

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

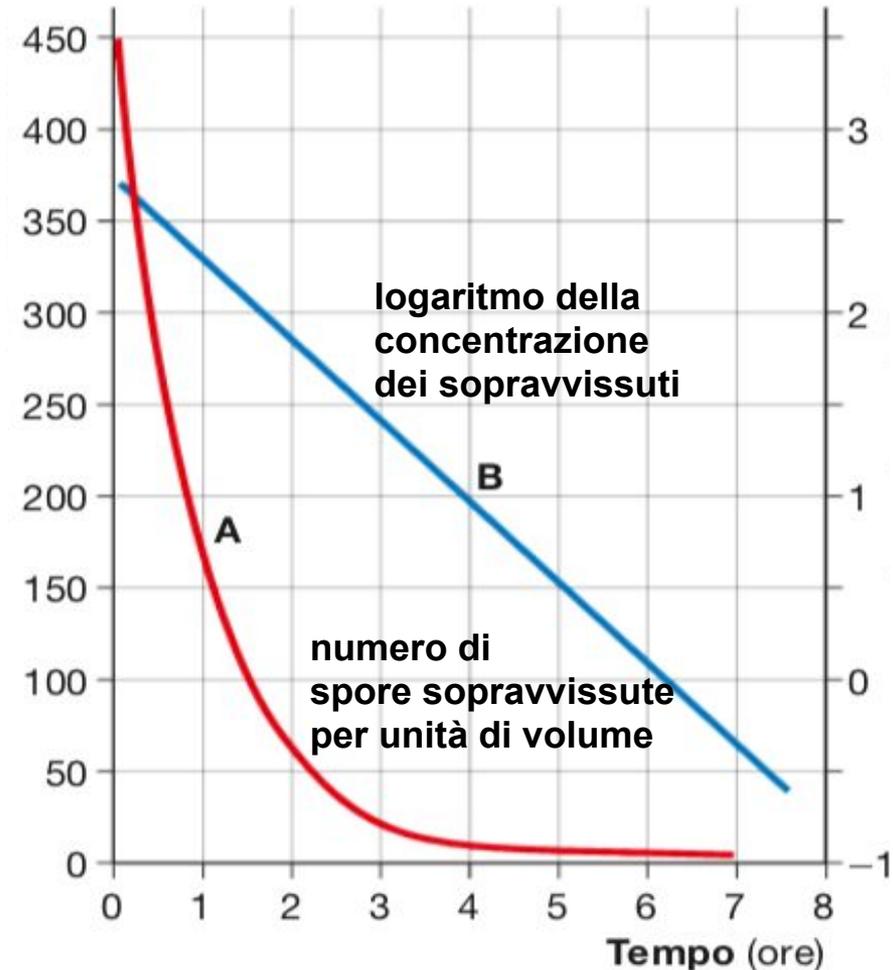
Microbicida: sostanza o azione che elimina microrganismi

