



## ***Materiale didattico di supporto***

---

Materiale delle lezioni, sarà reperibile nel minisito dell'insegnamento

**Raccomandazione importante:** Il materiale delle lezioni è riservato agli studenti UniFE ed è fatto divieto di diffonderlo in qualsiasi maniera, **potendo contenere immagini/filmati per i quali valgono i diritti di copyright.**

# Microbiologia e Microbiologia Clinica

CdL Infermieristica e Ostetricia AA 2019\2020

Docente: Bortolotti Daria

[brtdra@unife.it](mailto:brtdra@unife.it)

Testo Consigliato per eventuali approfondimenti:

Microbiologia e Microbiologia Clinica per le professioni sanitarie  
De Grazia, Ferraro, Giammanco  
Pearson

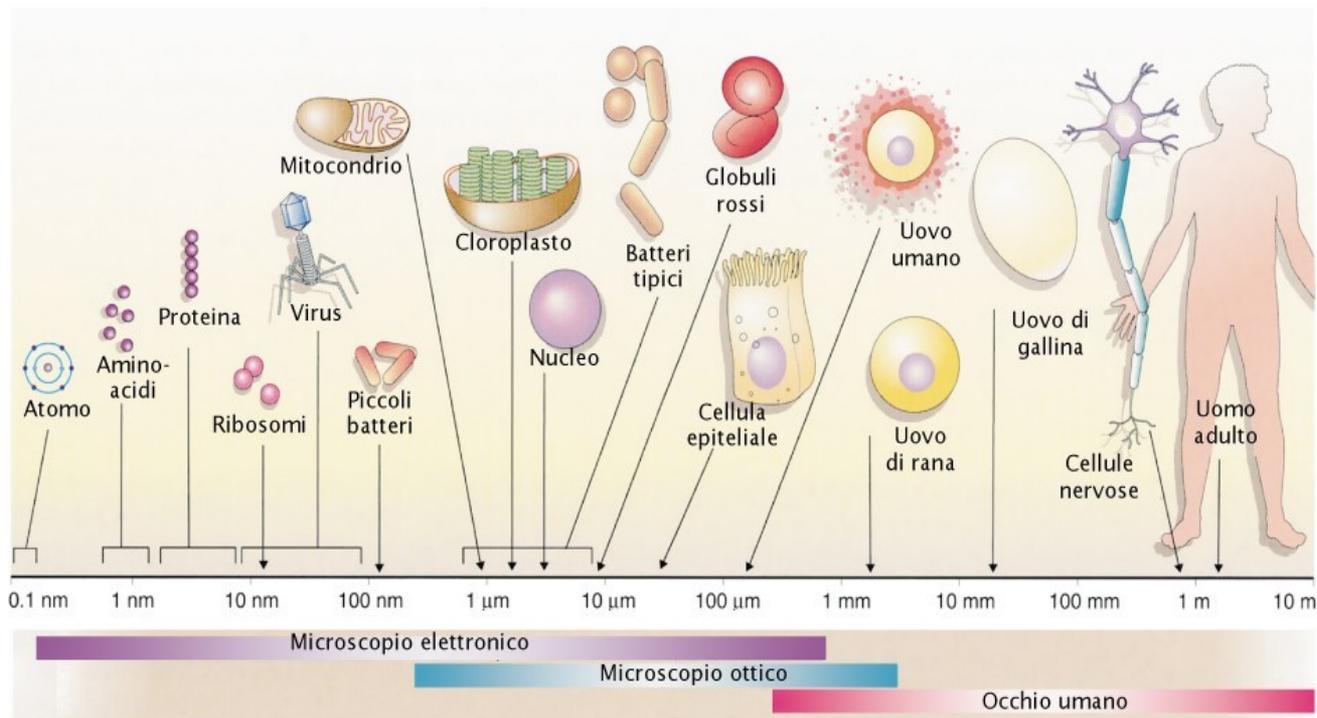


# MICROBIOLOGIA

si occupa dello studio di **struttura e funzione** dei microrganismi.

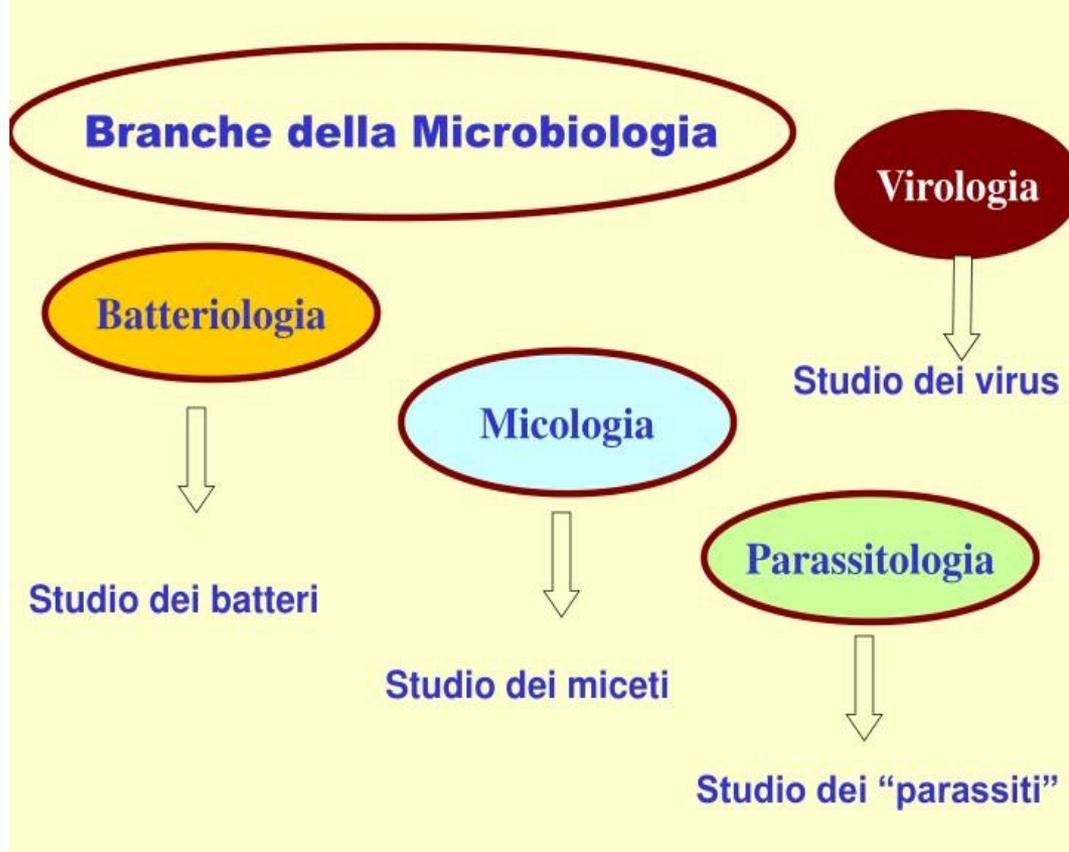


**organismi così piccoli da non potere essere visti a occhio nudo (<0,1mm)**



## Misure

1 metro	=	1000 millimetri (mm)
1 millimetro	=	1000 micrometri (µm)
1 micrometro	=	1000 nanometri (nm)



## MICRORGANISMI

**UTILI ALL'UOMO**

- ✓ Flora residente
- ✓ Riciclaggio e degradazione materiale organico

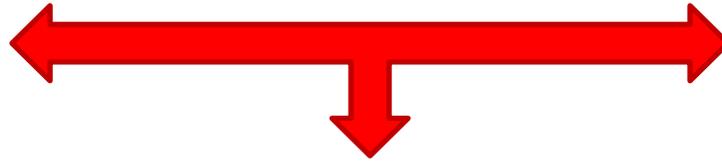
**DANNOSI ALL'UOMO**

- ✓ Causare **INFEZIONE**



**AGENTI INFETTIVI**

# AGENTI INFETTIVI



## EUCARIOTI

“vero nucleo”

Genoma all'interno di una membrana nucleare;  
Possiedono organelli

✓ PARASSITI

- PROTOZOI (5-150um)

-ELMINTI

✓ MICETI (funghi) (3-5um)

## PROCARIOTI

Genoma libero nel citoplasma;  
Non possiedono organelli

✓ BATTERI (0.2-2um)

## VIRUS

“acellulari” parassiti endocellulari obbligati;  
Composti solamente da ac. nucleico e proteine  
(20-300nm)

**Ci sono però agenti infettanti ancora più semplici:**

**Viroidi** = patogeni vegetali, piccole molecole di RNA senza proteine

**Prioni** = proteine senza acido nucleico

# INFEZIONE VS MALATTIA

**INFEZIONE** = il microorganismo arriva a contatto con l'ospite e moltiplica, senza che necessariamente causare malattia nell'ospite

**MALATTIA** = alterazione delle condizioni dell'ospite.

**Non ci può essere malattia infettiva  
senza infezione,  
MA  
non tutte le infezioni evolvono in  
malattia**

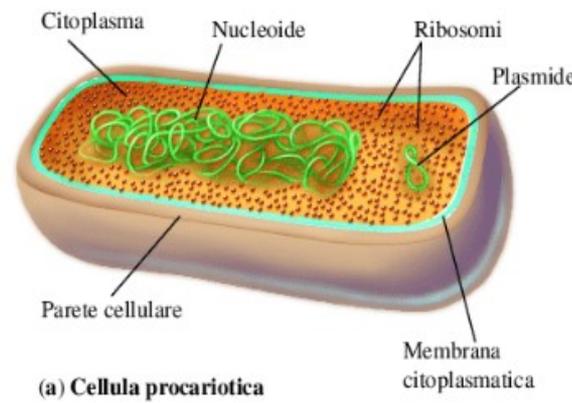
# Batteriologia

**GENERALE** = descrizione delle caratteristiche dei batteri

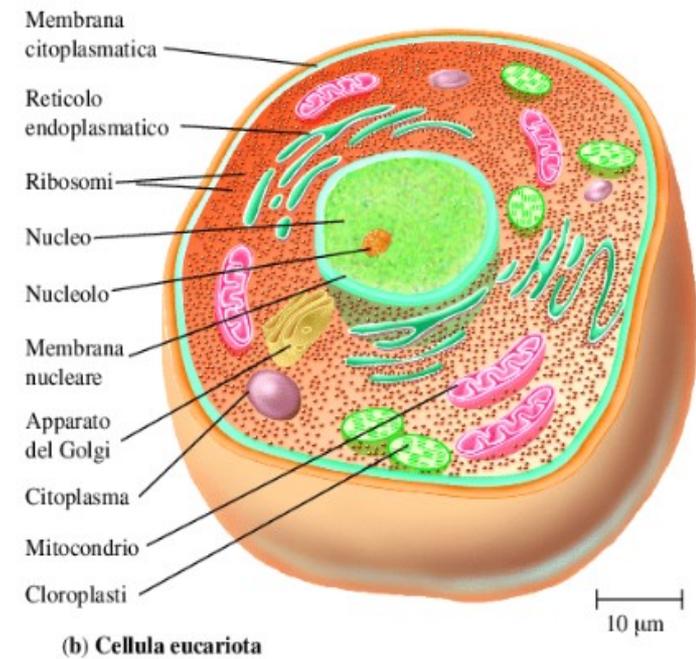
**SPECIALE** = studio dei batteri di interesse medico

