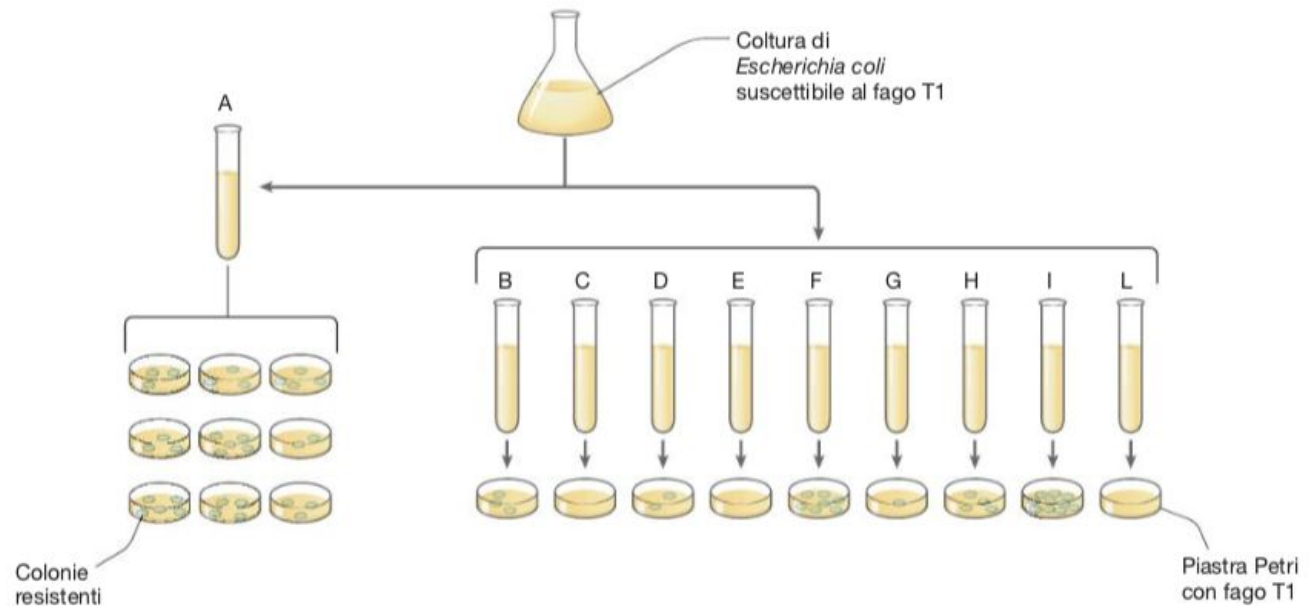
Agiscono sui ribosomi batterici 70S. Si distinguono:

- Aminoglicosidi (Es.: *streptomicina*, *gentamicina*), mostrano tossicità renale e sono dannosi per il nervo acustico.
- Tetracicline, ad ampio spettro, possono provocare dismicrobismi intestinali.
- Macrolidi (*eritromicina*, legionellosi e polmonite da micoplasma)
- Cloramfenicolo, ad ampio spettro, elevata tossicità.
- Streptogramine e Oxazolidinoni (usati in infezioni resistenti alla vancomicina, un antibiotico polipeptidico)
- Teixobactin (attivo contro Gram positivi resistenti)

9. I meccanismi della farmacoresistenza

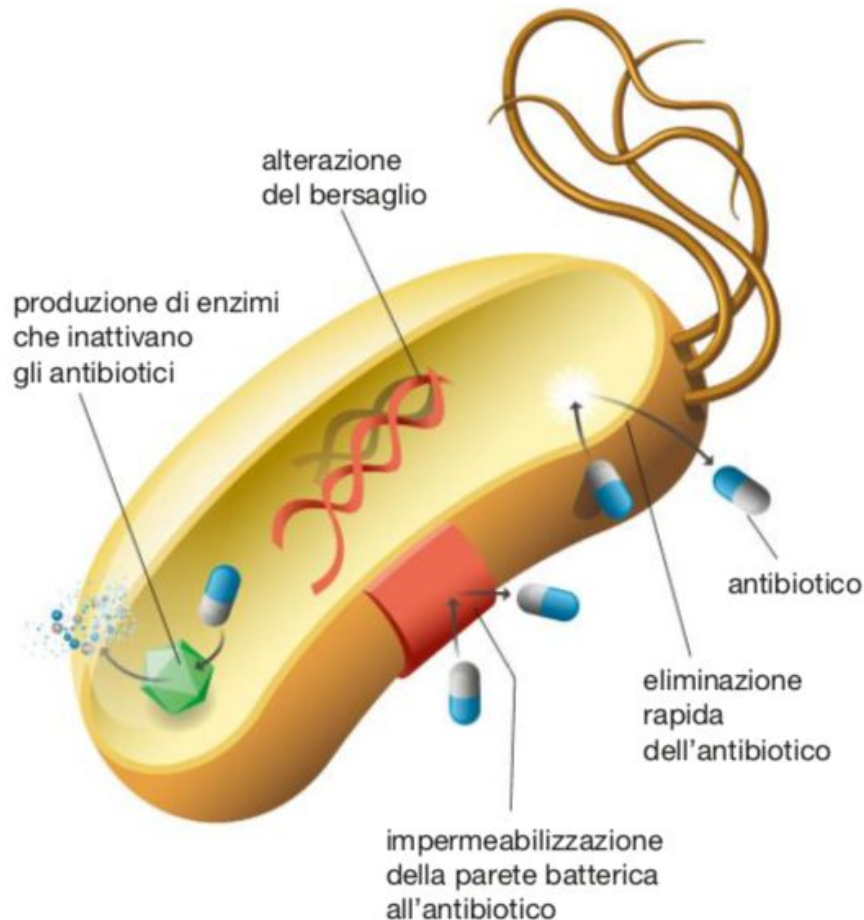
Farmacoresistenza: capacità di un microrganismo di resistere a un antimicrobico a causa di una mutazione cromosomica, (trasmissibile attraverso coniugazione, trasformazione e trasduzione).

L'esperimento di Luria e Delbrück (**test di fluttuazione**) dimostra che il contatto con l'agente antimicrobico agisce come fattore di selezione dei ceppi resistenti, i quali possono poi riprodursi senza competitori.



9. I meccanismi della farmacoresistenza

L' **antibioticoresistenza** si può realizzare con diversi meccanismi



L'OMS ha recentemente messo a punto un elenco di **12 super-batteri** antibiotico-resistenti:

- **Gruppo 1 (critico):** *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*
- **Gruppo 2 (priorità alta):** *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella*, *Neisseria gonorrhoeae*,
- **Gruppo 3 (priorità media):** *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella spp*

10. I farmaci antimicotici e i loro bersagli

Il bersaglio d'azione da colpire per eliminare una micosi è più difficile, perché i funghi sono eucarioti, e i meccanismi metabolici sono diversi.

Possono agire:

- sulla membrana cellulare (costituita da ergosterolo) (polieni, imidazolici)
- sulla parete cellulare (caspofungina)
- sugli acidi nucleici (flucitosina)

11. I farmaci antiprotozoari e antielmintici

Tra i farmaci antielmintici si segnalano:

- *niclosamide*: impedisce la sintesi di ATP in anaerobiosi
- *praziquantel* (tenie), altera la permeabilità delle membrane.
- *albendazolo* e *mebendazolo*, ostacolano l'assorbimento dei nutrienti da parte dei parassiti.
- *ivermectina*, usato in veterinaria, impiegato nell'uomo nella terapia della scabbia e delle infestazioni da pidocchi.