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**

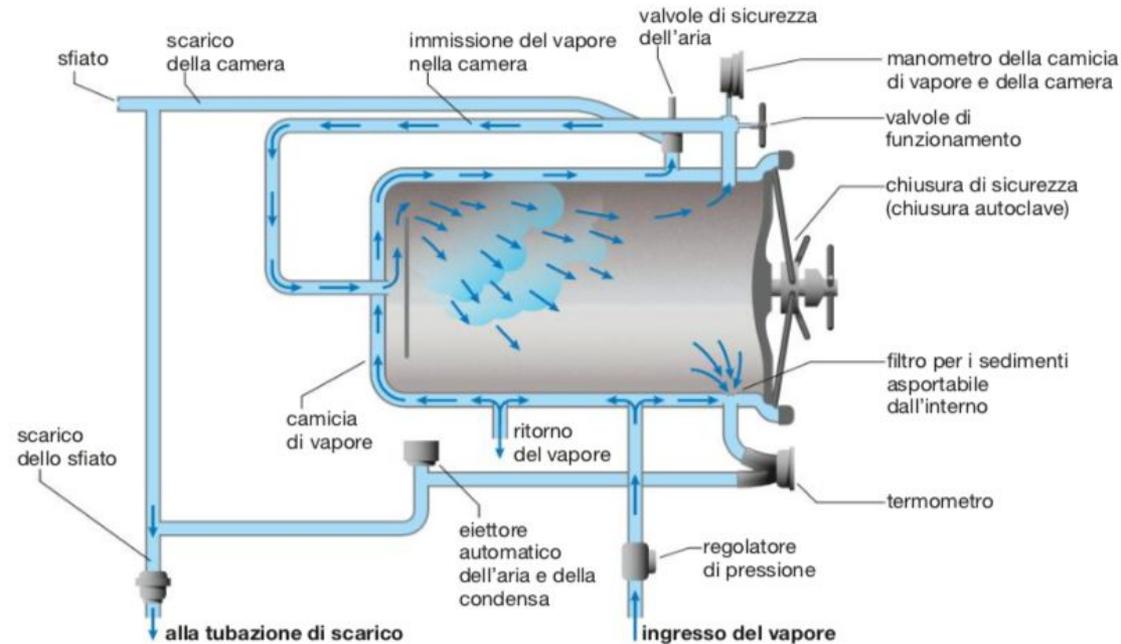
Antimetaboliti

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

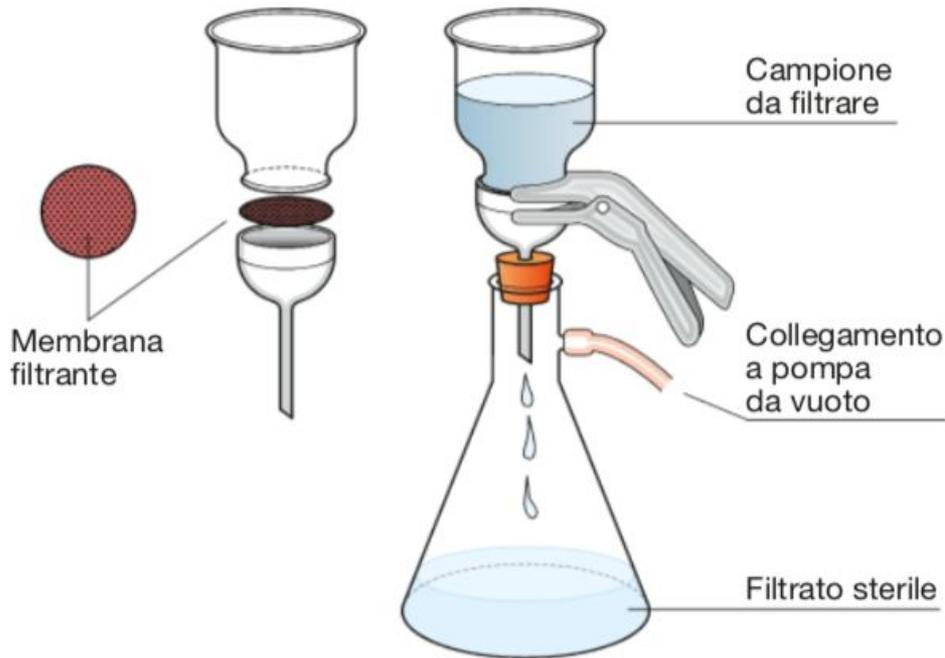


Figura 5.6 Filtrazione. Gli apparecchi per filtrazione sono costituiti da un imbuto in cui è messa la soluzione da sterilizzare, un recipiente sterile in cui è raccolta la soluzione sterilizzata e una membrana filtrante. Questa apparecchiatura è impiegata in laboratorio per il conteggio dei microrganismi,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