...iniziamo con la **BATTERIOLOGIA GENERALE**

# Differenze fra Eucarioti e Procarioti:

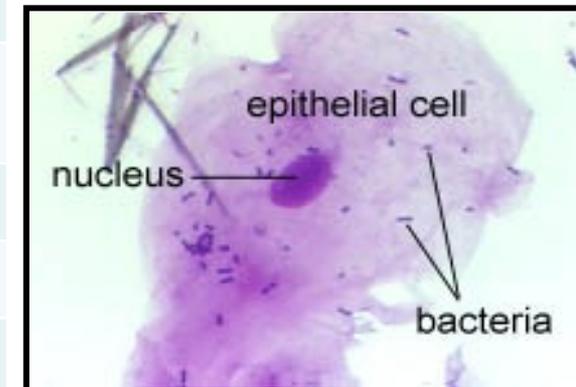


0,5  $\mu\text{m}$



10  $\mu\text{m}$

	<b>EUCARIOTI</b>	<b>PROCARIOTI</b>
<b>MEMBRANA NUCLEARE</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
<b>STRUTTURE CITOPLASMATICHE</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
<i>Mitocondri</i>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
<i>App. Golgi</i>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
<i>Ret. Endoplasmatico</i>	<b>SI</b>	<b>NO</b>
<i>Ribosomi</i>	<b>80s</b>	<b>70s</b>
<b>RESPIRAZIONE</b>	<b>Mitocondri</b>	<b>Membrana</b>



**Batteri su una cellula epiteliale umana della bocca**

# STRUTTURA DELLA CELLULA BATTERICA

Dall'esterno all'interno:

-**SISTEMI LOCOMOZIONE** (facoltativi)

-**CAPSULA** (facoltativa)

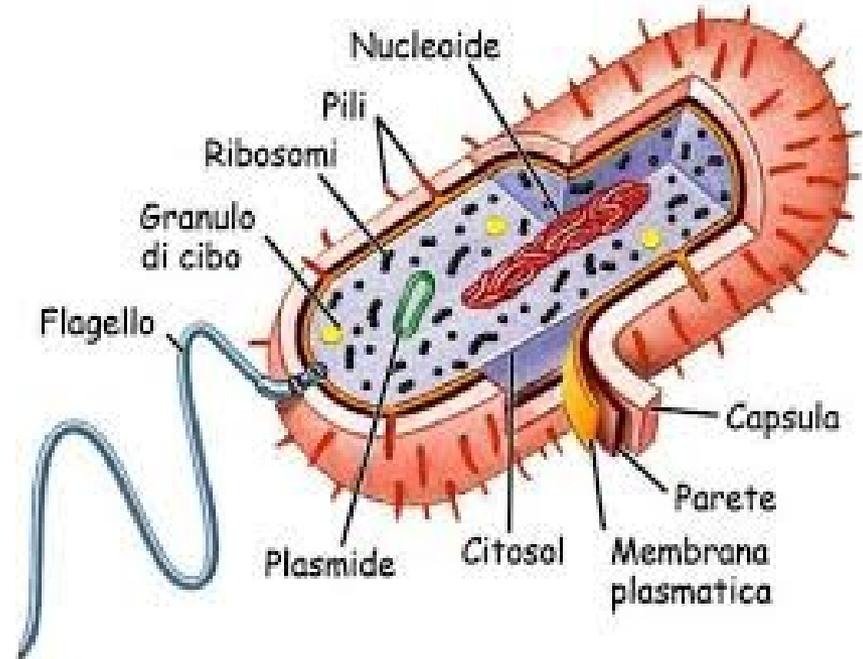
-**MEMBRANA ESTERNA** (Gram -)

-**PARETE CELLULARE**

-**MEMBRANA CITOPLOSMATICA**

-**CITOPLASMA** (non ci sono compartimenti intracellulari separati da membrana come nucleo, Golgi, mitocondri, ecc.).

-**GENOMA**(1 singolo cromosoma batterico ed eventuali plasmidi)



# FORMA DELLA CELLULA BATTERICA

## DIMENSIONI

0.2-2  $\mu\text{m}$  di larghezza

2 – 8  $\mu\text{m}$  di lunghezza

**MOLTO PIÙ PICCOLE DELLE  
CELLULE EUCARIOTICHE!!!**

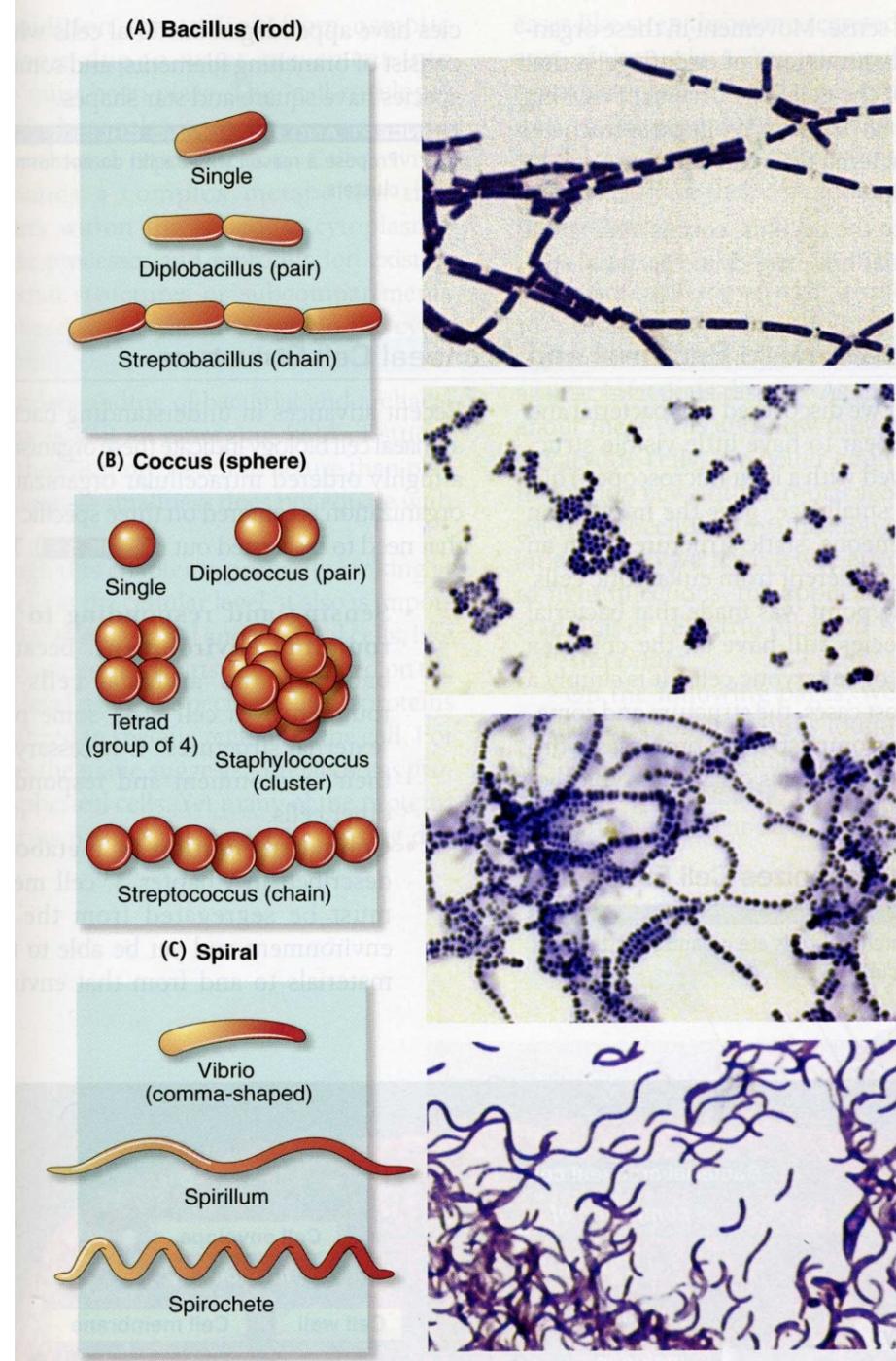
**I batteri posso  
avere:**

**Varie forme**

- ✓ cocco,
- ✓ bacillo,
- ✓ spirillo,
- ✓ vibrione

**vari raggruppamenti**

- ✓ diplo-,
- ✓ strepto-,
- ✓ stafilo-

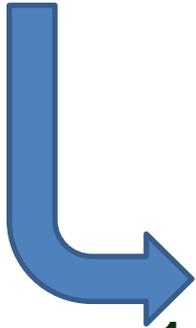


# GENOMA DELLA CELLULA BATTERICA

La cellula batterica non ha compartimenti intracellulari separati da membrana!



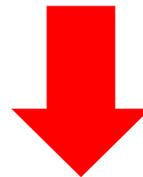
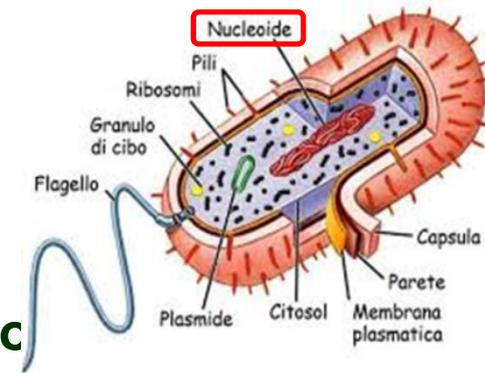
Il **DNA GENOMICO** è libero nel citoplasma in una zona detta **NUCLEOIDE**  
(non c'è nucleo, né membrana nucleare).



