

Microbiologia clinica

- Docente : *Prof. Ubaldo Scardellato*

- Testo: **MICROBIOLOGIA CLINICA**

Eudes Lanciotti

Cea ed. 2001

Fondamenti di Microbiologia

- ✉ apprendere i concetti di base della **microbiologia** con particolare riferimento alla loro relazione con la salute dell'uomo
- ✉ comprendere il quadro delle **malattie infettive** in termini di interazione ospite - agente infettante
- ✉ comprendere il **ruolo dell'ambiente domestico** nella dinamica della insorgenza della malattie infettive

I Microrganismi

- definizioni
- caratteristiche strutturali
- classificazioni
- modalità di replicazione

Microbiologia: studio dei Microrganismi

Microrganismi: organismi unicellulari, di piccole dimensioni, visibili solo al microscopio

Cinque gruppi fondamentali di Microrganismi

Organizzazione Cellulare

Procarioti

Microbi

Batteri

Eucarioti

Funghi

Protozoi

Alghe

Acellulari

Virus

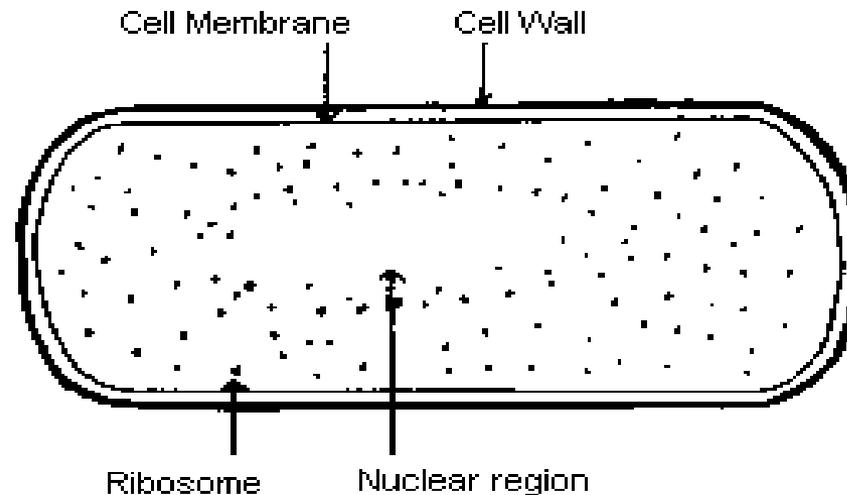
(Prioni)

La cellula è l'unità di base della vita

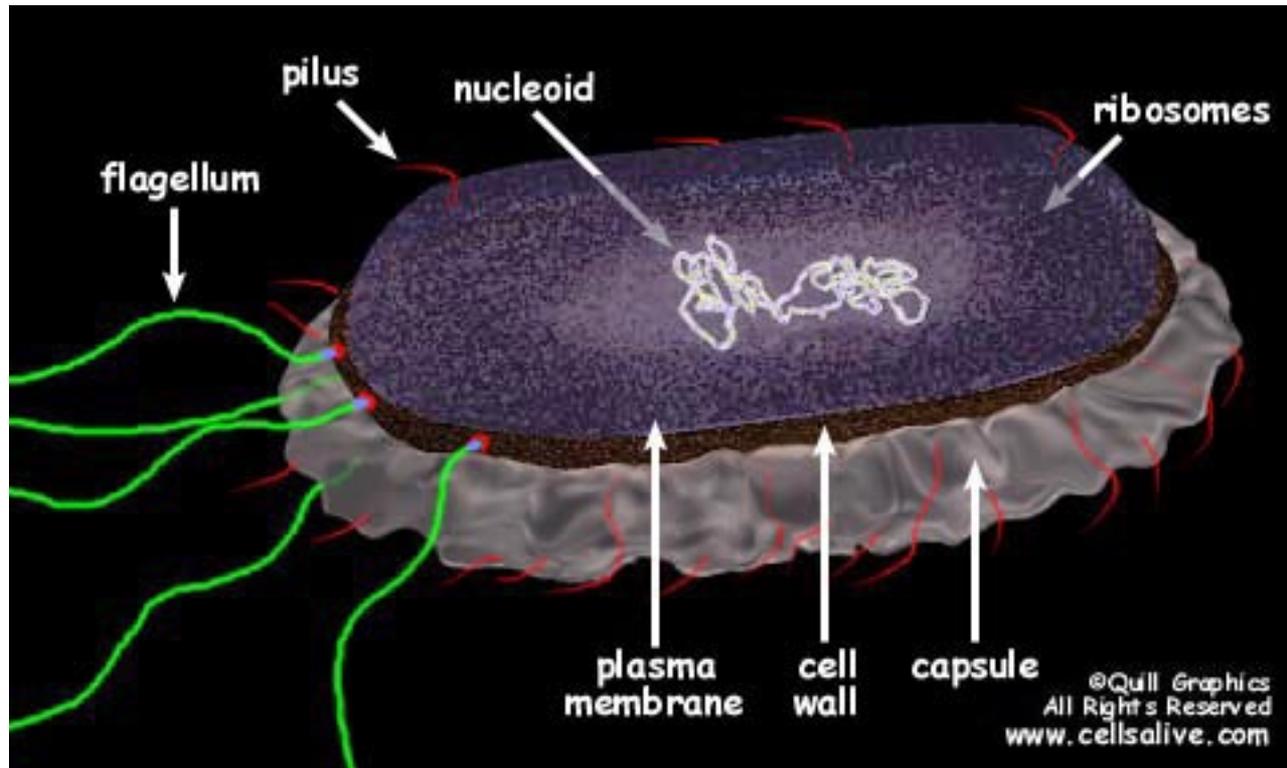
Cellula *procariotica*: piccola, semplice, elevato rapporto superficie/volume, facile il passaggio e utilizzazione dei nutrienti