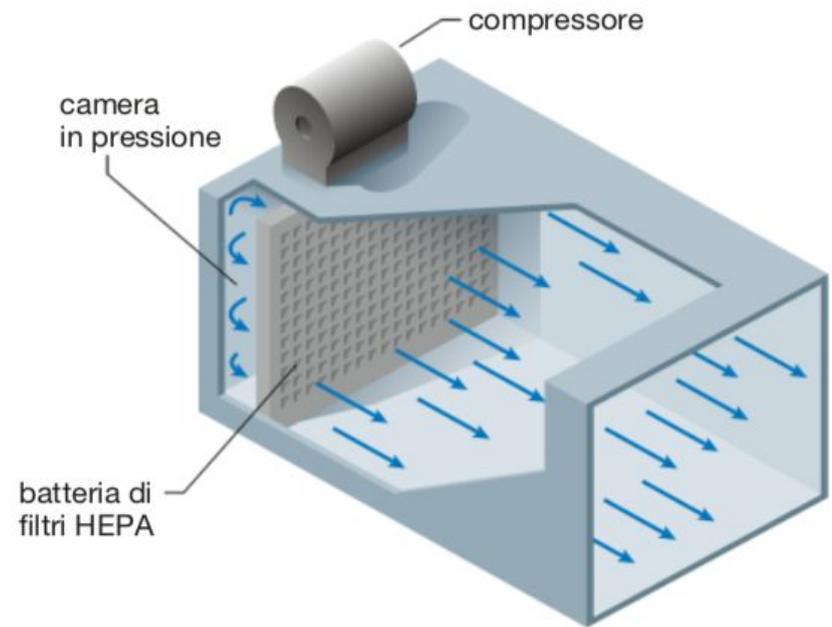


Figura 5.7 Sistema a corrente d'aria laminare. Disegno schematico di una galleria a corrente d'aria laminare orizzontale. Le frecce nella galleria indicano che le linee di flusso dell'aria sono parallele.

4. Agenti chimici antimicrobici

Criteri per la scelta corretta del disinfettante

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

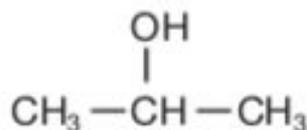
4. Agenti chimici antimicrobici

Alcoli, composti fenolici

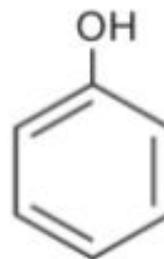
Natura chimica	Forma e concentrazione d'uso	Modalità e spettro d'azione	Applicazioni	Caratteristiche importanti
Alcoli				
Etanolo Isopropanolo	Soluzione acquosa al 70-85%	Denaturano le proteine e sciolgono i lipidi. Inattivi su spore batteriche, alcuni virus e bacillo tubercolare	Antisettici della cute 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



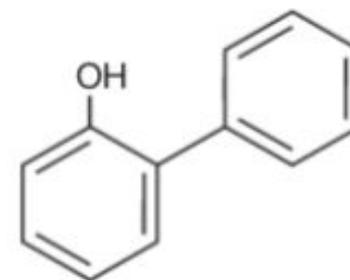
Etanolo



Isopropanolo



Fenolo



Ortofenilfenolo

4. Agenti chimici antimicrobici

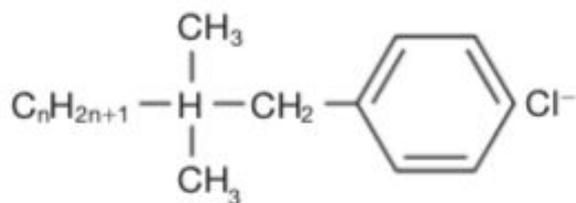
Alogeni

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

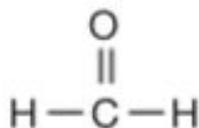
4. Agenti chimici antimicrobici

Tensioattivi, aldeidi

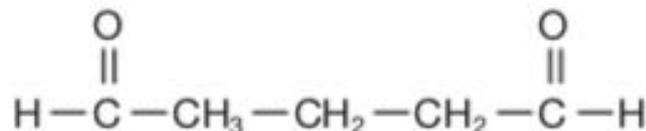
Natura chimica	Forma e concentrazione d'uso	Modalità e spettro d'azione	Applicazioni	Caratteristiche importanti
Tensioattivi				
<i>Anionici</i> Saponi		Asportazione meccanica dei microrganismi	Pulizia personale, domestica e utensili nelle industrie alimentari	Alcuni saponi originano soluzioni alcaline 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