**1 singola molecola di DNA circolare bicatenarico**

*Es: in E.coli è circa 1400  $\mu\text{m}$  e codifica circa 4300 geni*

**MA** oltre al DNA genomico possono essere presenti altri **piccoli DNA extracromosomici**



**PLASMIDI**

# PLASMIDI

- ✓ Piccole molecole di DNA circolare (5-50 geni)
- ✓ Replicazione autonoma rispetto al DNA genomico
- ✓ non essenziali per la vita del batterio



## VANTAGGIO

utili al batterio per sopravvivere in particolari circostanze → -resistenza a

farmaci.  
es. i ceppi di *Escherichia coli* che causano diarrea → contengono plasmidi che codificano tossine e fattori di adesione alla parete intestinale.

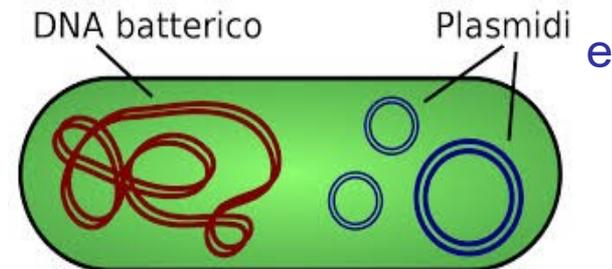
genetico,  
Senza questi plasmidi *E. coli* è un residente innocuo dell'intestino, con i plasmidi è patogeno.  
tossine,

-scambio

-produzione di

Un batterio può:

- ✓ non avere plasmidi,
- ✓ averne uno solo,
- ✓ averne tanti



I plasmidi possono essere trasferiti da un batterio all'altro, anche se sono batteri molto differenti, mediante meccanismi di SCAMBIO

GENETICO

# CITOPLASMA DELLA CELLULA BATTERICA

Ha composizione chimica simile a quella della cellule eucariotiche

- proteine,
- acidi nucleici,
- carboidrati,
- lipidi, ecc...

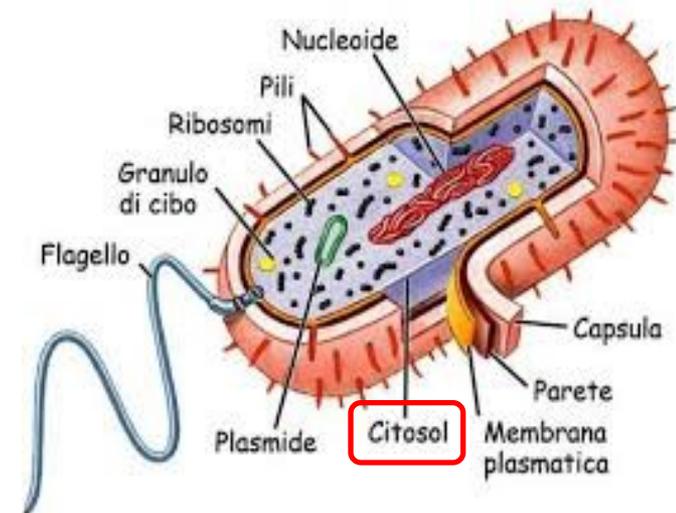
Differenze  
citoplasmatiche  
rispetto a cellule  
eucariotiche

**MA**

✓ **Mancano organuli**

✓ **Ribosomi 70S (2 subunità, 50S e 30S).**

A volte presenti **inclusioni  
citoplasmatiche** (funzione di riserva).



# SINTESI PROTEICA

## TRASCRIZIONE E TRADUZIONE ACCOPPIATE

Mentre mRNA viene sintetizzato i ribosomi vi si possono legare per la sintesi proteica

Ribosomi 70S\* (50S + 30S) ( $\neq$  ribosomi eucariotici 80S : 60S + 40S )

mRNA batterici hanno zone ricche di purine dette

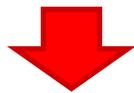
**SEQUENZE DI SHINE-DALGARNO**

(AGGAGG, sita fra i 3 e i 10 nucleotidi a monte del codone di inizio della traduzione)

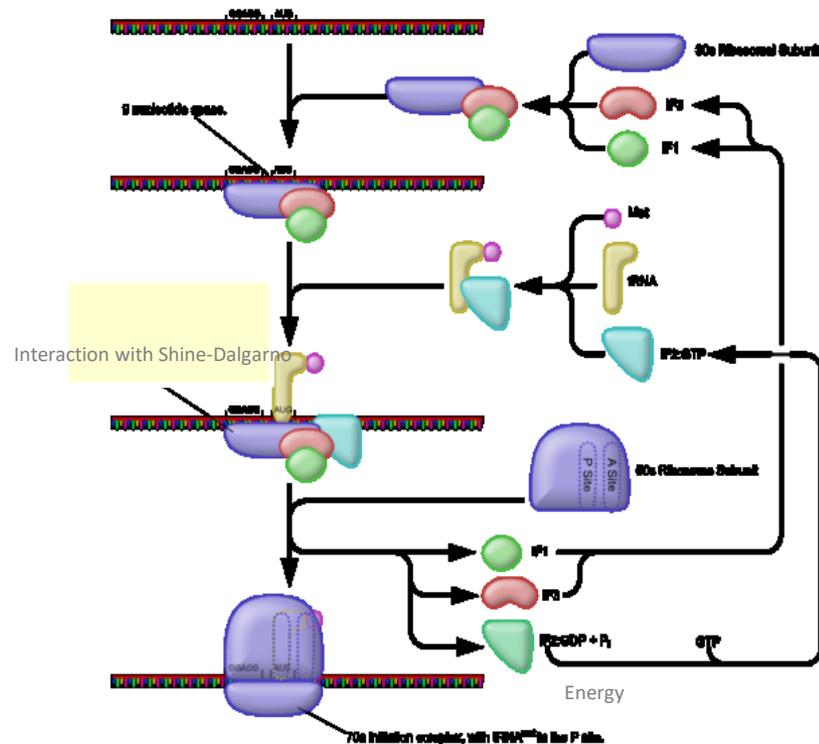
**complementari a 30S**



Sono riconosciute e legate dai ribosomi che vi si assemblano (30S poi 50S)



Inizio traduzione



\*differenza importante per trattamento con antibiotici

**mRNA procariotico è POLICISTRONICO (+ geni) e NON CONTIENE INTRONI**

# MEMBRANA PLASMATICA DELLA CELLULA BATTERICA

Doppio strato fosfolipidico simile a quella delle cellule eucariotiche

**MA**

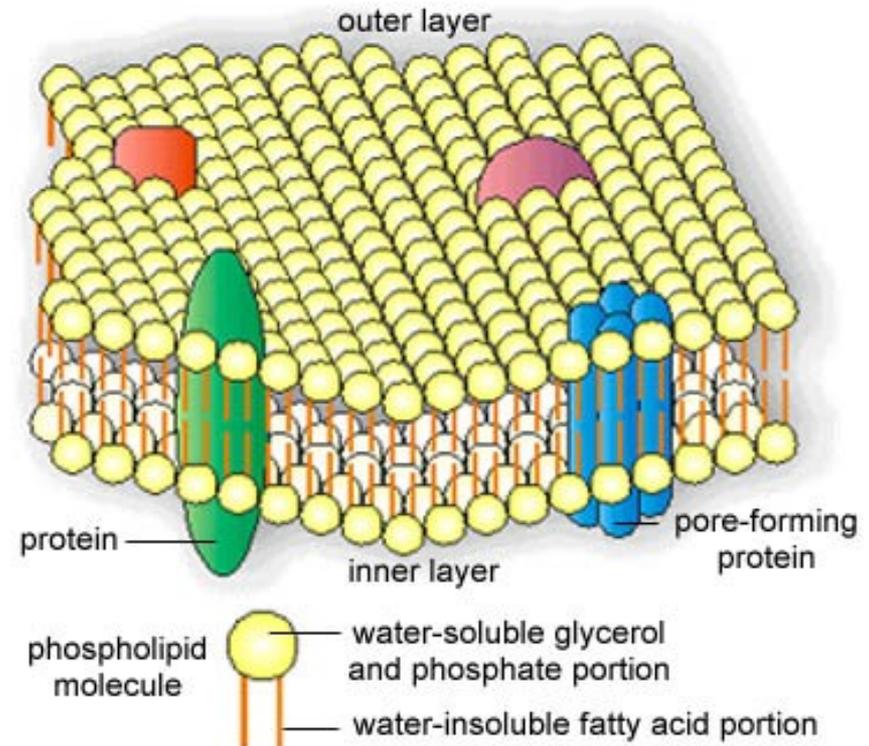
**non ha STEROLI (colesterolo)\* → + FLESSIBILE**

\* eccezione micoplasmi

Vi sono inserite diverse  
**PROTEINE**

-trasporto di prodotti e nutrienti

-enzimi necessari per la respirazione

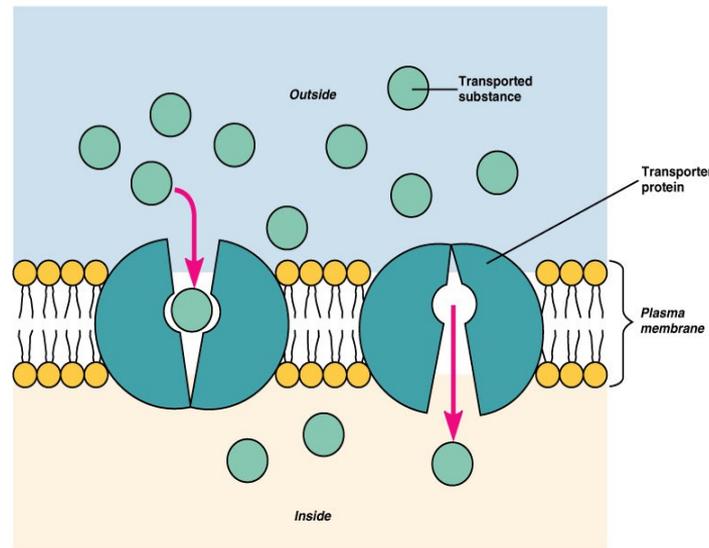


# MEMBRANA PLASMATICA DELLA CELLULA BATTERICA

## FUNZIONI MEMBRANA PLASMATICA:

- barriera selettiva:** lascia passare per diffusione passiva (gradiente di concentrazione) solo piccole molecole:  $H_2O$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ , zuccheri semplici e alcune sostanze liposolubili.
- sistemi di trasporto attivo** (trasferimento ad opera di proteine), necessitano energia sotto forma di ATP;
- produzione di energia (ATP);**
- processi biosintetici** (es. sintesi di **PEPTIDOGLICANO**) → PARETE