Prokaryotic Cells

Diagram of a typical Bacterium



Esempio di cellula procariotica: un batterio



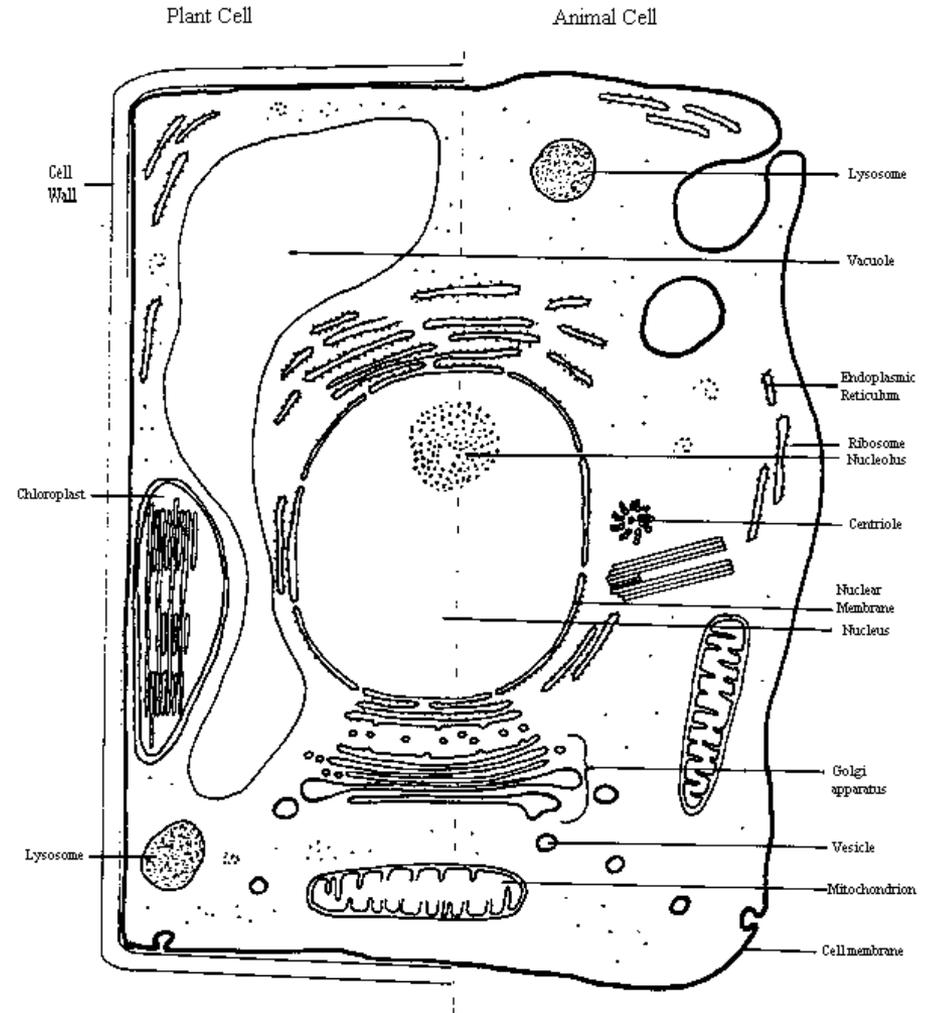
Cellula eucariotica

più grande e organizzata, nucleo evidente

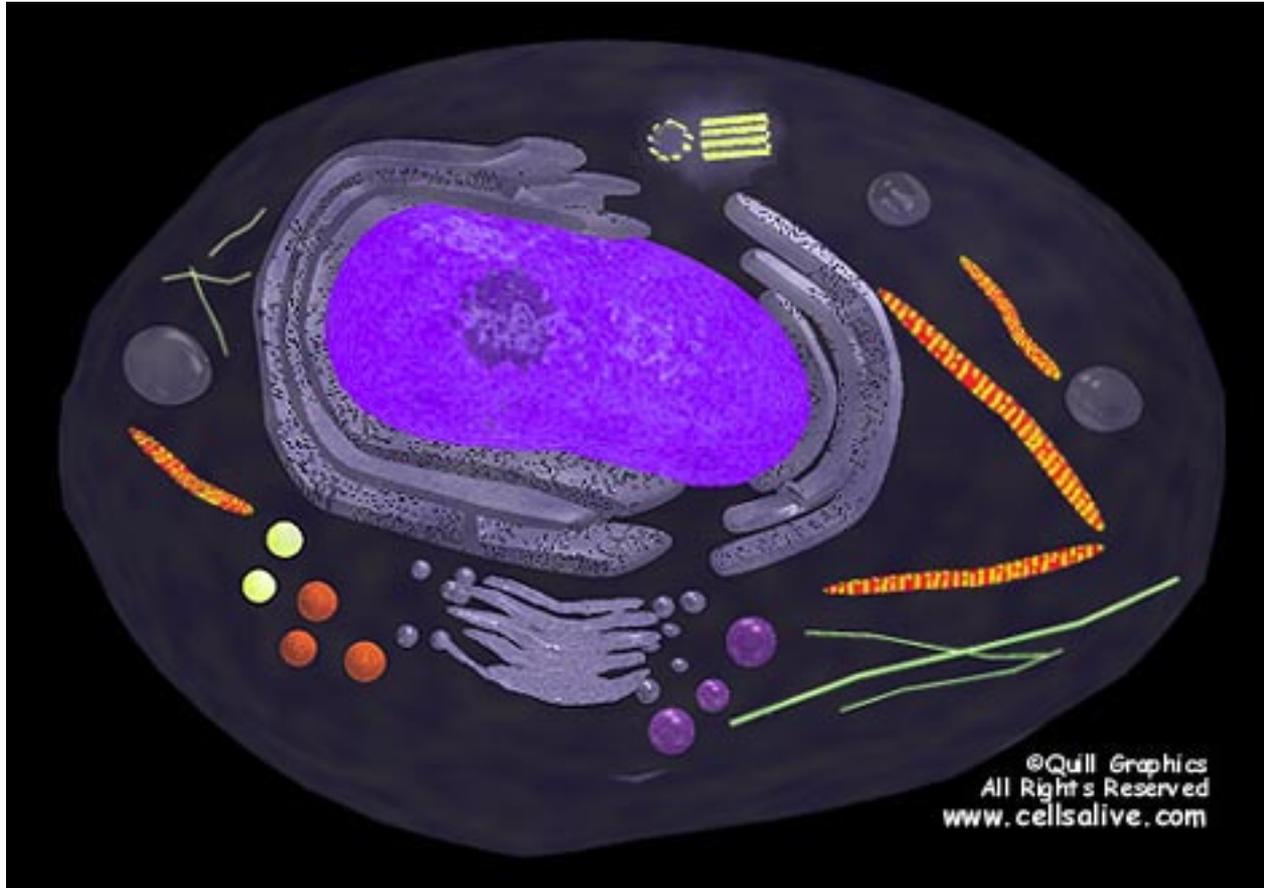
con molti organelli per il metabolismo, la produzione di energia e il trasporto di sostanze

Questa cellula caratterizza anche gli organismi pluricellulari (Piante e Animali, incluso l'Uomo)

Eukaryotic Cells



Una cellula animale

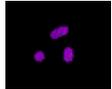




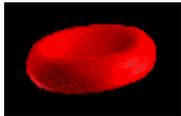
10 micron



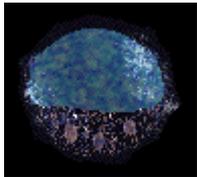
virus 0,05-1 micron



batterio 0,5-1,5 micron



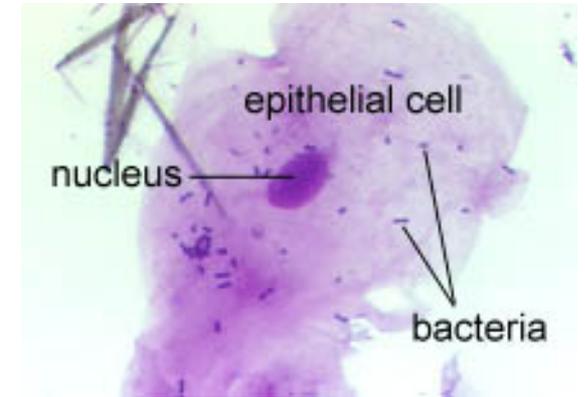
globulo rosso 5 micron



linfocita 5-8 micron



spermatozoo 60 micron



Cellula epiteliale
invasa da batteri

I BATTERI

Microrganismi di piccole dimensioni (qualche micron) visibili solo al microscopio, con struttura cellulare **procariotica**

Comprendono

Eubatteri (batteri veri e propri)

Spirochete (es. *Treponema pallidum*)

Micoplasmi (es. *M.pneumoniae*)

Rickettsie (es. *Coxiella burnetii*, *R.prowazekii*)

Clamidie (es. *C.psittaci* e *trachomatis*)

Forma dei batteri

Cocchi: 0,5-1 μm , sferici o ovali, con aspetti diversi secondo il piano di divisione: diplococco, tetraedo, sarcina, a catena, a grappolo

Bacilli: 0,5-1 μm x 1-4 μm , cilindrici, singoli o a catena, ovali (cocco-bacilli)

Spirilli: 1-100 μm , a forma di virgola (vibrione) o rigido e spesso (spirillo), a spirale flessibile (spirocheta)

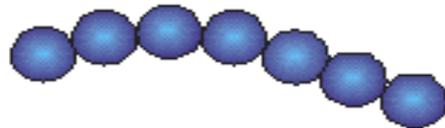
Tipologie di cocci, distinte in base al modo di replicazione