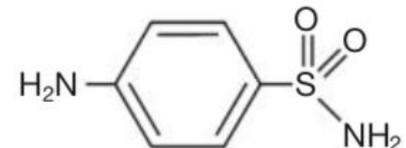
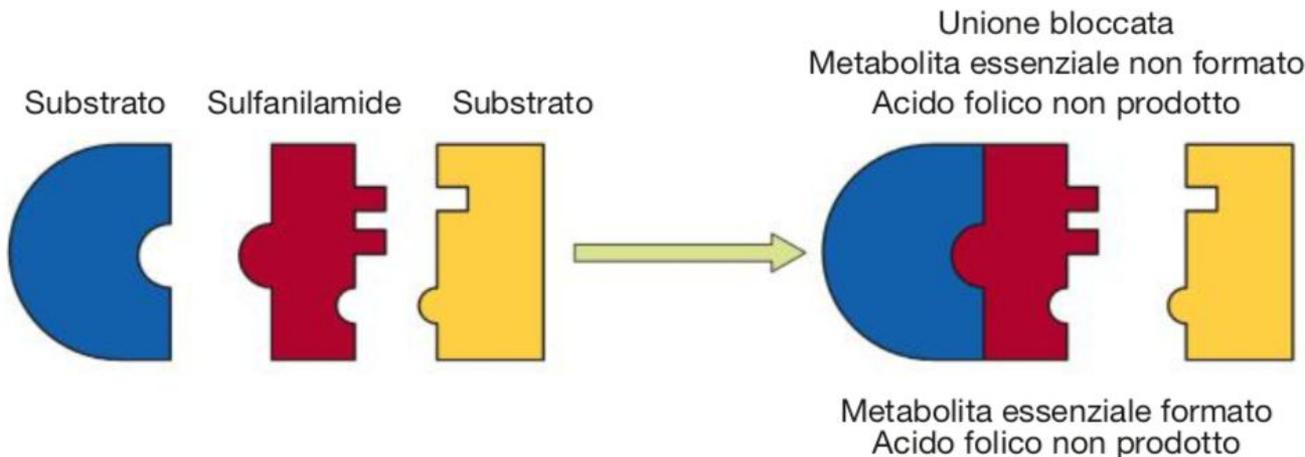
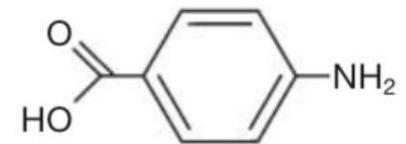
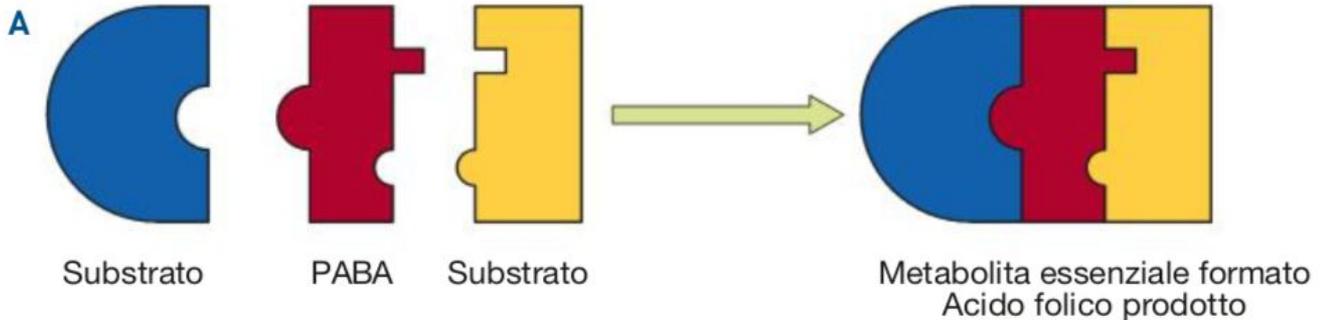
Chinoloni

Nitrofurani

7. Chemioterapici antibatterici

Sulfamidici

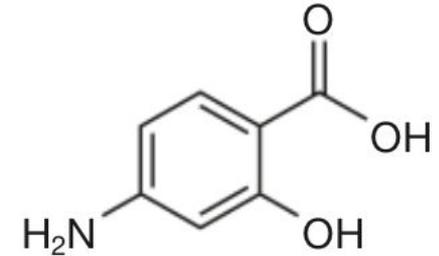
Farmaci batteriostatici che agiscono come antimetaboliti, per analogia di struttura.



7. Chemioterapici antibatterici

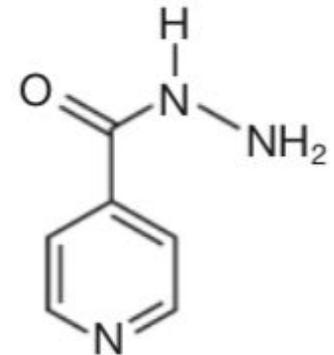
Acido para - aminosalicilico

Derivato dell'acido benzoico, agisce come antimetabolita del PABA



Isoniazide

Inibisce la sintesi degli acidi micolici, tipici dei micobatteri.



