

## KOMMENTARER TILL KAPITEL 20

### STERILISERING

OBS sid 670-676 är KURSIVT, men det kan vara bra att känna till vad sterilisering är.

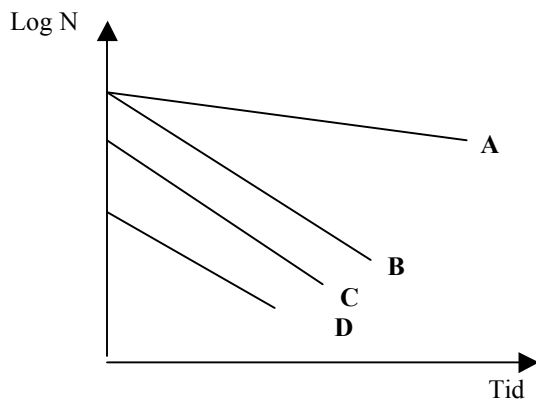
För att förstå själva mekanismen för sterilisering är det nödvändigt att studera kinetiken för avdödning. Man kan då dra en analogi mellan avdödning och kemiska reaktioner. Om man har en renkultur av bakterier så kommer avdödningen att bli exponentiell dvs antalet överlevande bakterier minskar logaritmiskt med tiden, **jfr fig. 20.1**.

**Logaritmen för antalet överlevande bakterier avsatt mot tiden  $\Rightarrow$  rät linje vars negativa lutningskoefficient definierar avdödningshastigheten – Första ordningens reaktion.**

Avdödningshastigheten talar bara om hur stor andel av den initiala populationen som har överlevt. För att kunna bestämma det verkliga antalet överlevande bakterier så måste man veta det initiala antalet.

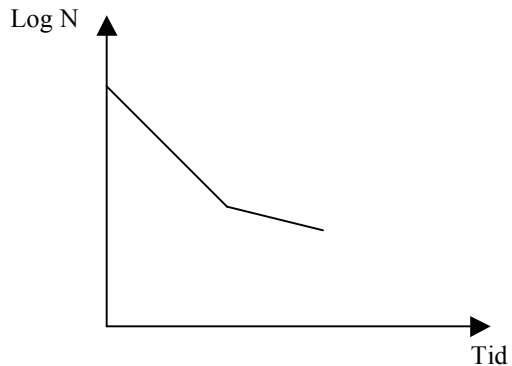
**Två faktorer som har betydelse vid sterilisering:**

1. **Avdödningshastigheten**
2. **Antalet mikroorganismer från början**



B, C och D har identiska avdödningshastigheter. A har en lägre avdödningshastighet. För värmesterilisering gäller att ju högre temperatur ju snabbare är avdödningen, **jfr fig 20.1**.

I praktiken har man sällan en renkultur av mikroorganismer utan en blandkultur. I detta fall avviker ofta avdödningen från en första ordningens ekvation.



Här finns två populationer med olika värmeresistens, de mest värmekänsliga mikroorganismerna inaktiveras först.

Då mikroorganismer reagerar olika på letala behandlingar måste man välja en behandling där den mest resistenta organismen dör.

Endosporer, en struktur som vissa bakterier bildar under tuffa omgivningsförhållanden, [jfr kap 4](#), är mer värmeresistenta än de vegetativa cellerna. Vid vanlig kokning dör de flesta bakterier medan endosporena överlever. Dessa kräver autoklavering för att inaktiveras.

En parameter som ofta används vid värmesterilisering och då speciellt vid konservering av livsmedel är det sk D-värdet eller DRT (decimal reduction time).

**D = den tid som krävs för att reducera antalet organismer med 90 % - en 10-faldig minskning.**

**Krav: Logaritmisk avdödningskurva, [jfr fig. 20.1 och 20.2](#).**

D är oberoende av den initiala koncentrationen.

Ex. D för endosporer är 4-5 min vid 121°C, D för vegetativa celler är 0.1-0.5 min vid 65°C.

## KEMOTERAPEUTIKA OCH ANTIBIOTIKA

### Definitioner:

**Antimikrobiell substans:** Ett kemiskt ämne som antingen dödar eller hämmar tillväxten av mikroorganismer.

**Syntetisk** antimikrobiell substans som skadar mikroorganismer men är relativt oskadlig för värdorganismen (människan). **Selektiv toxicitet.** Relativt enkla organiska föreningar som framställs syntetiskt.