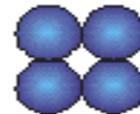
coccus



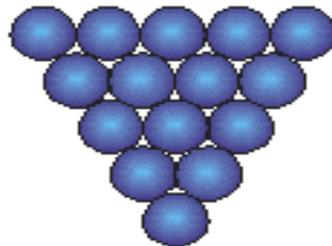
diplococcus



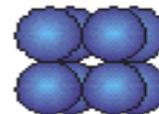
streptococcus



tetrad

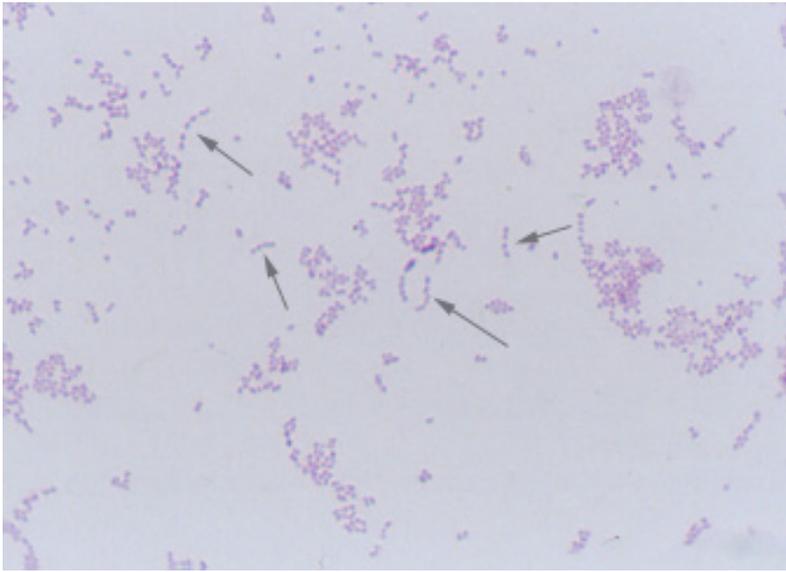


staphylococcus

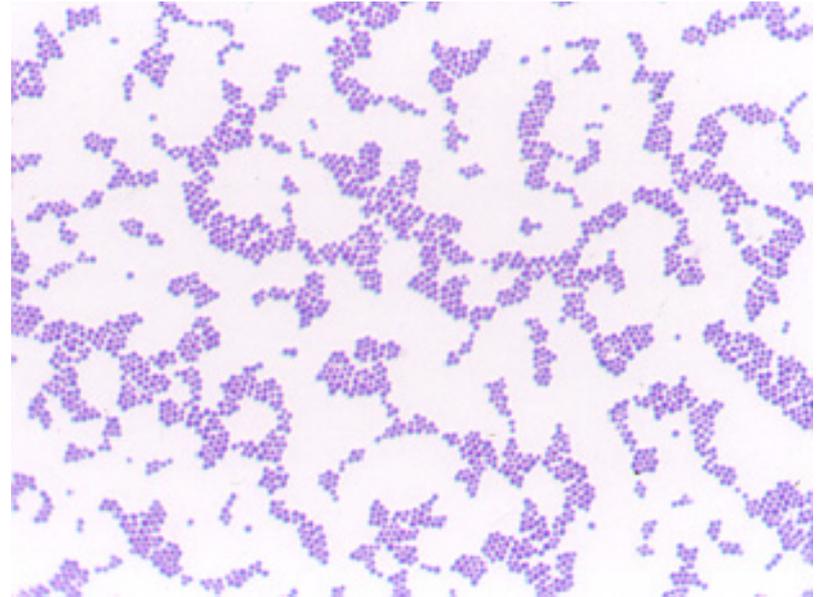


sarcina

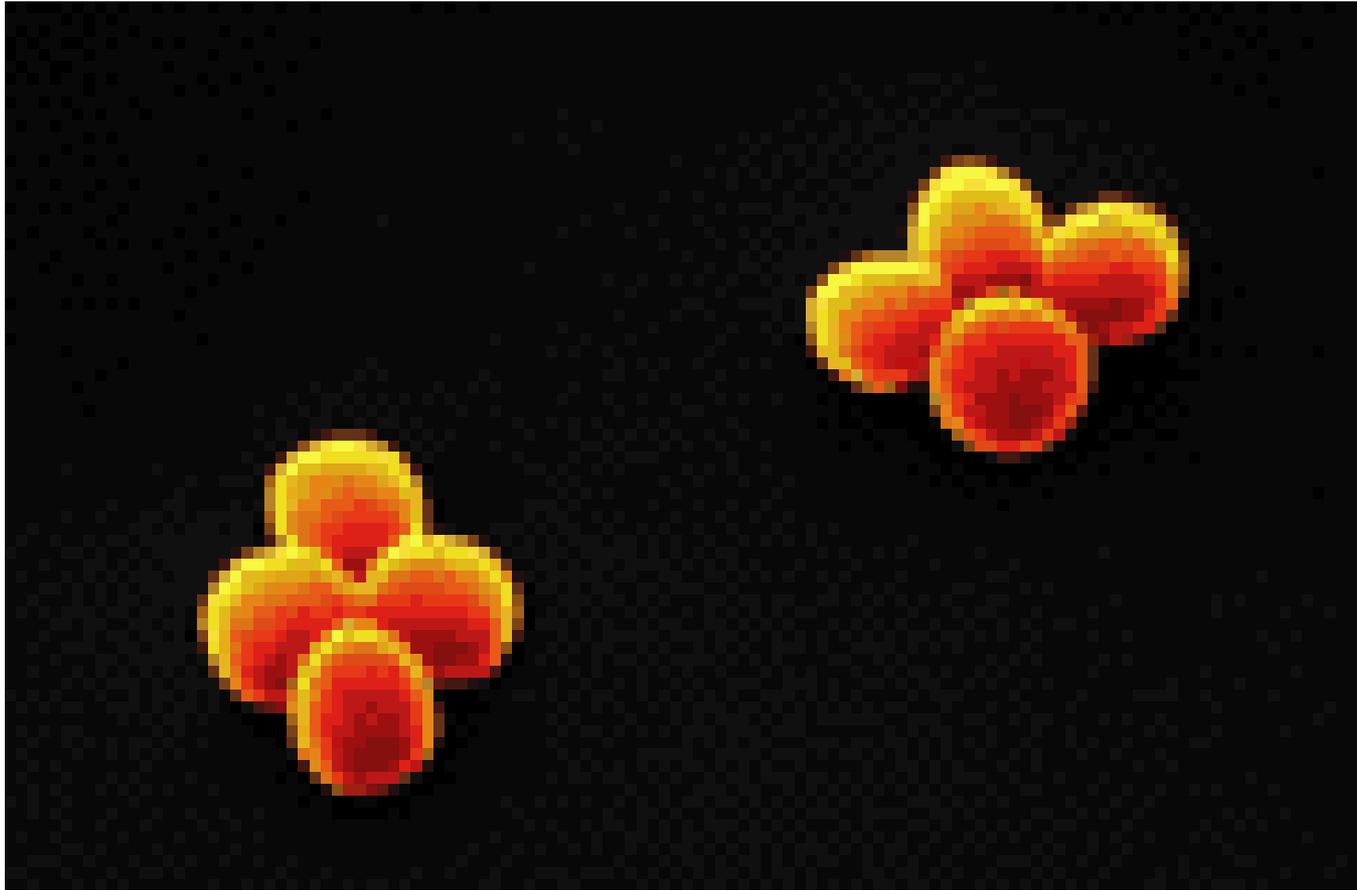
Streptococcus pyogenes: gram positivo a catenella



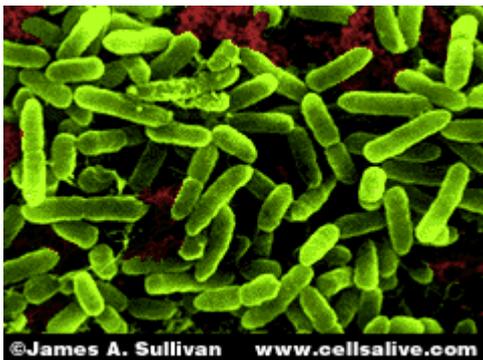
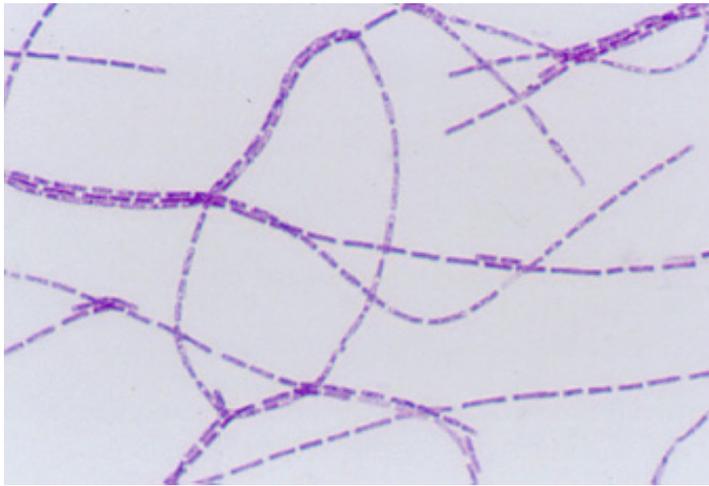
Staphylococcus aureus: gram positivo a grappolo



TETRADI DI COCCHI



Streptobacillum:
bacillo in catena



Pseudomonas aeruginosa



Escherichia coli
bacillo



vibrio



spirillum



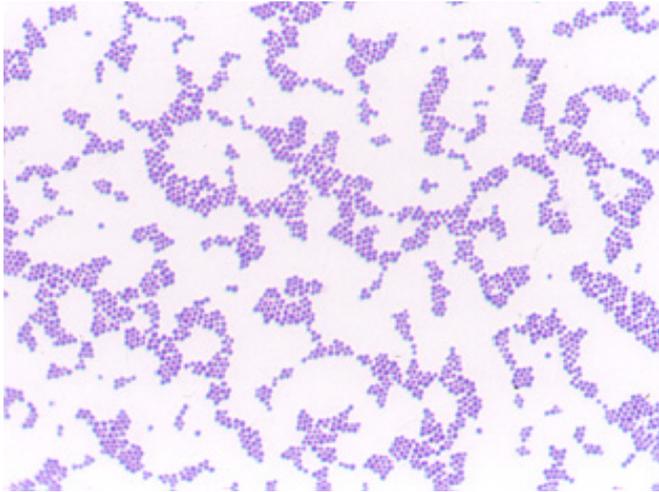
spirochete

Spirilli

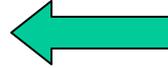
I batteri si osservano al microscopio ottico dopo idonea colorazione

Colorazione di Gram

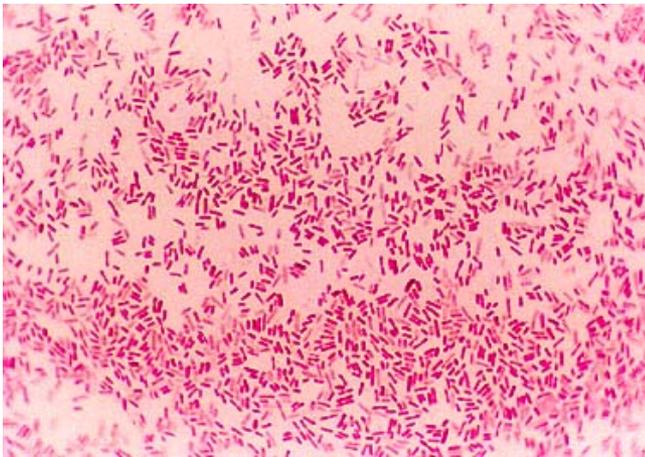
- ➔ **Gram positivi:** batteri che assumono il colore violetto perché trattengono il colorante (cristalvioletto) per la presenza di involucri cellulari poco permeabili . Es. stafilococchi, streptobacilli, diplococchi
- ➔ **Gram negativi:** batteri che si decolorano con alcool o acetone e assumono il colore rosso della colorazione successiva (fuxina). Es. neisserie, bacilli, vibrioni
- ➔ **Acido-resistenti:** batteri che si colorano male con il metodo Gram, assumono il colore rosso del colorante (carbolfucsina) e resistono alla decolorazione con acido. Es. *Mycobacterium tuberculosis*



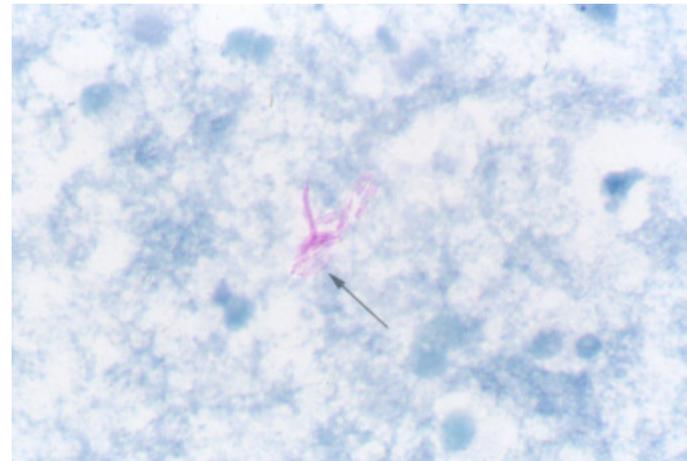
Cocchi a grappolo
Gram positivi



Bacilli Gram
negativi



Batteri acido-
resistenti



Le caratteristiche di colorazione dipendono da una diversa architettura molecolare delle strutture cellulari e da differenze funzionali che si riflettono anche sulla diversa azione patogena

In particolare è diversa la **parete cellulare** :