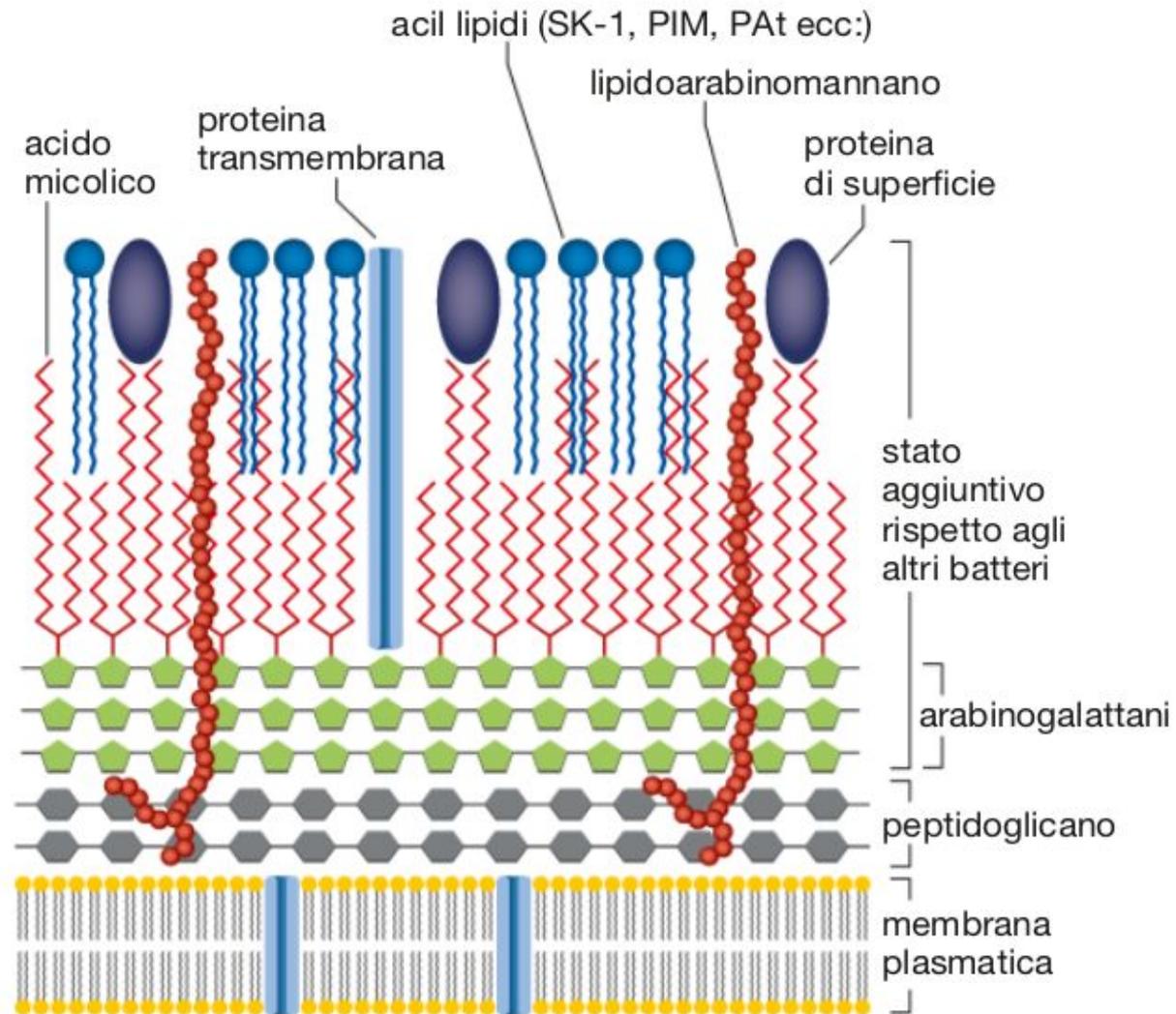
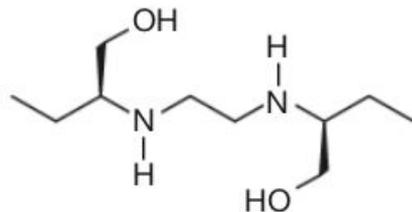
Chinoloni

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

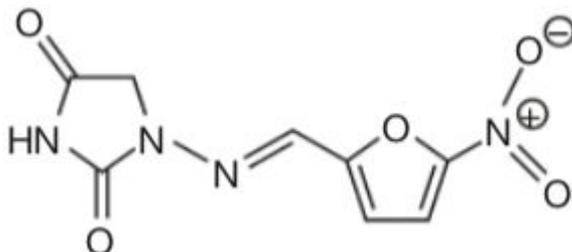


7. Chemioterapici antibatterici

Nitrofurani

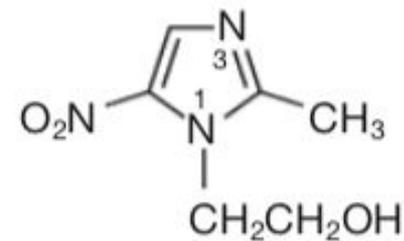
Derivati di vegetali, hanno ampio spettro d'azione su batteri e funghi.