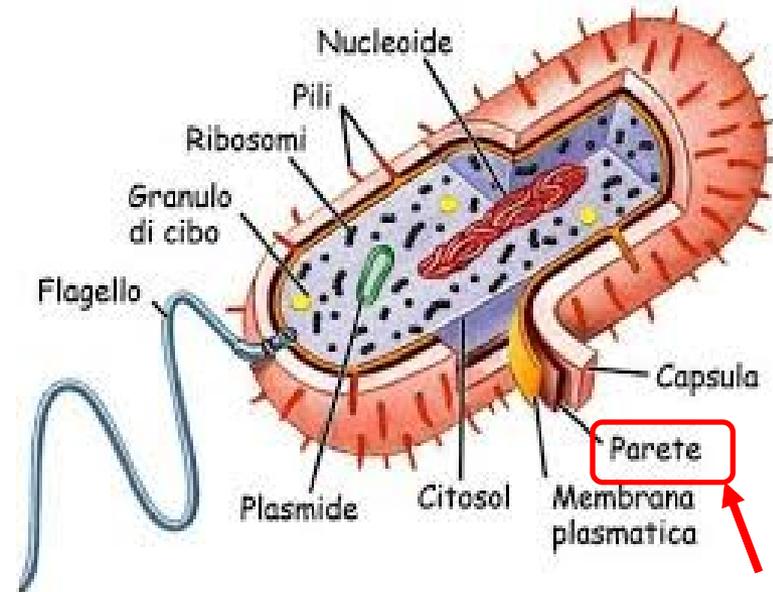
## BATTERICA



Trasporto ad opera di proteine

# LA PARETE BATTERICA

- ✓ È esterna alla membrana citoplasmatica
- ✓ E' rigida
- ✓ Determina la forma del batterio



## FUNZIONI PARETE BATTERICA

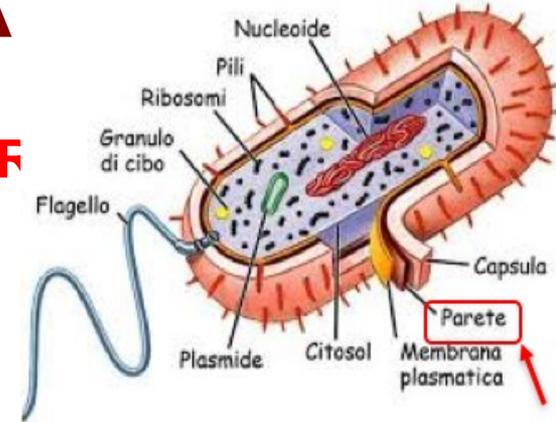
1. PROTEGGERE LA CELLULA DALL LISI OSMOTICA
2. PROTEGGERE LA MEMBRANA CITOPLOSMATICA
3. PROTEGGERE DA SOSTANZE DANNOSE:
  - TOSSINE
  - DNAsi
  - PROTEASI
4. PERMETTERE L'INGRESSO DI NUTRIENTI



**MICOPLASMI** → NON hanno la parete  
**CLAMIDIE** → hanno parete con composizione particolare

# LA PARETE BATTERICA

## STRUTTURA DELLA PARETE BATTERICA



Componente fondamentale = PEPTIDOGLICANO



composto da 2 carboidrati azotati:

legati da legame  
glicosidico\*  $\beta(1-6)$

- N**-acetil**g**lucos**a**mina (NAGA)
- A**cido **N**-acetil**m**uramic (NAMA).

NAGA + NAMA → l'unità fondamentale del peptidoglicano (con legame  $\beta(1-4)$ )



diverse unità si legano in successione, formando lunghe molecole di

peptidoglicano

\*  $\text{C-OH}$  tipico dei polisaccaridi

**(NAGA + NAMA)<sup>n</sup>**



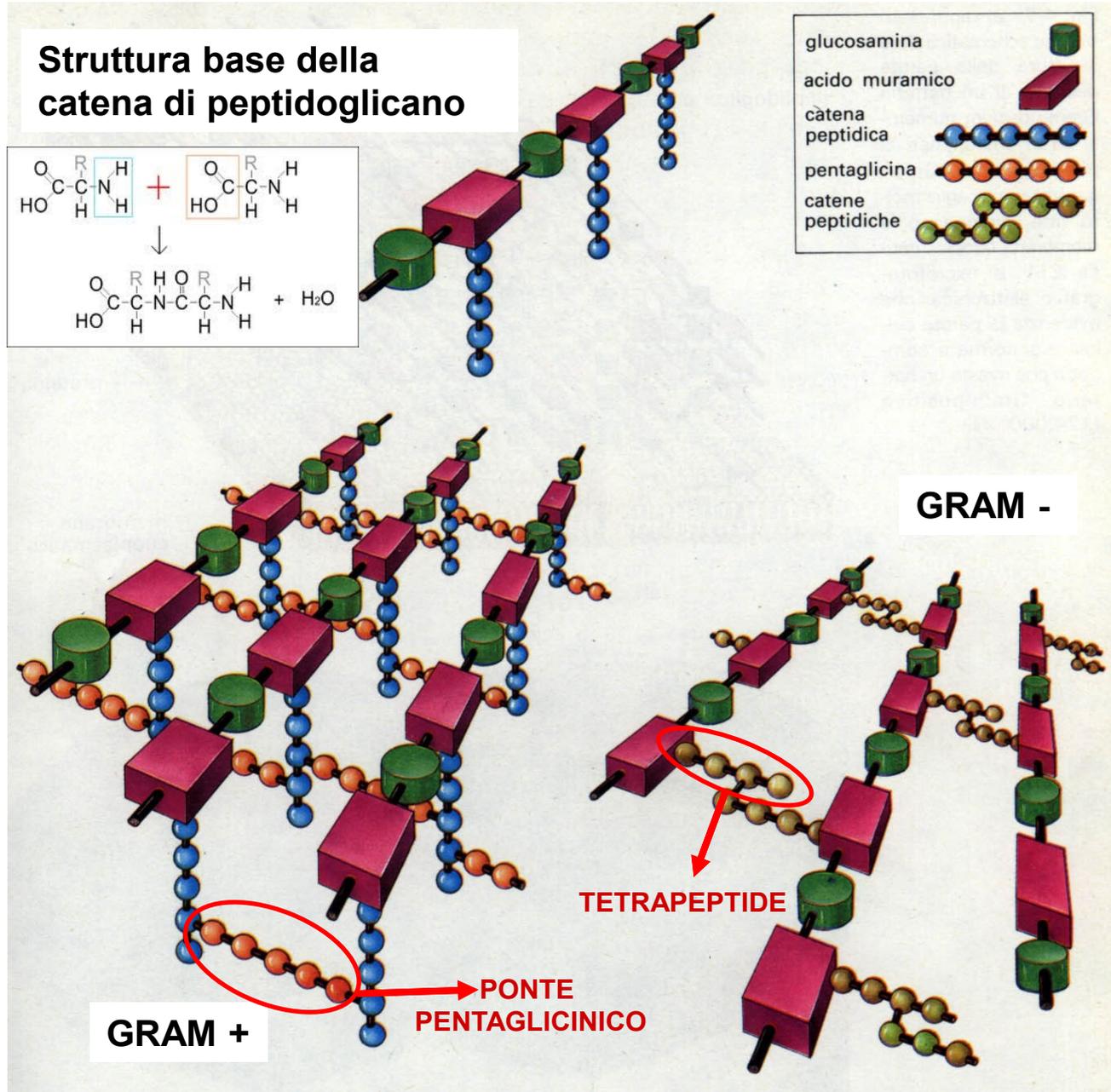
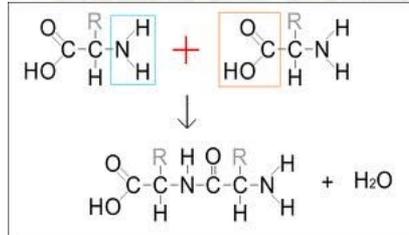
**Lunghe catene di PEPTIDOGLICANO che si uniscono fra loro mediante CORTE CATENE PEPTIDICHE**



✓ **Gram -** → il legame avviene tramite un **TETRAPEPTIDE**

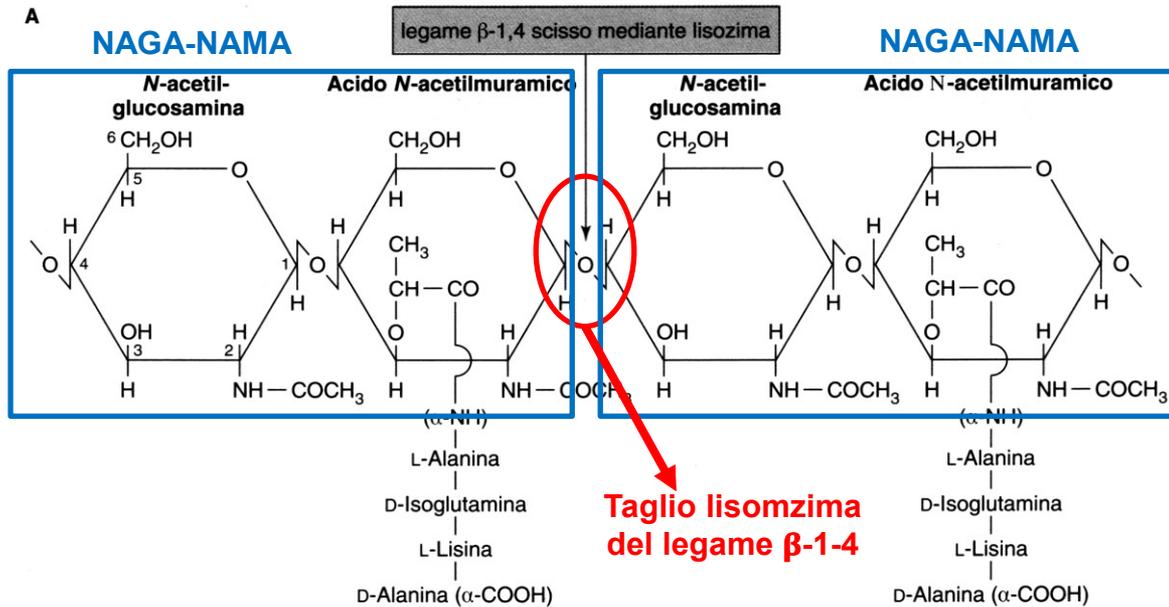
✓ **Gram +** → legame avviene mediante un **PONTE PENTAGLICINICO**.