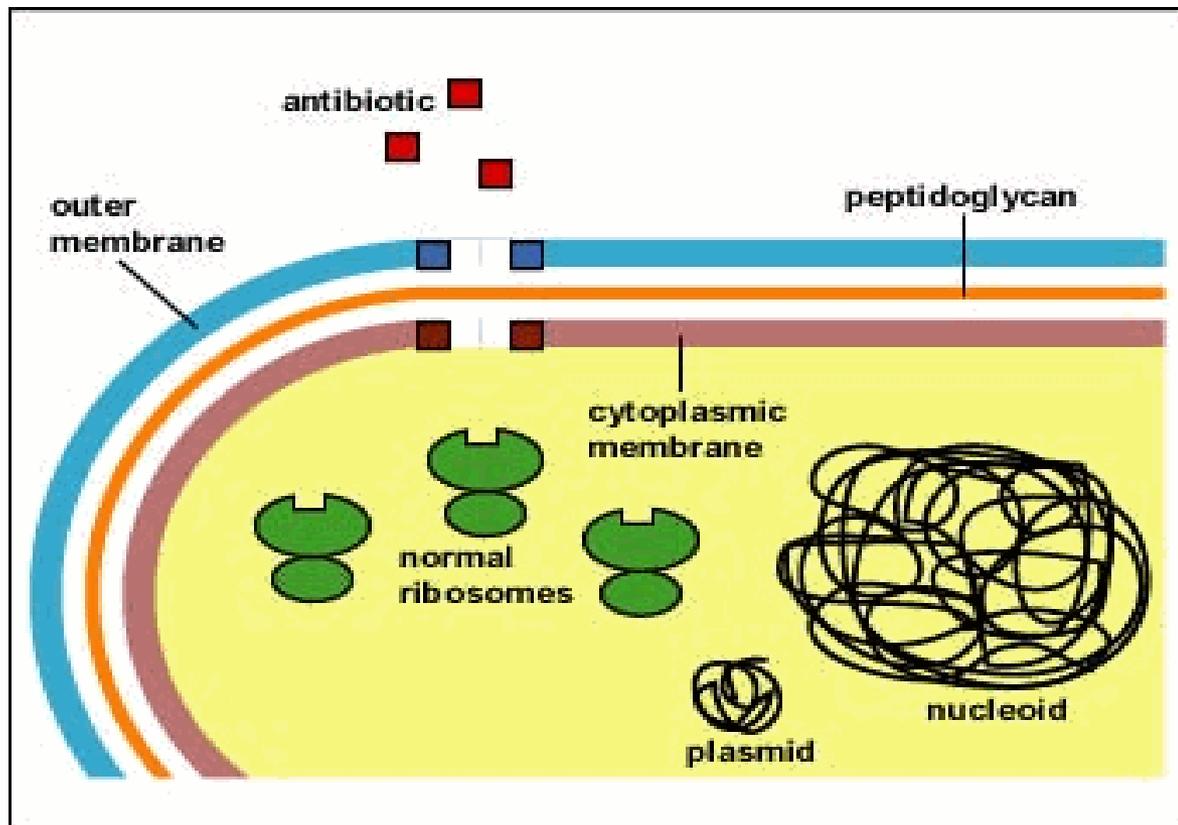
✉ spessa , rigida nei Gram positivi, composta da strati peptidoglicano e altri polimeri con potere antigenico

✉ più sottile, composta solo da peptidoglicano, nei Gram negativi che sono protetti da una seconda membrana cellulare esterna molto resistente

La diversa struttura condiziona l'attività dei chemioterapici (antibiotici) utilizzati per inibire o uccidere i batteri patogeni

Resistenza batterica agli antibiotici

La cellula produce enzimi che detossificano o inattivano gli antibiotici

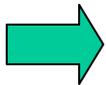


RIPRODUZIONE DEI BATTERI

I BATTERI SI RIPRODUCONO PER SCISSIONE SEMPLICE BINARIA (CIASCUNA CELLULA SI RADDOPPIA)

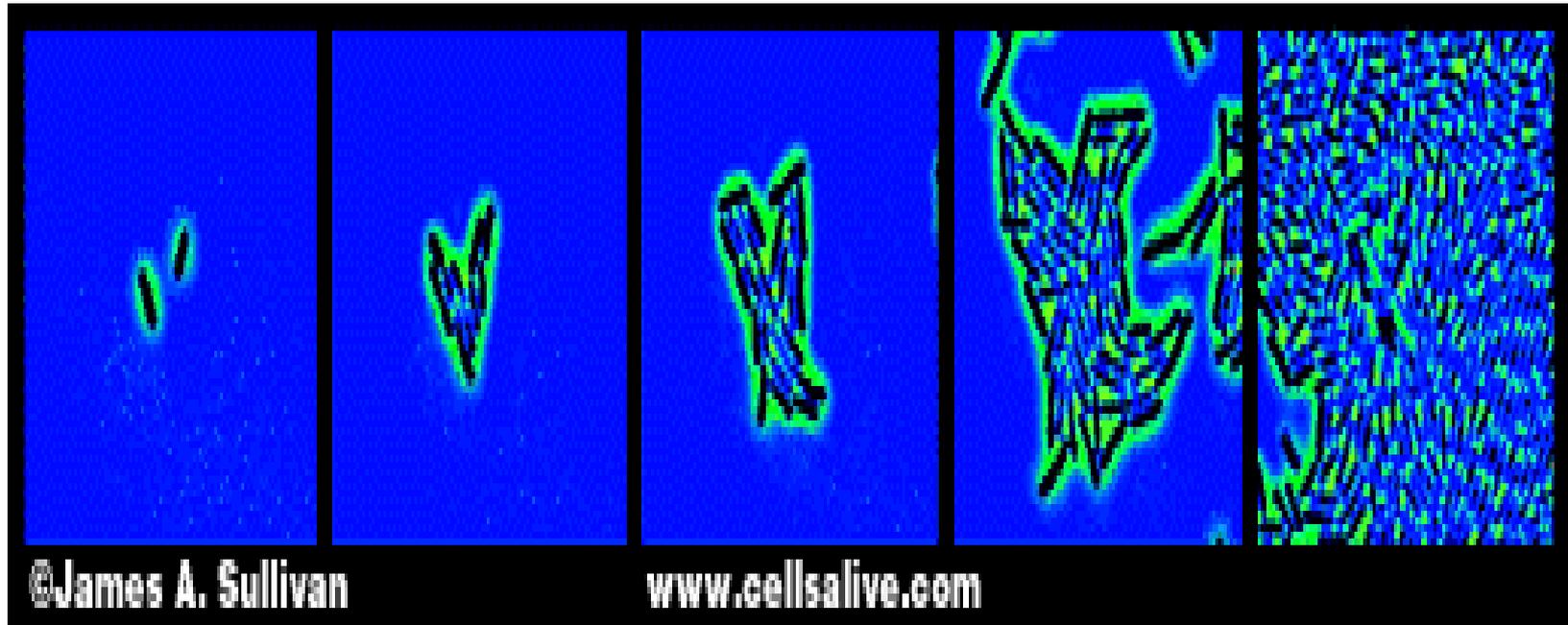
Il meccanismo avviene quindi con **progressione geometrica**

Il materiale genetico (DNA) è una unica molecola circolare (cromosoma batterico) che raddoppia consentendo la **esatta ripartizione del materiale genetico** tra le due cellule figlie



In particolari situazione ambientali alcuni germi formano cellule differenziate strutturalmente e funzionalmente dette spore che rappresentano forme di resistenza

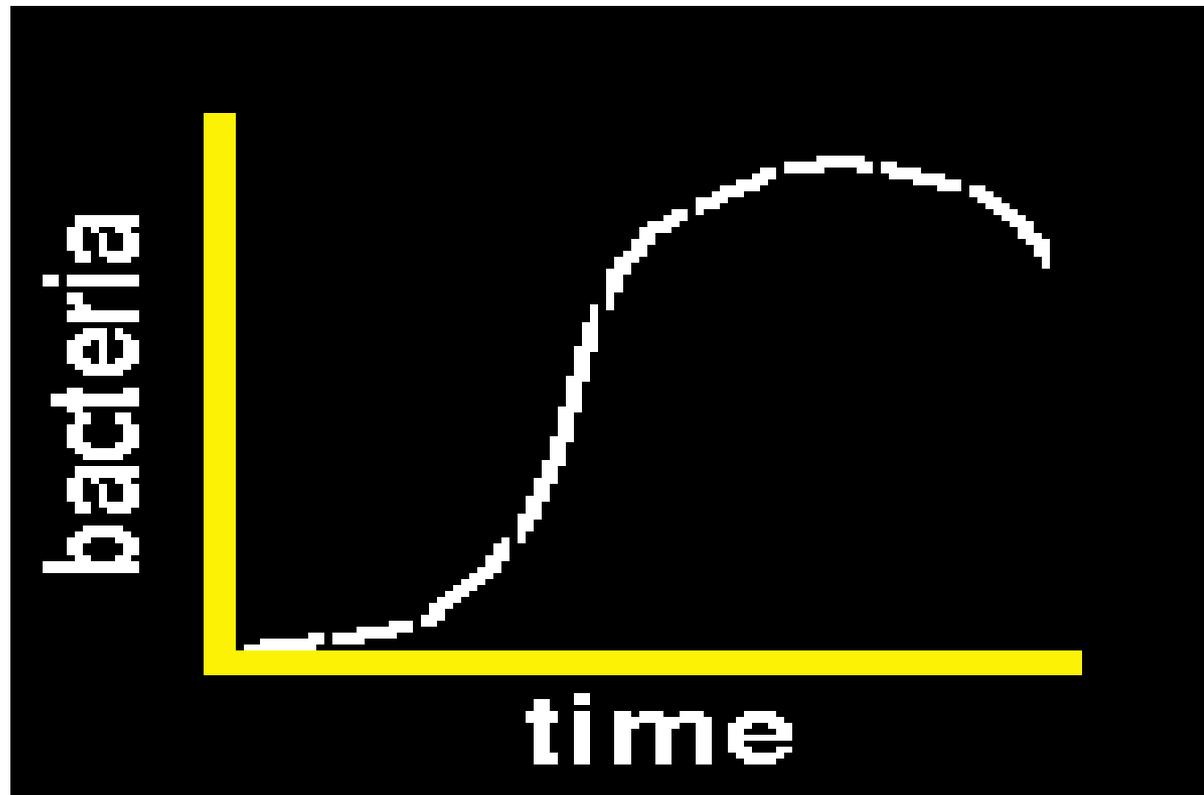
Crescita di *Escherichia coli*, batterio che normalmente fa parte della flora batterica intestinale



Ogni 20 min replicano. In 43 ore diventano così numerosi da occupare tutto il volume della terra e dopo 45 ore pesano come tutta la terra!