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

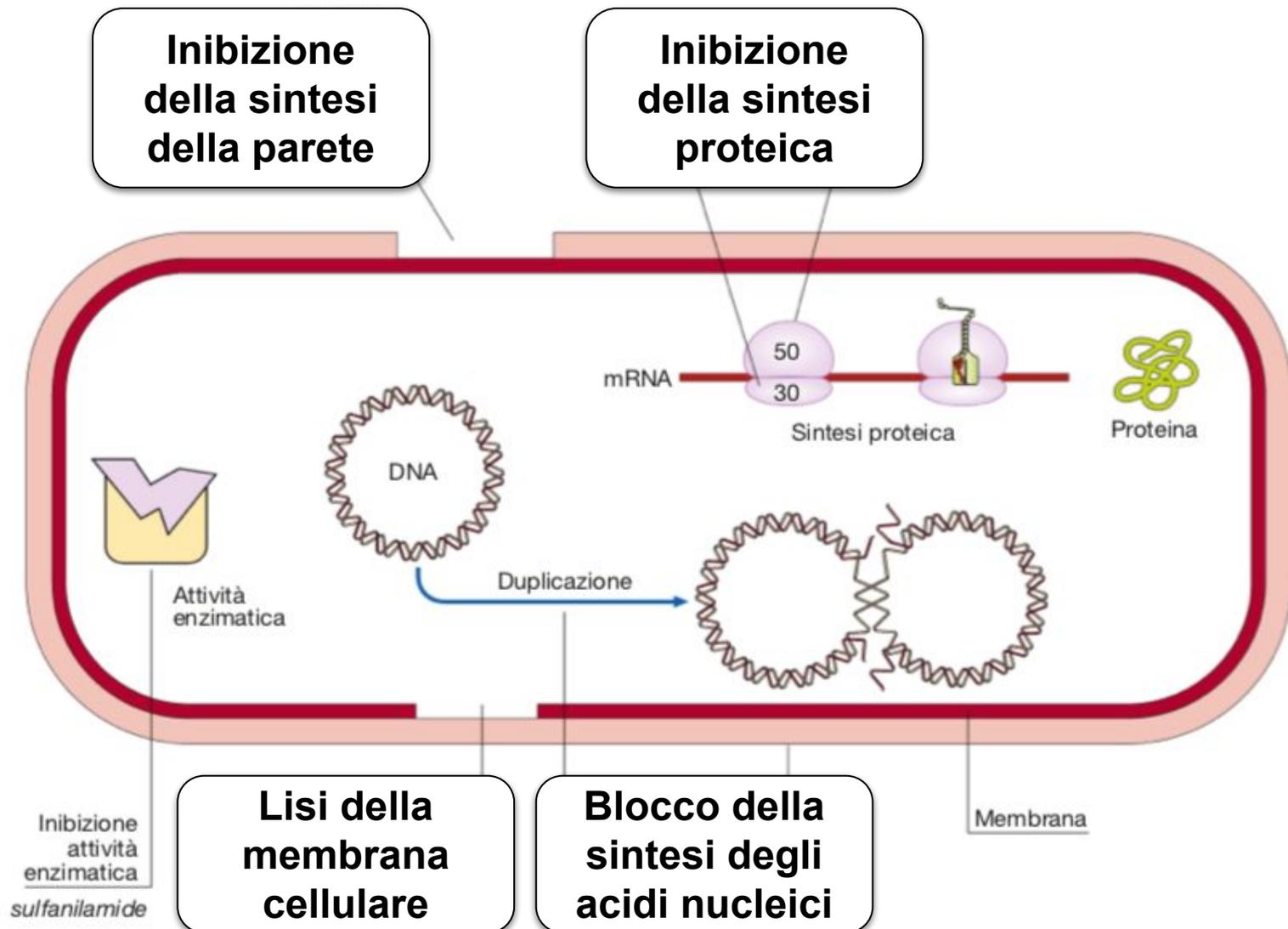


Nitroimidazoli

Agiscono contro batteri anaerobi o microaerofili, o protozoi



8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione



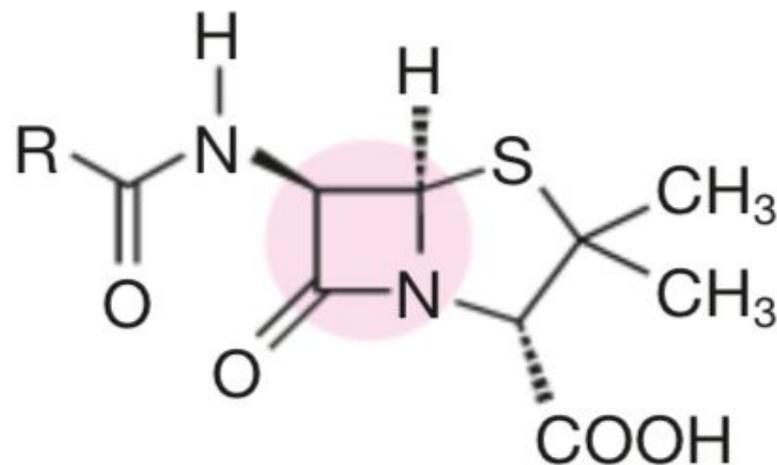
8. Antibiotici: strutture e meccanismi d'azione

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:

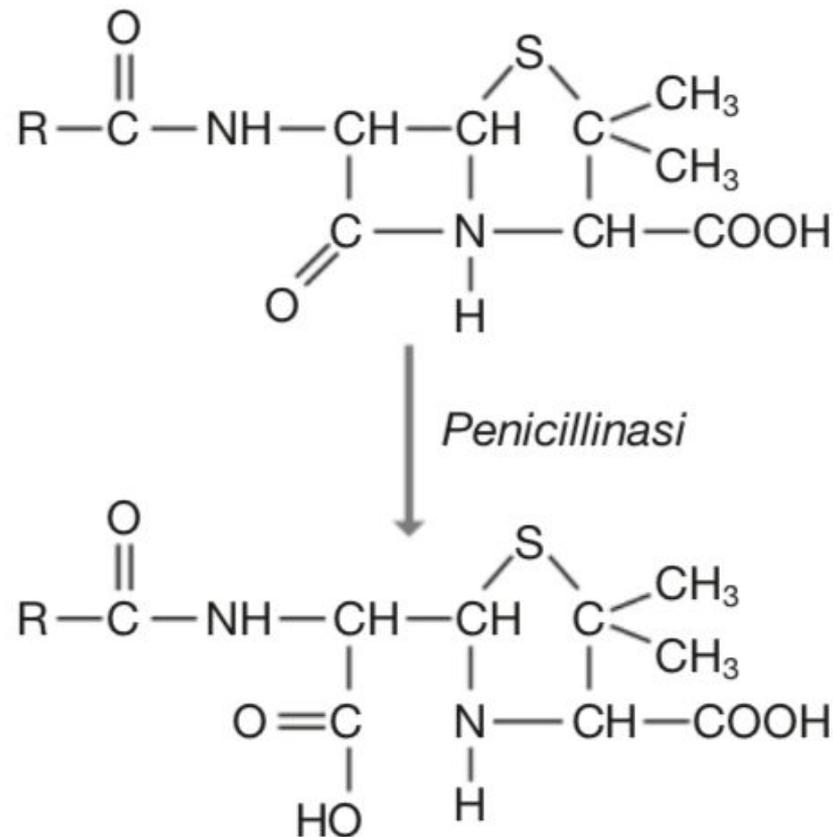
- Penicilline
- Carbapenemi
- Monobattamici
- Cefalosporine
- Antibiotici polipeptidici