**Antibiotika: en speciell typ av** antimikrobiell substans som produceras av mikroorganismer.

Man utnyttjar skillnader mellan prokaryota och eukaryota celler vid bekämpning av bakterieinfektioner; vi vill ju att bakterier men inte vi själva skall bli skadade.

- Syntetiska antimikrobiella droger
  - Modifierade tillväxtfaktorer
  - Sulfa
  - Isoniazid
  - Nukleinsyra analoger
  - Quinoloner - DNA gyras
  
- Naturliga antimikrobiella droger (= antibiotika) som slår mot bl.a:
  - Proteinsyntes
  - Transkription
  - Cellvägg

Antimikrobiella substanser kan ha:

1. **Bakteriostatisk effekt** – tillväxthämmande, **jfr fig. 20.9**
2. **Bakteriocidal effekt** – bakteriedödande, **jfr fig. 20.9**
3. **Bakteriolytisk effekt** – bakteriedödande, bakterien lyserar, **jfr fig. 20.9**

#### **FIG 20-14:**

##### INHIBITION AV CELLVÄGGSSYNTES

Bakteriolytisk eftersom cellväggen försvagas och cellen spricker.

**Penicillin** binder till och inhiberar transpeptidas enzym som katalyserar tvärbindningen mellan peptidoglykan kedjorna, väggen försvagas (sid 139-140 Madigan)  
mest aktiv mot G<sup>+</sup>, men syntetiska varianter kan transporteras genom yttermembranet och verka mot G<sup>-</sup>

**Vancomycin** binder till D-alanin och inhiberar tvärbindningen

**Cephalosporiner** fungerar som penicillin men är motståndskraftiga mot nedbrytning

##### ANALOGER FÖR TILLVÄXTFAKTORER

Sulfonamid är en analog till p-aminobenzoesyra, ingår i vitaminen folsyra, som är en byggsten för nukleinsyrasyntes

Cellen tar upp analogen som sedan blockerar syntesen.

Bacteria syntetiserar egen folsyra medan vi får folsyra via maten, och påverkas därför inte.

#### INHIBITION AV SUPERCOILING AV DNA

**Nalidixinsyra** är en typisk quinolon

Interagerar med DNA gyras (topoisomerasII) och hindrar supercoiling

**Fluorerade quinoloner** som **ciprofloxacin** har samma verkan

#### INHIBITION AV TRANSKRIPTION

**Rifampicin** hindrar RNA-polymeras att syntetisera mRNA och stoppas alltså transkriptionen

#### INHIBERING AV TRANSLATION

**Kloramfenikol** påverkar "A(acceptor)-site " hos 50S subenheten hos ribosomen

**Streptomycin** inhiberar initiering av translationen genom att låsa 30S konformationen i ett läge som gör att den inte kan skilja på rätt och fel aa-tRNA kod;

#### ANTIBIOTIKARESISTENS ( $Ab^R$ )

Är ett stort problem, vissa bakterier är så resistenta att det inte finns något effektivt antibiotikantibiotika a för behandling. Resistens uppkommer då vi använder antibiotika eftersom det ger ett starkt selektionstryck för att resistens skall uppkomma, se **figs 20-26a och b och 20-27**. Dessutom kan antibiotikaresistensgener spridas mellan olika bakterier via genöverföring, se transduktion, transformation och konjugation.

Ett problem är att även om resistensen är en kostnad för bakterien så sker det en anpassning av resistensmutationer - minskar kostnaden för  $Ab^R$  med tiden.  $Ab^R$  kommer fort - försvinner sakta: Exempelvis minskade inte plasmiden som bar resistensen för sulfonamid när användning av detta minskade med 97 % i UK. Resistensen gav en (annan, okänd) fördel till cellen.

Det kan också uppstå genetisk koppling (linking) mellan olika resistensgener på t.ex. en och samma plasmid, då kan plasmiden selekteras av någon av dessa resistenser. Dvs. en  $Ab^R$  gen kan "åka snålskjuts" genom att det är något annat som selekteras.

Integroner (se sid 286) kan "samla på sig" olika  $Ab^R$  gener, så att multiresistens utvecklas.

Plasmider kan sprida  $Ab^R$  gener mellan organismer och transposoner (se sid 284) kan sprida generna mellan olika DNA strukturer inne i cellen.