Coltivazione e crescita dei batteri

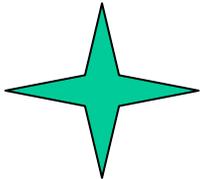
I batteri crescono in terreni di coltura liquidi (brodi) o solidi (agar) che contengono le sostanze nutritive di cui il batterio necessita



I batteri sono assolutamente necessari per tutta la vita del pianeta, incluso l'ecosistema umano



La maggior parte di essi muore rapidamente per competizione alimentare e presenza di sostanze battericide (es. antibiotici come la penicillina prodotta da un fungo)



I batteri vengono largamente utilizzati per la produzione di antibiotici, aminoacidi, ormoni e vaccini (tecniche di ricombinazione del DNA)

Esempi di batteri Gram negativi di interesse medico

Enterobatteri: escherichia coli, salmonelle, shigelle, yersinie, klebsielle

Campilobacter, **helicobacter pilori**

Brucelle, bordetelle (pertosse), legionelle, pseudomonas

Neisserie (gonorrea, meningite)

Vibrioni: vibrione del colera

Pasteurelle: pasteurella (peste), haemophilus influenzae

Esempi di batteri Gram Positivi di interesse medico

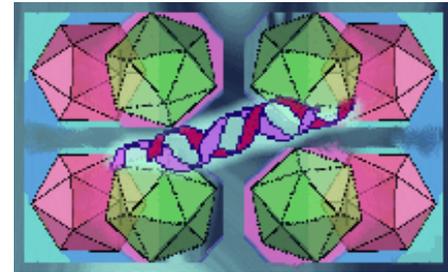
Micrococchi, enterococchi, stafilococchi, streptococchi, clostridi, corynebacteri (difterite), lattobacilli, listerie

Spirochete es treponema pallidum (sifilide), leptospira, borrelia

Batteri alcool-acido resistenti
Mycobacterium tuberculosis

DEFINIZIONE DI UN VIRUS

I VIRUS SONO ASSOCIAZIONI ORGANIZZATE DI ACIDI NUCLEICI CHE TRASPORTANO IL MATERIALE PER LA REPLICAZIONE ENTRO UNA PARETE PROTETTIVA DI PROTEINE



I virus possono essere considerati come un complesso biochimico inerte perché non possono replicarsi fuori da una cellula vivente. Una volta entrati nella cellula sono capaci di utilizzare la cellula ospite per sintetizzare nuove particelle di virus dette virioni

I virus non sono mobili, sono dipendenti da fattori fisici esterni per il movimento, e si spostano per infettare altre cellule suscettibili

I virus sono agenti infettivi con
caratteristiche di organismi viventi e non
viventi

VIVENTI

si **riproducono** facilmente (ma solo in cellule ospiti)
possono **mutare**

NON VIVENTI

sono **acellulari** (non contengono citoplasma e organelli),
non hanno metabolismo proprio ovvero non crescono
non si dividono

si replicano solo utilizzando i sistemi metabolici della
cellula ospite

contengono **DNA o RNA** ma non entrambi gli acidi nucleici

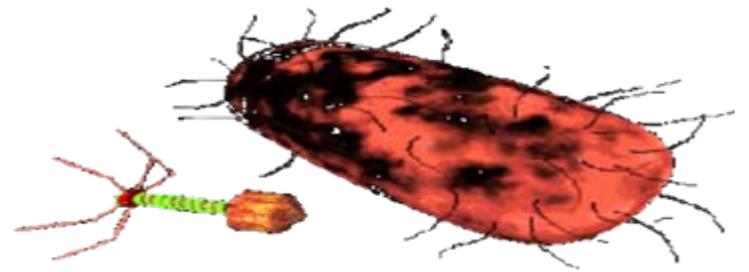
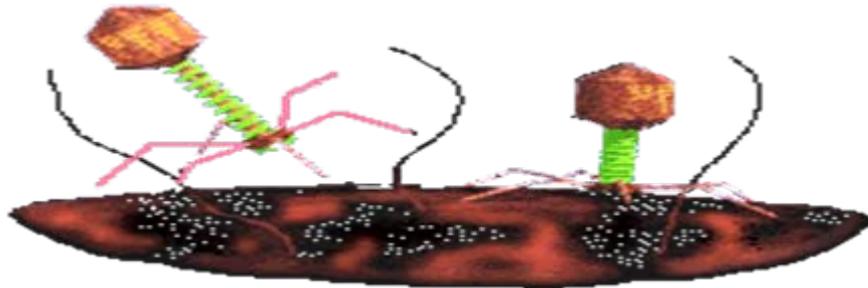
I virus sono parassiti intracellulari obbligati

Possono infettare gli animali, le piante e microrganismi

Virus dei batteri: batteriofagi

Virus dei funghi: micofagi

Esempio di batteriofago

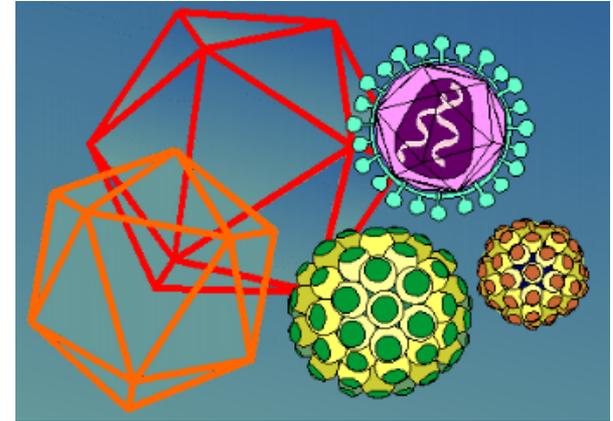


STRUTTURA DEI VIRUS

I virus sono molto piccoli in dimensioni

20-300 nanometri

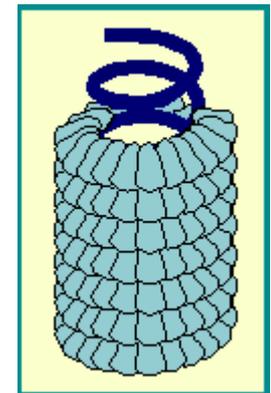
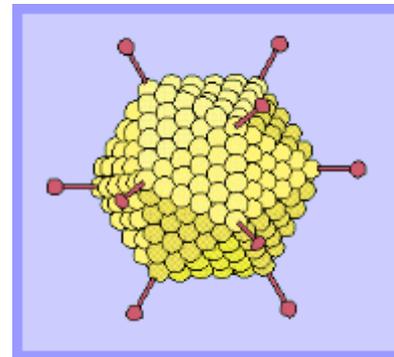
possono contenere DNA oppure RNA



Il genoma codifica per poche proteine necessarie per la replicazione:

- ☒ proteine funzionali non strutturali es polimerasi dell'acido nucleico
- ☒ strutturali cioè vengono incorporate e formano una parte del virione

Queste proteine vengono assemblate secondo un principio architettonico per formare una parete (**capside**) entro il quale l'acido nucleico viene protetto. Il capsid può avere forma icosaedrica o a spirale o può essere più complessa



Dimensione e forma dei virus da 5 a 300 nanometri



Picornaviridae
+ssRNA, naked,
polyhedral capsid
20-30nm



Reoviridae
dsDNA, naked,
polyhedral capsid,
60-80nm



Togaviridae
+ssRNA, enveloped,
polyhedral capsid,
60-70nm



Orthomyxoviridae
multiple strands of -ssRNA,
enveloped,
80-200nm



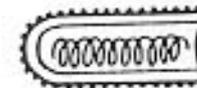
Coronaviridae
+ssRNA,
enveloped,
polyhedral capsid
80-160nm



Paramyxoviridae
-ssRNA,
enveloped,
150-300nm



Retroviridae
produce dsDNA from ssRNA,
enveloped,
helical capsid
100-120nm



Rhabdoviridae
-ssRNA, enveloped,
helical capsid
70-190nm



Papovaviridae
dsDNA, naked,
polyhedral capsid
40-57nm



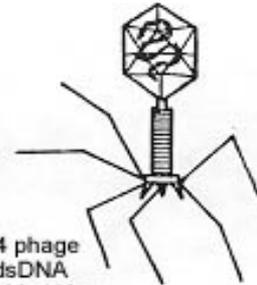
Adenoviridae
dsDNA, naked,
polyhedral capsid
70-90nm



Herpesviridae
dsDNA, enveloped,
polyhedral capsid
150-200nm

Dimensione e struttura di alcuni virus a DNA

Dimensione e forma di alcuni fagi



T4 phage
dsDNA
head 80x110nm,
tail 110nm long



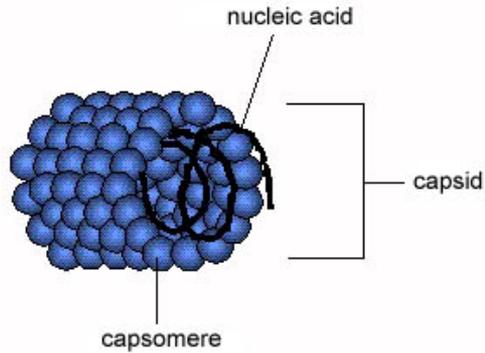
T3 phage
dsDNA
head 60x60nm,
tail 20nm long