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

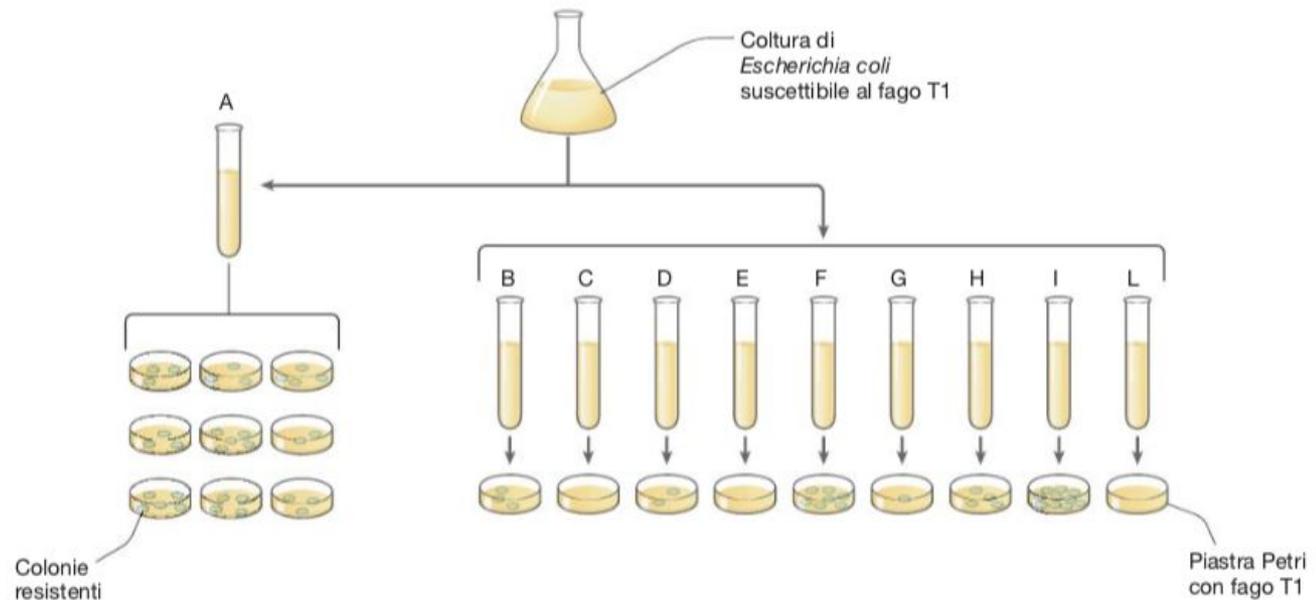
Agiscono sui ribosomi batterici 70S. Si distinguono:

- 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

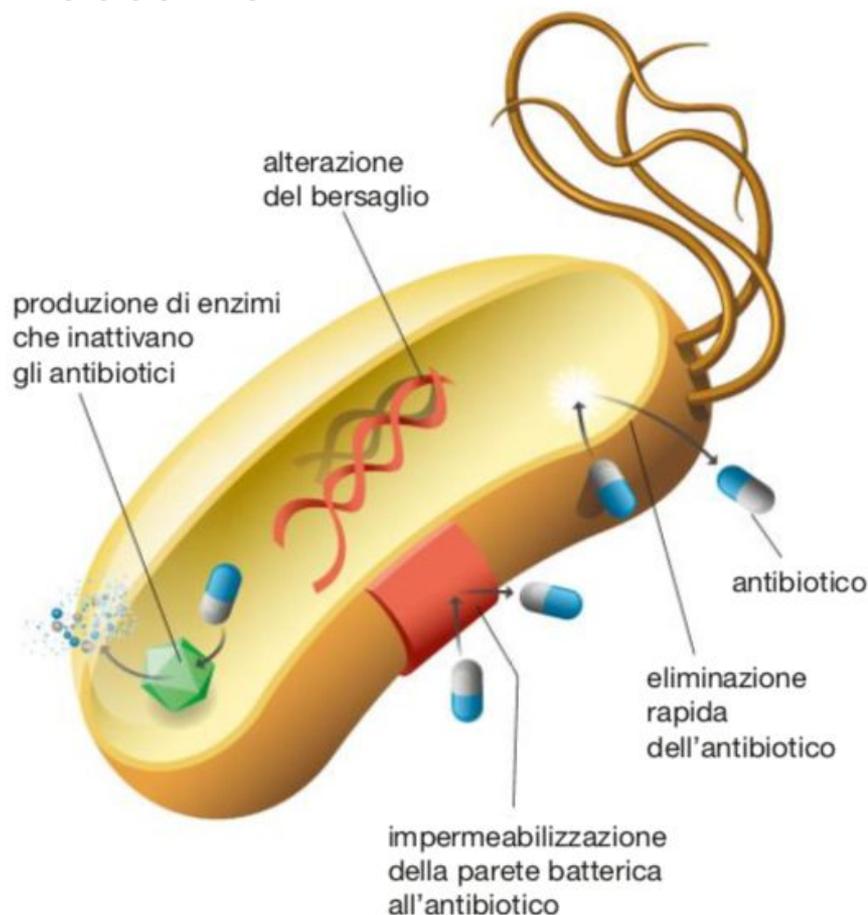
Farmacoresistenza: capacità di un microrganismo di resistere a un antimicrobico a causa di una mutazione cromosomica, (trasmissibile attraverso coniugazione, trasformazione e trasduzione).

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.