**Struttura base della catena di peptidoglicano**



# DISTRUZIONE DELLA PARETE BATTERICA

La parete batterica può essere degradata da **ENZIMI EUCARIOTICI** → **LISOZIMA**



molto diffuso nei **FLUIDI BIOLOGICI** (saliva, muco, lacrime, bianco d'uovo)

Il **LISOZIMA** rompe il **legame  $\beta$ -1-4** fra le due unità **NAGA-NAMA**

causa la formazione di un **PROTOPLASTO** (= cellula batterica priva di parete, con la sola membrana cellulare)

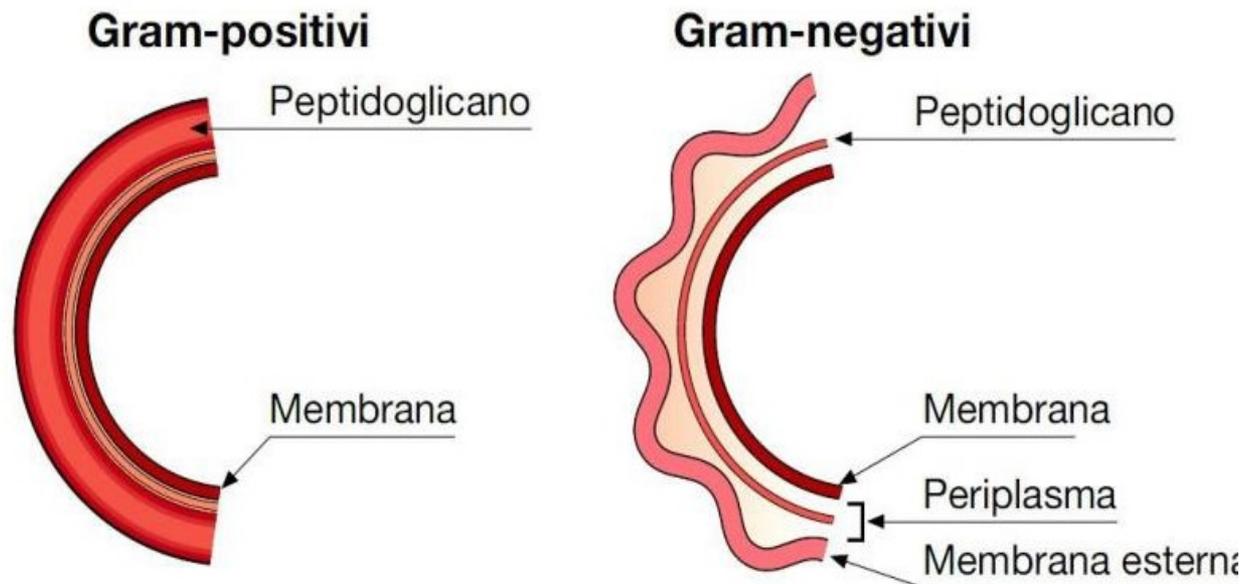
# COSTITUZIONE PARETE GRAM + VS GRAM -

**È DIVERSA!!!**

Per la diversa organizzazione del peptidoglicano

**GRAM +** → è uniforme, spessa 20-80 nm;

**GRAM -** → è più sottile (10nm) con una membrana esterna.



# PARETE DEI GRAM +

- ✓ consente il **passaggio di molecole idrofile** (zuccheri, aminoacidi, ecc.).
- ✓ Formata da molti strati di peptidoglicano, intersecato da **acidi teicoici e lipoteicoici** (polimeri di alcoli e fosfati)



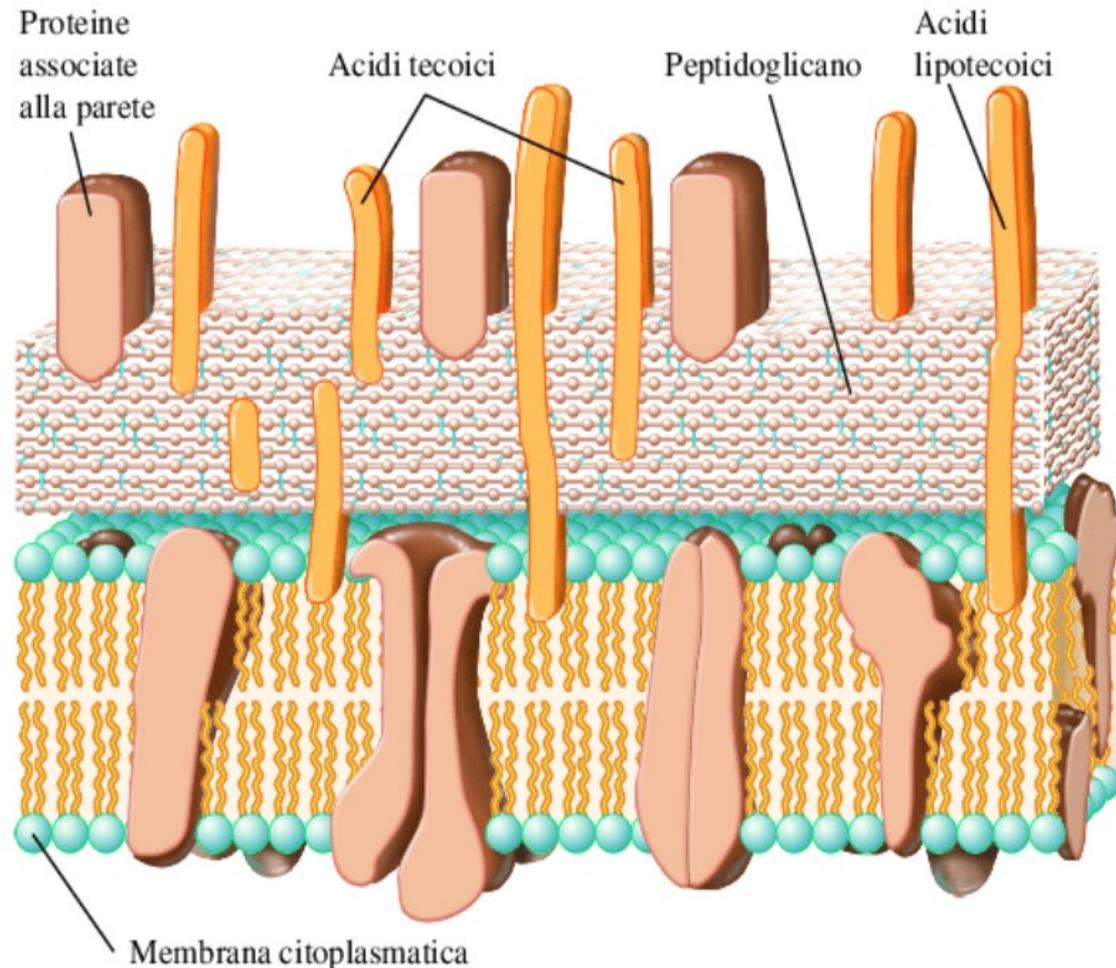
- ✓ altamente antigenici
- ✓ necessari per il funzionamento degli **ENZIMI DI MEMBRANA**



Perché **legano IONI** (es.  $Mg^{2+}$ )

*Ciò consente ai Gram+ di tollerare concentrazioni saline più elevate dei Gram- (→ terreni selettivi).*

- ✓ Si proiettano all'esterno formando **FIBRILLE** (adesione a mucose)

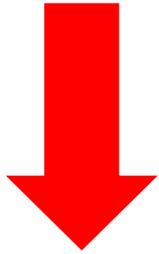


# PARETE DEI GRAM-

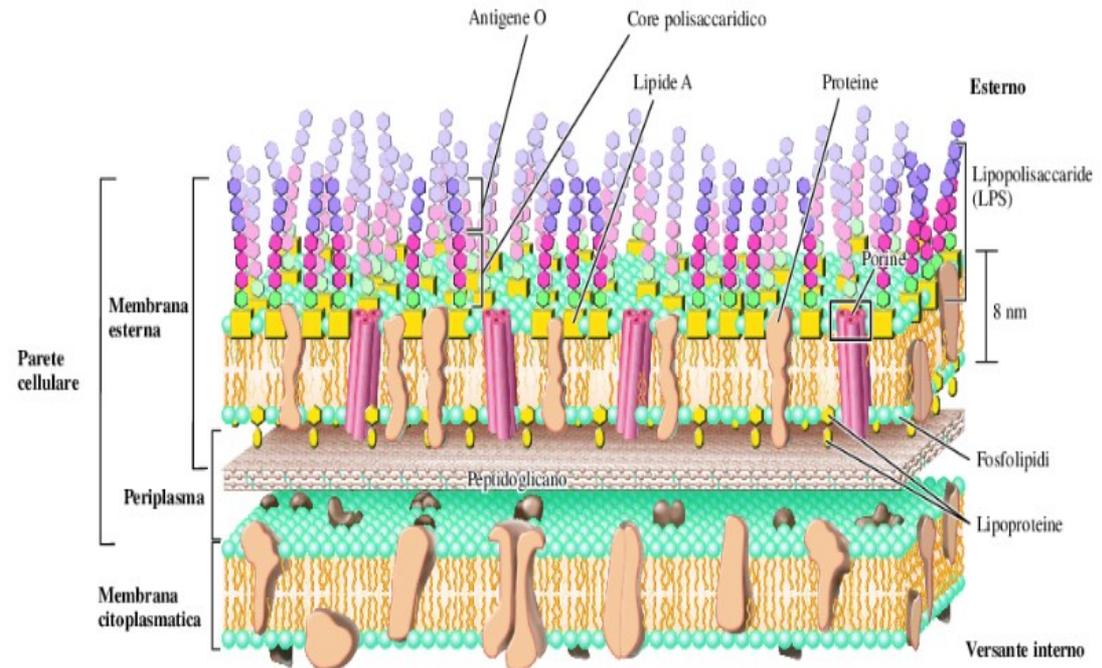
✓ Più sottile → 1 solo strato di peptidoglicano, senza acidi teicoici