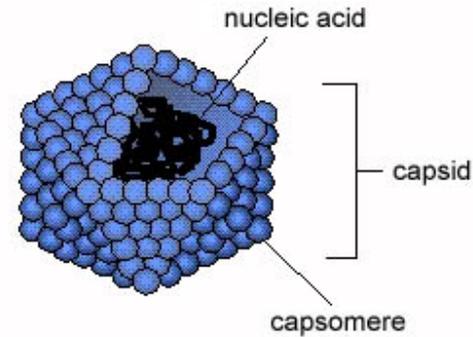
T1 phage
dsDNA
head 54x54nm,
tail 140nm long



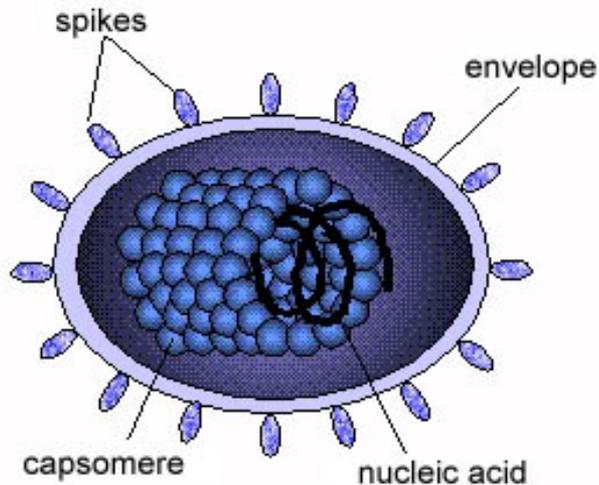
M13 phage
ssDNA
helical,
800x10nm



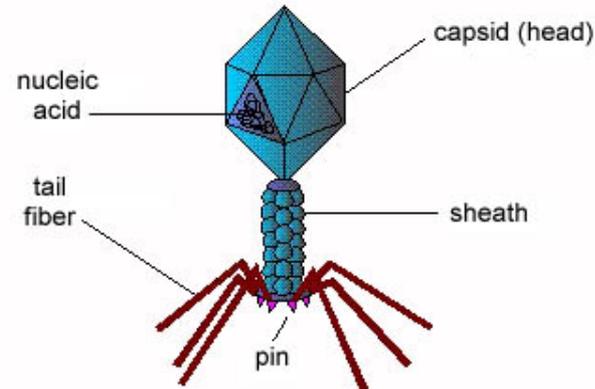
**Virus a elica:
capside a struttura
elicoidale**



**Virus poliedrico: capside
a forma di icosaedro**



**Virus con involucro
pericapsidico**



Virus complesso

Classificazione dei virus a DNA

1. a singola elica, capsidico poliedrico Parvovirus (virus B19)

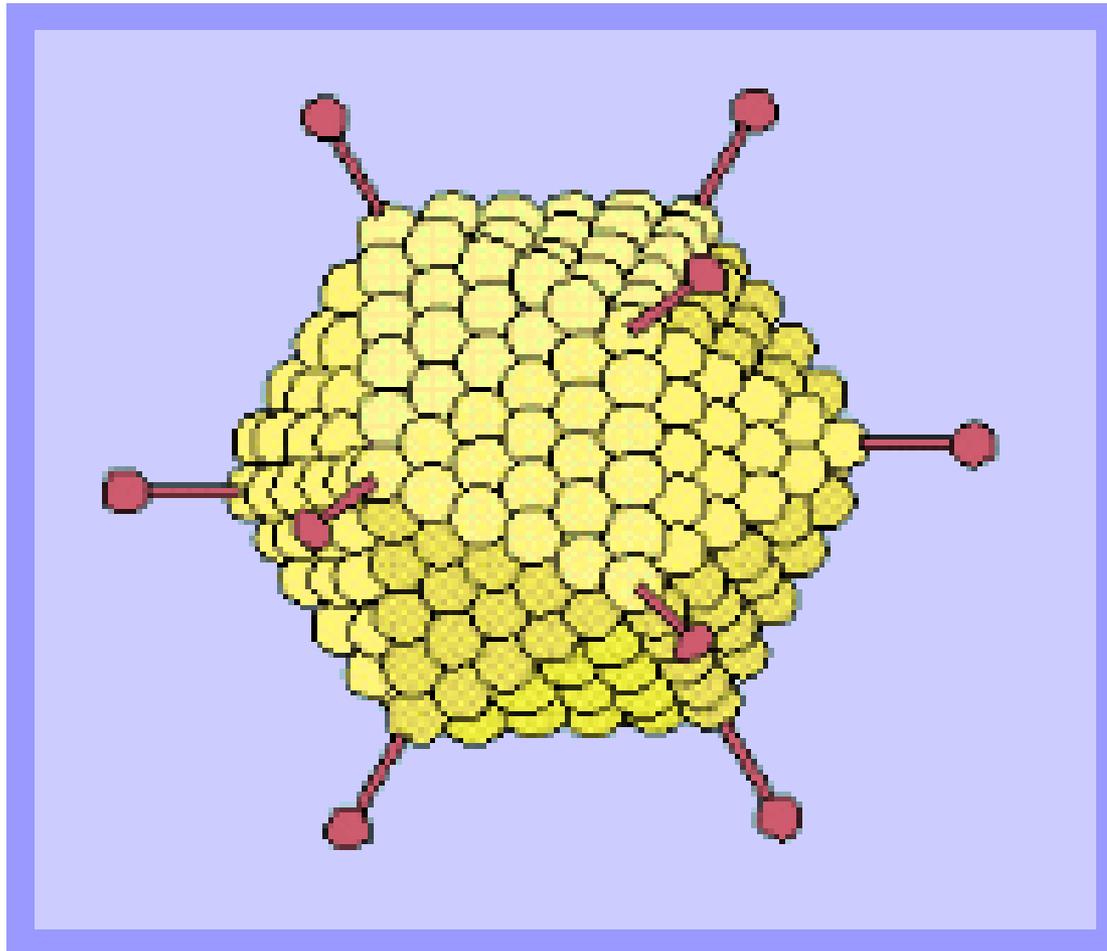
2. a doppia elica capsidico poliedrico: Adenovirus (infezioni respiratorie)

3. a doppia elica a DNA complessi e con pericapsidico: virus del vaiolo

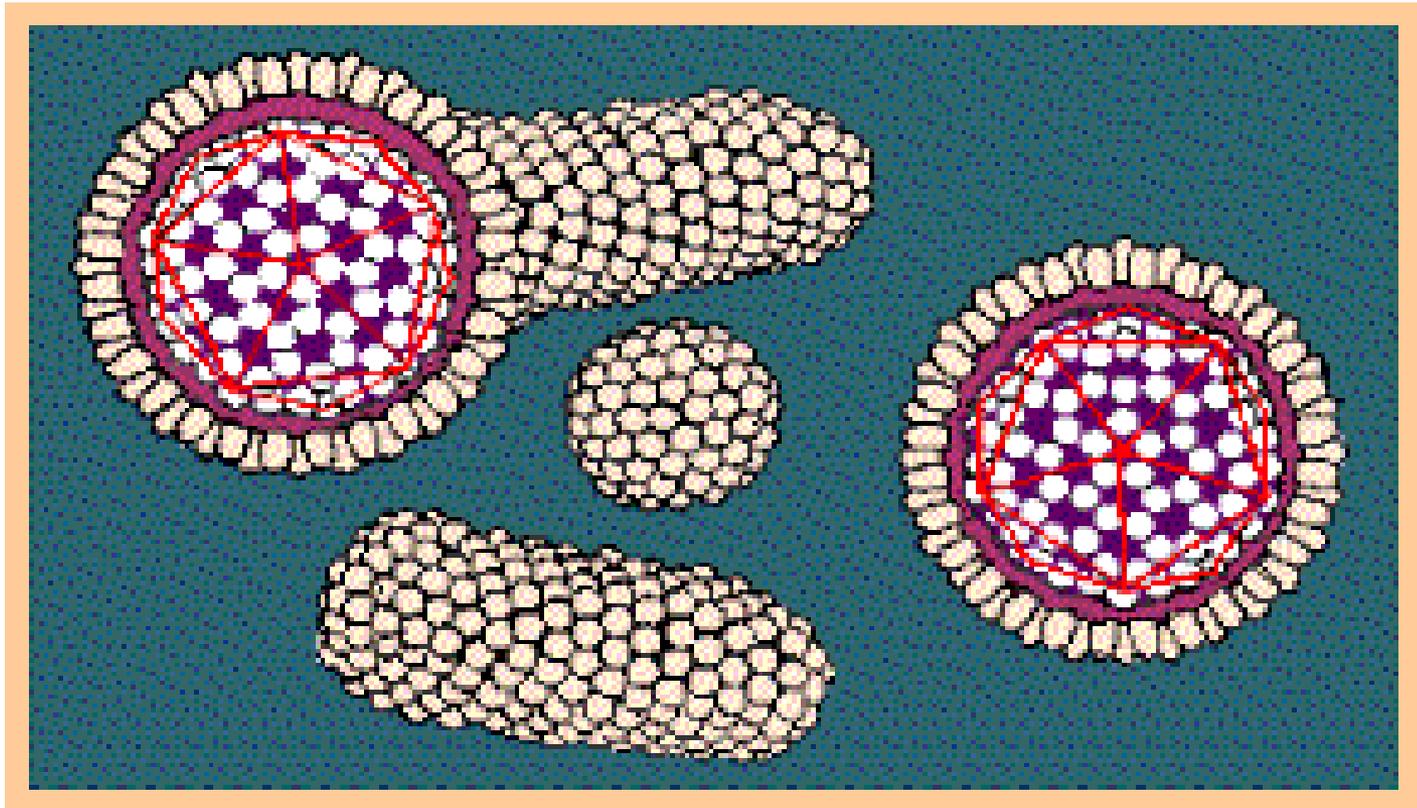
4. A doppia elica a DNA con capsidico poliedrico e pericapsidico:

Herpesvirus (varicella-zoster, citomegalovirus, v. Epstein-Barr, herpes simplex 1 e 2) e virus dell'epatite B

Adenovirus: virus a DNA



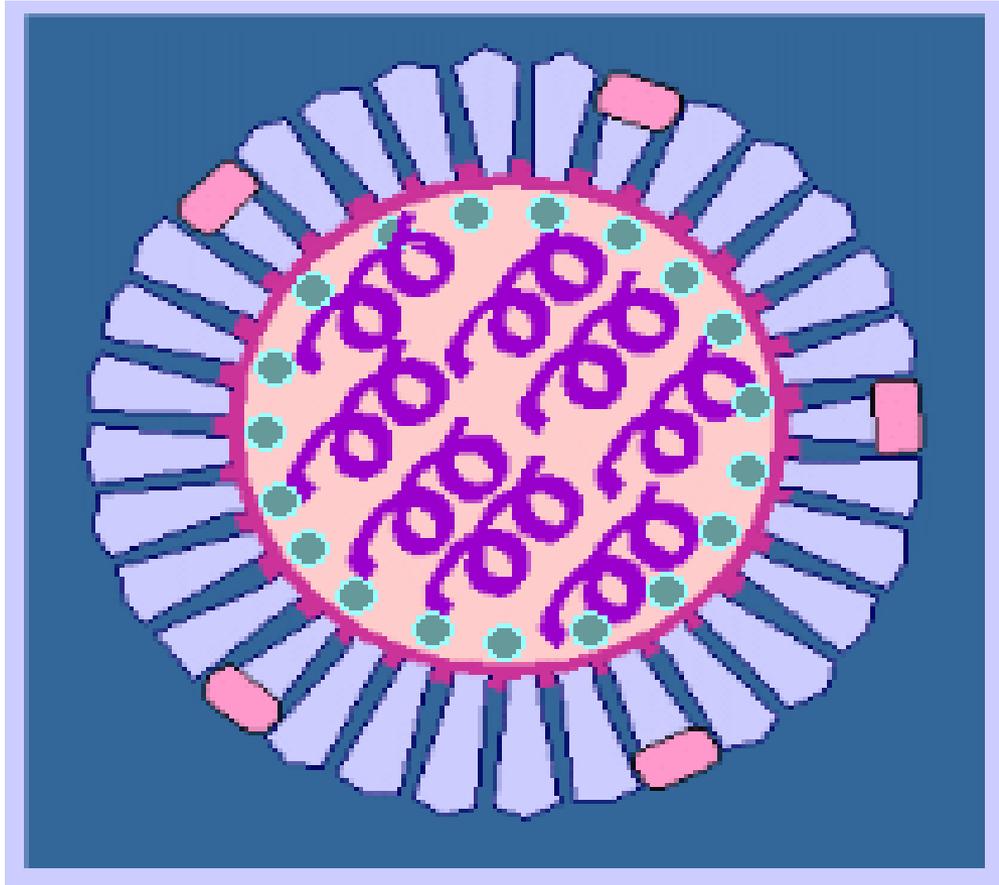
Virus dell'epatite B



Classificazione dei virus a RNA

1. A singola elica con capsidico poliedrico
es. enterovirus tra cui il virus della polio, virus del raffreddore, virus dell'epatite A
2. A elica singola con pericapside
es. virus della rosolia, epatite C
3. A singola elica capsidico elicoidale e pericapside: es. virus della rabbia, ebola, morbillo
4. A elica multipla con pericapside
virus dell'influenza

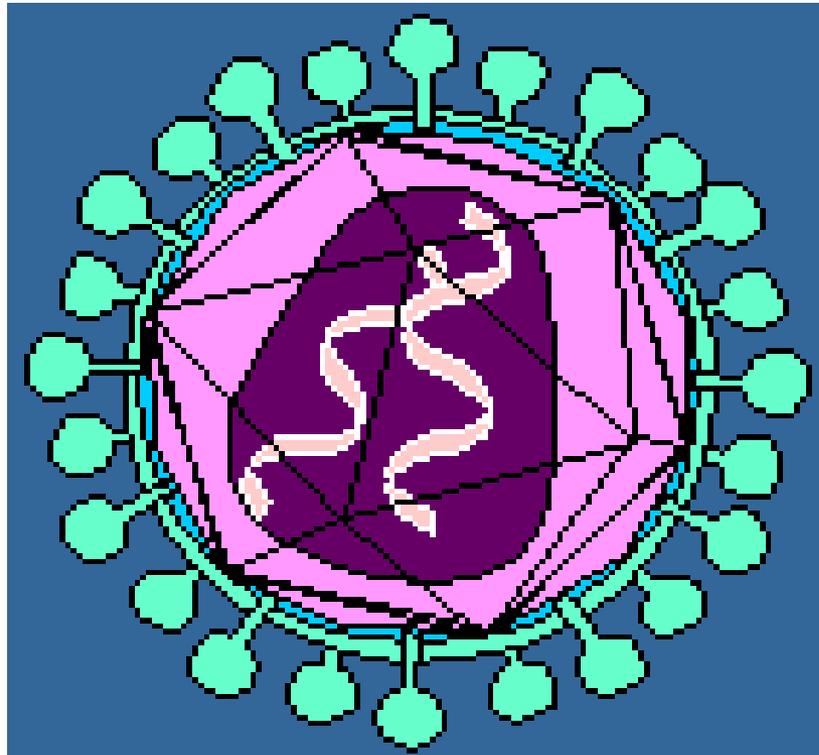
Un virus a RNA: il virus dell'influenza, che può presentarsi in forma sferica o allungata



Classificazione retrovirus

Virus che producono DNA da una elica di RNA usando la trascrittasi inversa, capsidede poliedrico con pericapside:

virus del'AIDS



FUNGHI O MICETI

- ✂ hanno struttura cellulare **eucariotica**, volume 20-50 volte > dei batteri
- ✂ hanno all'esterno della membrana citoplasmatica una parete rigida (**tunica**)
- ✂ il corpo detto **tallo** è costituito da filamenti tubolari (**ife**)
- ✂ possono riprodursi per via asexuata per **gemmazione** e per via sessuata (**ricombinazione genetica**) e possono produrre **spore** di resistenza
- ✂ sono **eterotrofi** cioè necessitano di sostanze organiche preformate

I Miceti che interessano la patologia UMANA

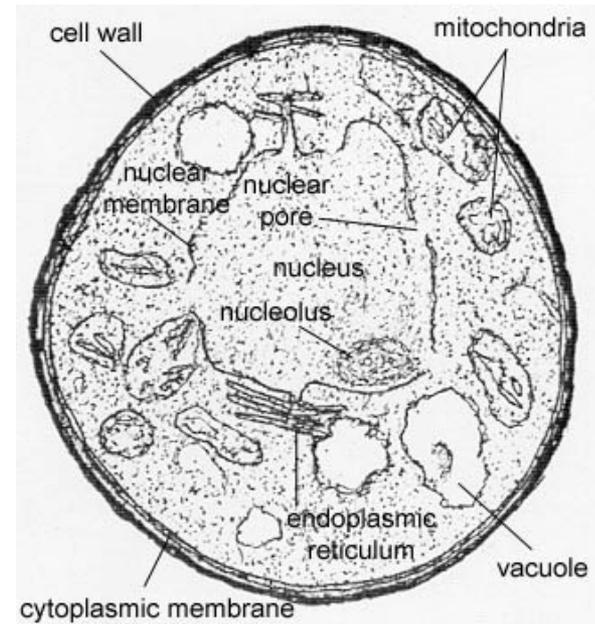
I miceti sono organismi **opportunisti** presenti come commensali sulla nostra cute e mucose, aggrediscono solo quando le difese dell'organismo vengono a mancare