**MA**

**HANNO UN RIVESTIMENTO ESTERNO PIU' COMPLESSO!!!**

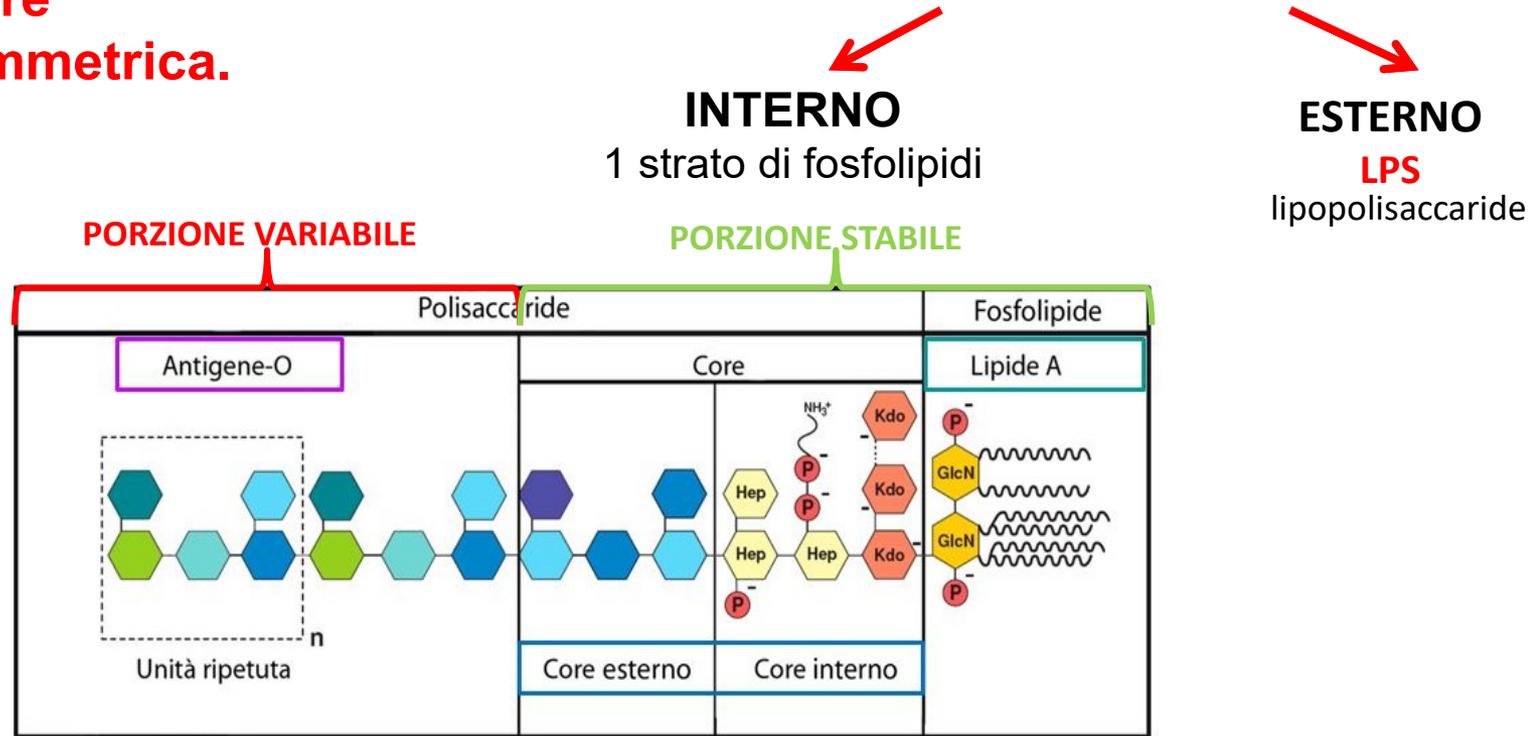


**MEMBRANA ESTERNA**



# PARETE DEI GRAM- : MEMBRANA ESTERNA

- ✓ **DIVERSA DALLA MEMBRANA PLASMATICA!** → **Struttura bilaminare asimmetrica.**



LPS è composto da:

- parte lipidica (**lipide A**): *è una tossina (attività endotossica)*
- porzione polisaccaridica interna (**core**, 9-12 zuccheri)
- lunga catena polisaccaridica (**Antigene O**) → funzione antigenica specie-specifica

# PARETE DEI GRAM- : MEMBRANA ESTERNA

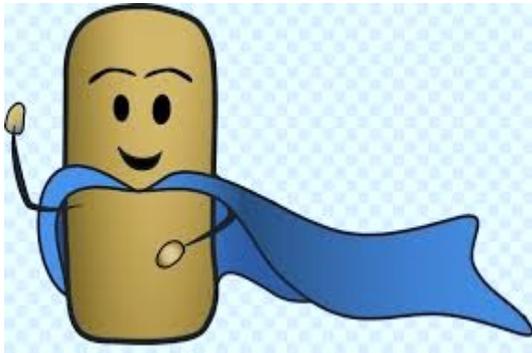
**ALTA PRESENZA DI LIPIDI** → non consente il passaggio di molecole idrofiliche



I batteri GRAM- sono insensibili ad alcuni antibiotici che impediscono la sintesi del peptidoglicano (Es. *penicillina*)

perchè

il farmaco non riesce ad attraversare la membrana esterna.



# PARETE DEI GRAM- : MEMBRANA ESTERNA

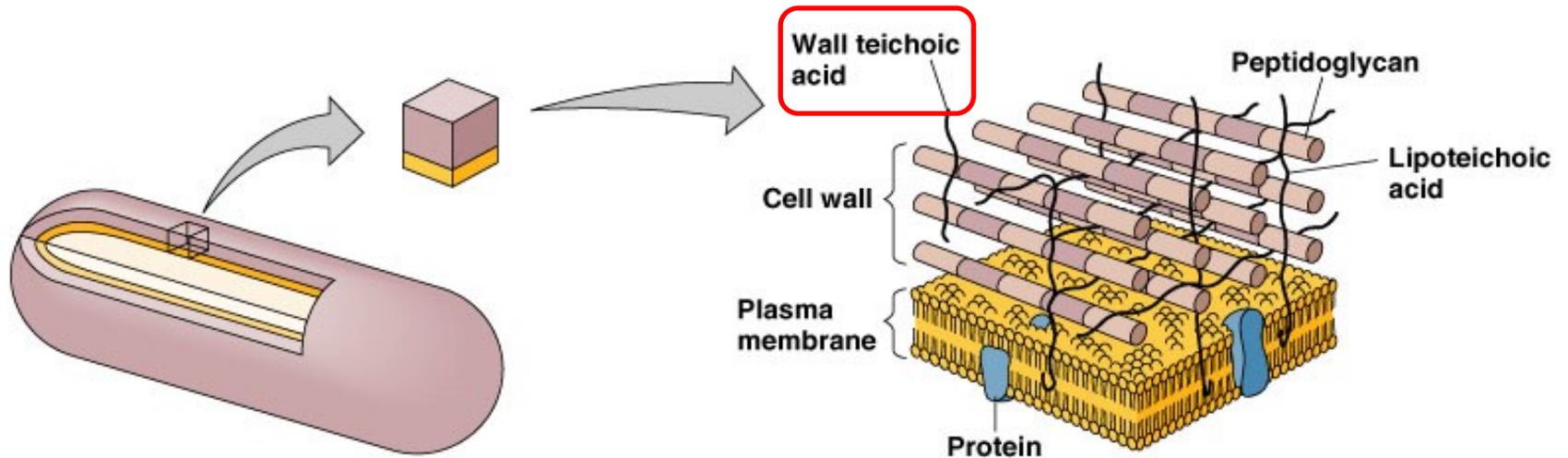
Il passaggio di piccole molecole è regolata dalle **PORINE**

- **PORINE**
- Le porine sono aggregate tre a tre e formano dei canali attraverso la membrana che permettono il passaggio per diffusione di alcune piccole molecole (600-700 Da).
- La sintesi delle porine è strettamente regolata

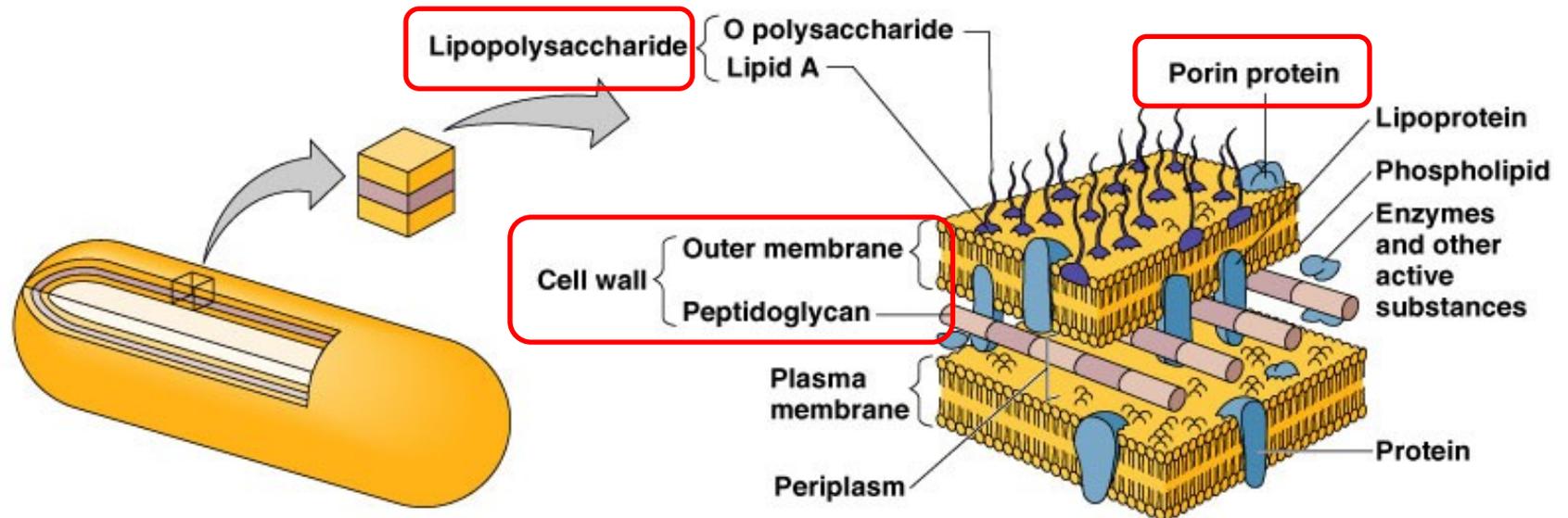
Tabella 6.2. Proteine dei canali della membrana esterna di *E. coli* e *S. typhimurium*