Lieviti *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carinii*

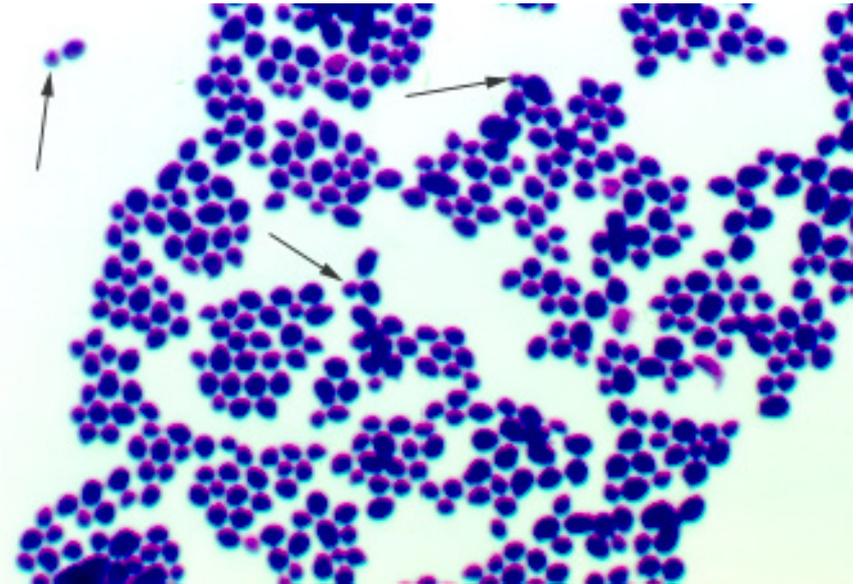
Muffe Dermatofiti

Funghi dimorfi *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*

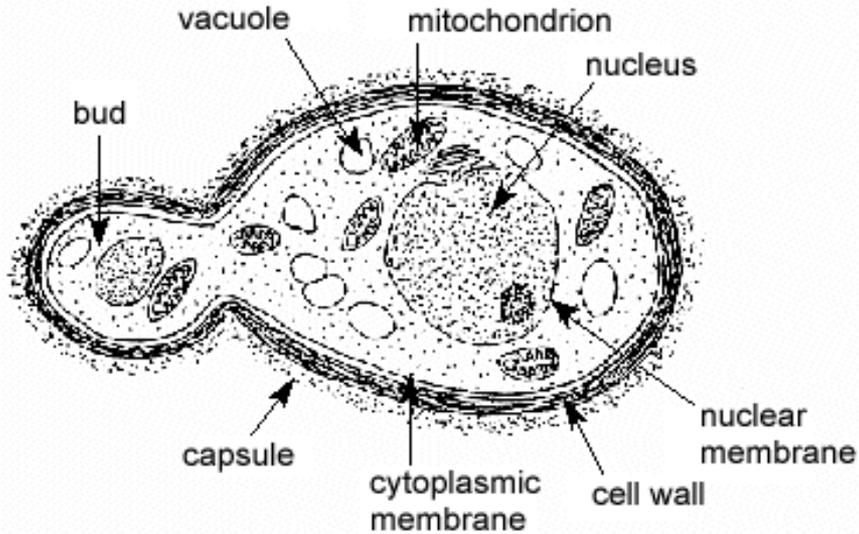
Candida albicans
tipica cellula eucariotica



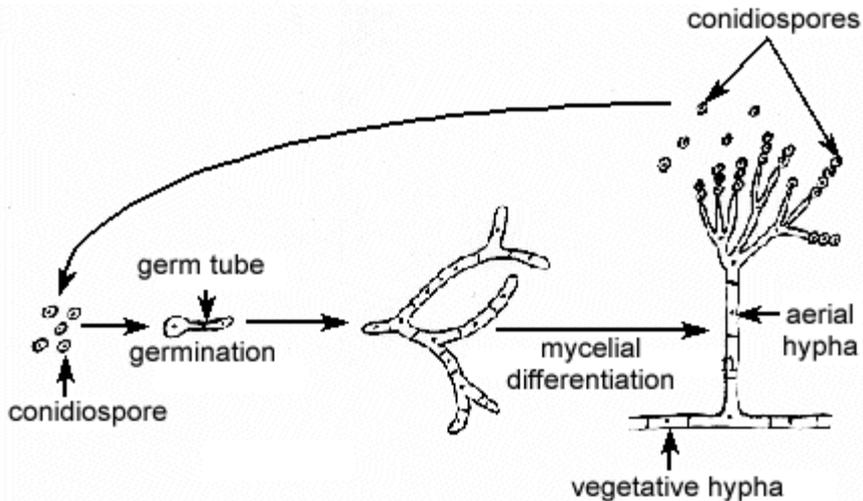
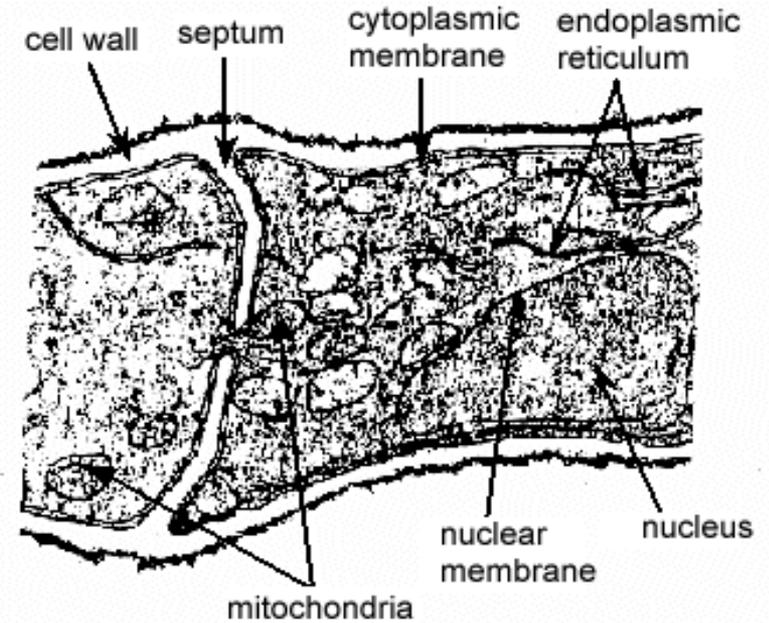
Candida albicans
notare le gemmazioni
(frecce)



Disegno di un lievito che si riproduce per gemmazione

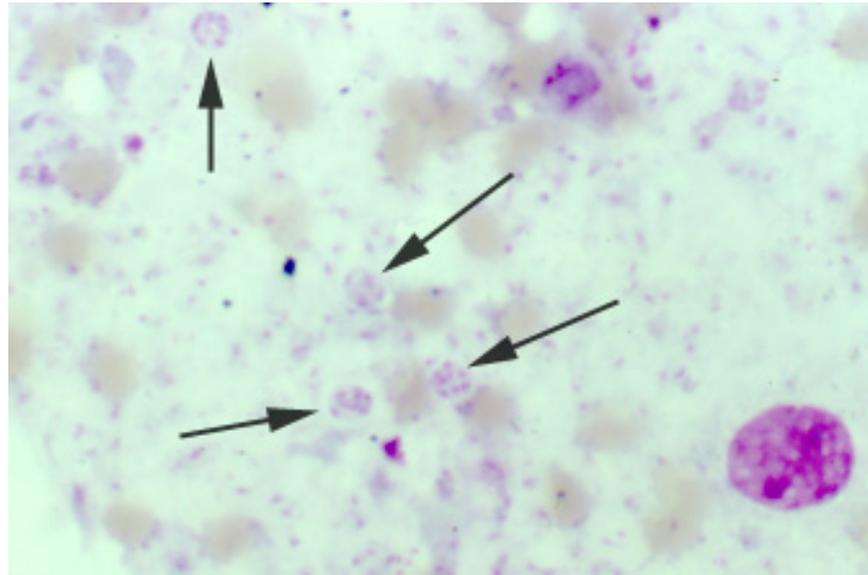


Ifa di una muffa

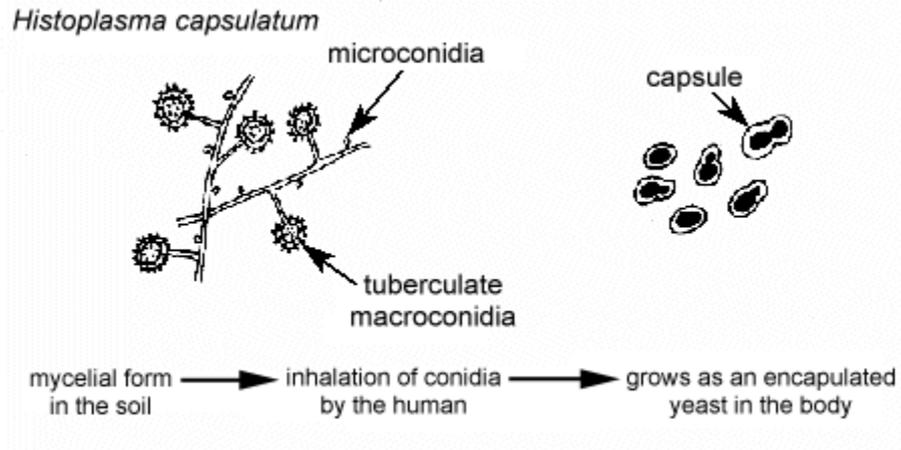


Riproduzione a sessuata di una muffa

Cisti di *Pneumocystis carinii* nel polmone di una persona infettata



Ciclo vitale di un fungo dimorfico (*Histoplasma capsulatum*)



I miceti vivono alle spalle di materiale in decomposizione (saprofiti) o di altri organismi viventi (parassiti)

Oltre 100.000 specie di funghi, solo \approx 100 patogene per gli animali



Giocano un ruolo importante nel riciclare i nutrienti e sono usati per produrre sostanze utili per l'uomo (es. antibiotici), ma provocano danni economici ed effetti indesiderati perché attaccano frutti, semi, ortaggi, legno e le pelli

PROTOZOI

Unicellulari **eucarioti**, mancano di parete cellulare (regno dei protisti)

hanno una forma vegetativa detta **trofozoita**, una di protezione detta **cisti** che consente la sopravvivenza fuori dall'ospite

si riproducono **asessualmente** per fissione, schizogonia, gemmazione

in qualche caso si riproducono anche **sessualmente** per fusione di gameti (es plasmodio)

si muovono per mezzo di pseudopodi, di cilia e flagelli

I protozoi sono normali abitanti del suolo e delle acque (20.000 specie) solo pochi sono patogeni per l'uomo

Ciliofori

Balantidium

Sarcomastigophora

Giardia

Trichomonas

Trypanosoma

Leishmania

Amebe

Apicomplexa

Plasmodium

Toxoplasma

Cryptosporium

PRIONE (entità proteica)

PARTICELLA PROTEICA INFETTIVA
RESPONSABILE DI MALATTIE NEURO-
DEGENERATIVE TRASMISSIBILI ANCHE PER
VIA VERTICALE E EREDITARIA

Sono forme modificate di proteine normali
codificate da un gene che ha subito mutazione

La proteina modificata ha molta resistenza agli
enzimi non funziona più normalmente e si accumula
nella cellula danneggiandola irreversibilmente

L'ingresso del prione altera la configurazione di una
normale struttura proteica e quindi è infettante