<i>Proteine</i>	<i>Ruolo fisiologico</i>
<b>PORINE</b>	
OmpC	Forma piccoli pori (1,1 nm)
OmpD	Presente solo in <i>S. typhimurium</i>
OmpF	Forma pori più larghi (1,2 nm) di OmpC; viene repressa da alte temperature e da pressione osmotica più elevata
PhoE	Viene formata in carenza di fosfato
<b>PROTEINE DI CANALE SPECIFICHE</b>	
LamB	Specifica per la diffusione del maltosio e delle maltodestrine; è indotta da maltosio; sito di adsorbimento del fago lambda
Tsx	Specifica per l'entrata per diffusione dei nucleosidi; sito di adsorbimento del fago T6
TonA	Specifica per l'entrata per diffusione del ferri-cromo; sito di adsorbimento dei fagi T1 e T6

# DIFFERENZE PARETE GRAM+ VS GRAM -



(b) Gram-positive cell wall



(c) Gram-negative cell wall

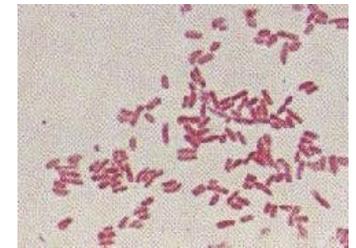
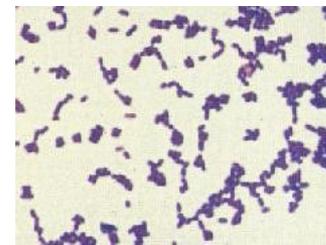
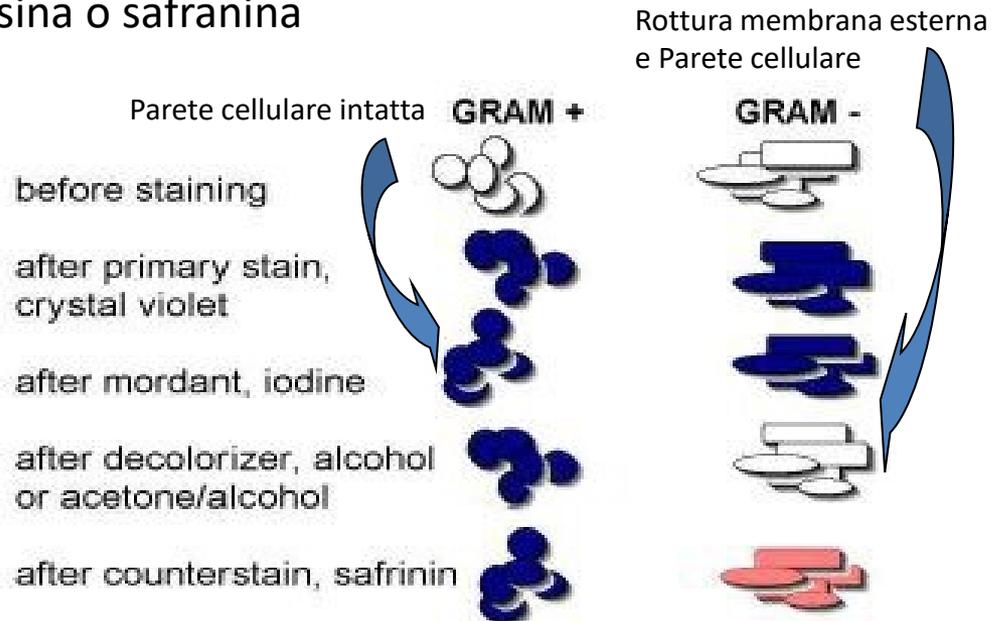
# COLORAZIONE DI GRAM

- 1) Fissatura con calore
- 2) Colorante: cristalvioletto (basico)
- 3) Mordenzatura (precipita colorante): iodo-ioduro potassico (liquido di Lugol)
- 4) Decolorazione con alcool o acetone
- 5) Colorazione di contrasto: fucsina o safranina

**Batteri Gram +:** trattengono il colorante basico (viola), poiché l'alcool non ha danneggiato a sufficienza la spessa parete cellulare (idrofila) che non permette al colorante di passare.

**Batteri Gram -:** sono privi di colorazione, questo perché l'alcool ha sciolto i lipidi della membrana esterna e danneggiando la sottile parete cellulare che non è più in grado di trattenere il complesso cristal violetto - ioduro (liposolubile).

Colorante di contrasto: *penetra solo in cellule decolorate poiché, anche se solo modestamente idrofile, sono in grado di passare la parete cellulare grazie alle loro ridotte dimensioni.*

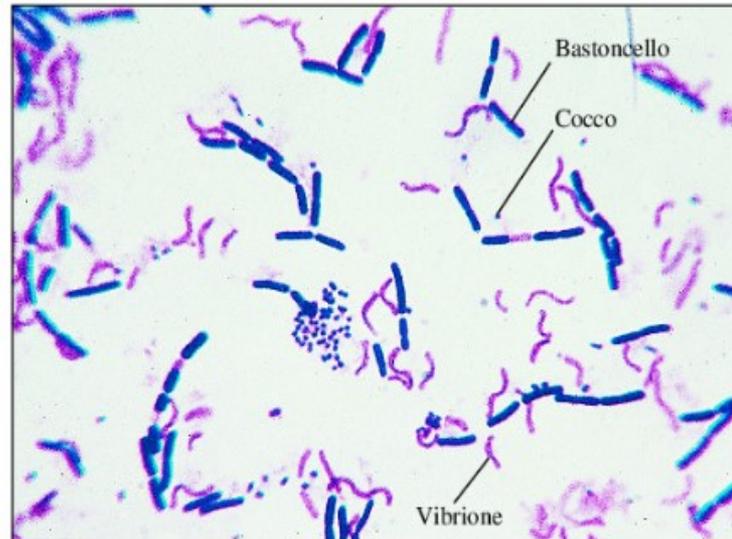
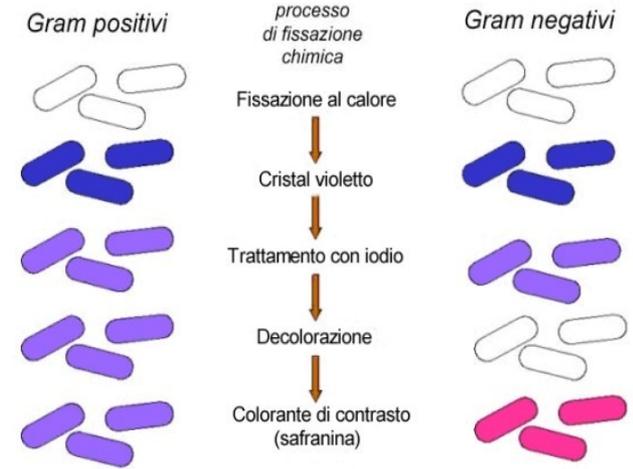


# COLORAZIONE DI GRAM

La diversa colorazione è dovuta alla diversa composizione della parete batterica:

**GRAM-** → parete più sottile : maggiore permeabilità (l'alcol li decolora → **batteri rossi**),

**GRAM+** → parete più spessa: minore permeabilità (l'alcol non li decolora → **batteri blu\viola**).

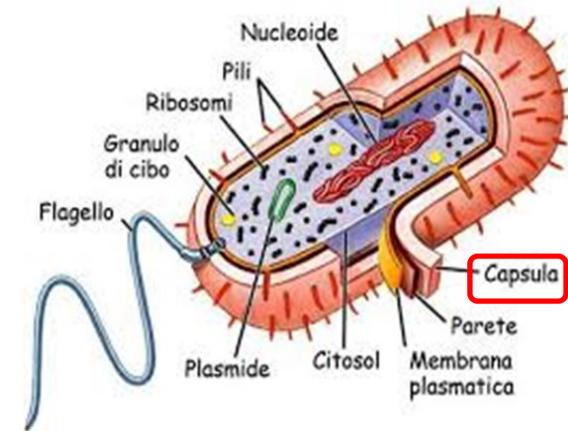


(b)

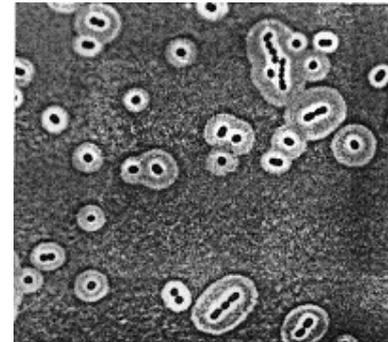
LM 5 μm

# LA CAPSULA

- ✓ La capsula è esterna alla parete
- ✓ Involucro mucoso amorfo (STRATO S) + matrice fibrosa esterna (CAPSULA)
- ✓ riveste numerosi batteri, sia Gram+ che Gram-.
- ✓ non è una struttura essenziale  
**MA**
- ✓ E' un importante fattore di virulenza. *Di solito i batteri patogeni sono capsulati in vivo, ma non in vitro.*



La presenza della capsula si evidenzia mediante **colorazione negativa con inchiostro di china**



# LA CAPSULA

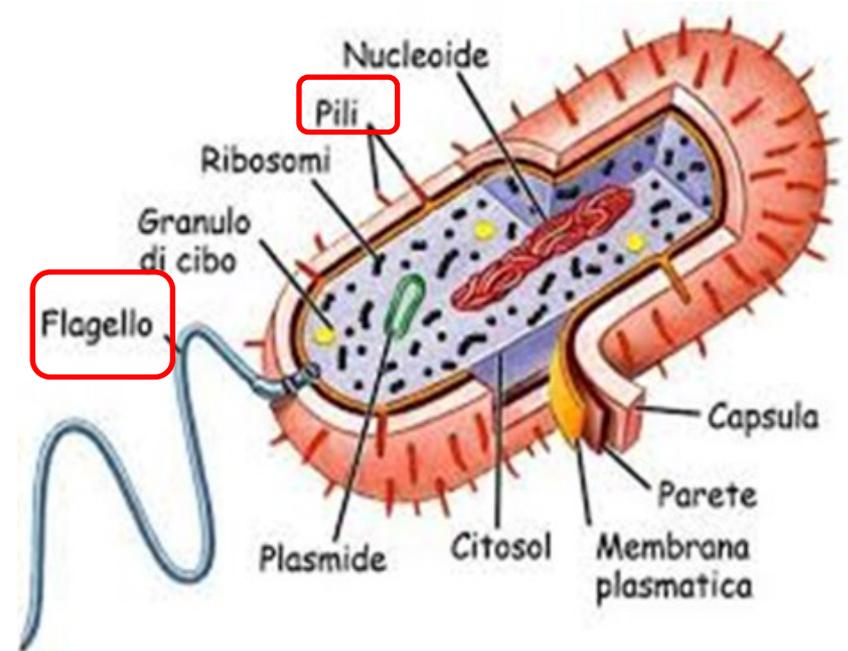
## FUNZIONI:

- ✓ **Fare aderire i batteri al substrato** *(es. Streptococcus mutans, agente della carie dentale, può aderire ai denti grazie alla capsula).*
- ✓ **Attività antifagocitaria**
- ✓ **Protegge dall'essiccamento**
- ✓ **Impedire l'azione di antibiotici** *(assorbe il farmaco impedendogli di raggiungere a concentrazioni ottimali le molecole bersaglio).*
- ✓ **Aiuta alcuni batteri a “travestirsi” (mimetismo antigenico)**  
*(es. Streptococco Piogene ha la capsula con acido ialuronico, uguale a quello del connettivo).*

# STRUTTURE MOTILI/APPENDICI

**FLAGELLI**

**PILI o FIMBRIE**



# FLAGELLI

- ✓ Possono esserci 1 o più flagelli.
- ✓ Originano dalla membrana plasmatica e si estendono

Responsabili di:

❖ MOTILITA' (ruotano velocemente in senso orario e antiorario)

❖ CHEMIOTASSI = movimento stimolato dalla presenza di sostanze

**CHEMOTASSI  
POSITIVA**

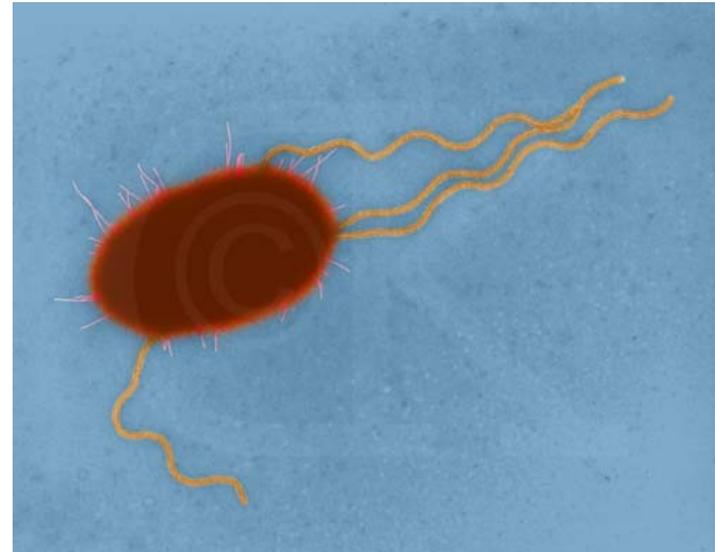
«RICHIAMO»

- ✓ ZUCCHERI
- ✓ AA

**CHEMOTASSI  
NEGATIVA**

«FUGA»

- ✓ SOSTANZE  
DANNOSE



# STRUTTURA FLAGELLI

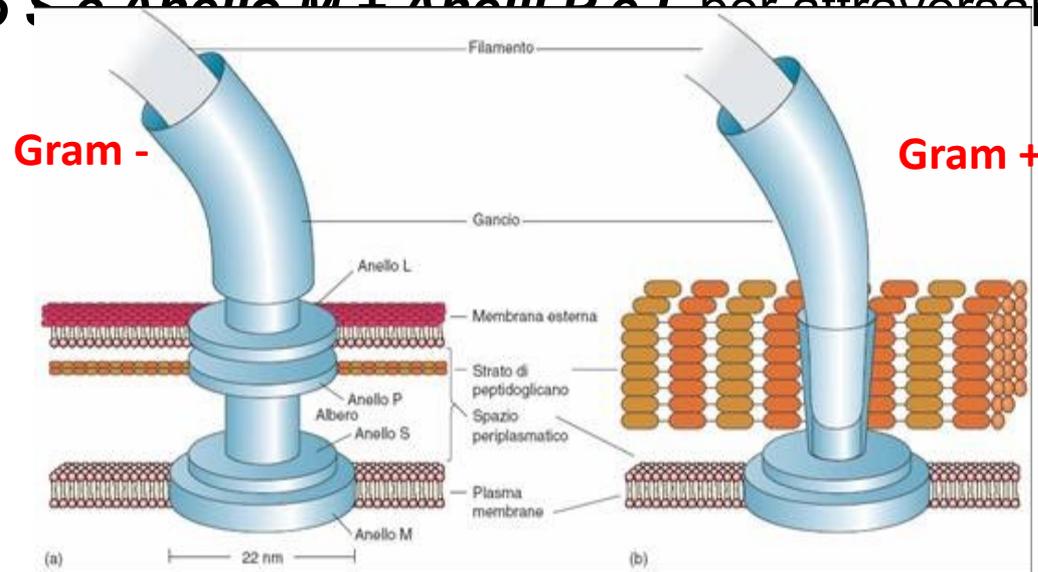
Il flagello è costituito da:

- ✓ **Filamento:** da 3 a 6 fibre formate da *flagellina*
- ✓ **Gancio:** struttura vuota che riveste il filament e penetra nella parete cellulare
- ✓ **Corpuscolo basale** (diverso tra Gram+ e Gram-)

**Gram+:** *Anello S* associato alla faccia interna del peptidoglicano

*Anello M* nella membrana plasmatica

**Gram-:** *Anello S* e *Anello M* + *Anelli P e L* per attraversare involucri esterni



# FLAGELLI

Caratteristica **batteri cilindrici** (bacilli, vibrioni, spirilli)

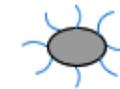
Possono essere:

- ✓ Posizionati su un lato: polari (**mono/lofo-trichi**)
- ✓ Attorno alla cellula: **peritrichi**



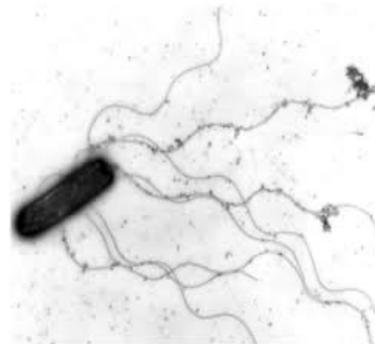
MONOTRICHI

PERITRICHI



LOFOTRICHI

ANFITRICHI

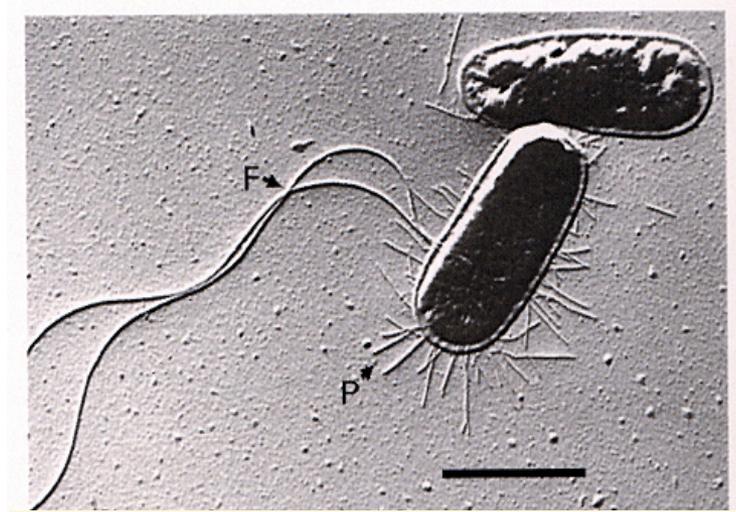


# PILI (o Fimbrie)

- ✓ Più corti e sottili dei flagelli
- ✓ Presenti soprattutto nei **GRAM-**

Esistono 2 tipi di PILI:

1. PILI COMUNI
2. PILI SESSUALI



## PILI COMUNI

- ✓ numerosi e piccoli
- ✓ sono organi di ancoraggio (**ADESINE**) → interagiscono solo con alcuni zuccheri specifici sui tessuti → **definiscono la PATOGENICITA'**  
*es. Neisseria gonorrhoeae si fissa alla mucosa del tratto urinario con i pili, senza pili non è patogena*

PILI SESSUALI →

# PILI (o Fimbrie)

## PILI SESSUALI

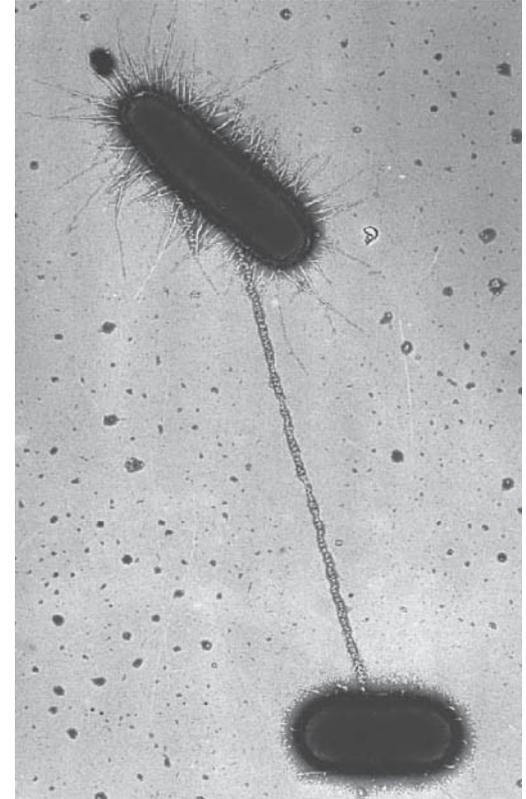
- ✓ sono meno numerosi
- ✓ più lunghi e più larghi dei pili comuni
- ✓ **Codificati da plasmidi**
- ✓ Intervengono nei processi di **SCAMBIO GENETICO FRA BATTERI.**



## CONIUGAZIONE



**Attraverso il pilo sessuale il DNA (cromosomico o plasmidico) passa da un batterio all'altro.**



# CONIUGAZIONE BATTERICA

È mediata da un plasmide particolare, il **PLASMIDE F** (*Fertilità*).



Codifica la produzione di un **PILO "F"**

**BATTERI F+** (con il plasmide F) + **BATTERI F-** (senza il plasmide F)

**F+** produce il pilo «F» di coniugazione e si unisce alla cellula F-, formando un **ponte citoplasmatico**.



**SCAMBIO GENETICO**

*plasmidi che codificano funzioni particolari*

- ✓ resistenza agli antibiotici
- ✓ caratteristiche metaboliche
- ✓ fattori di virulenza



# STRUTTURA TIPICA DI UNA CELLULA BATTERICA

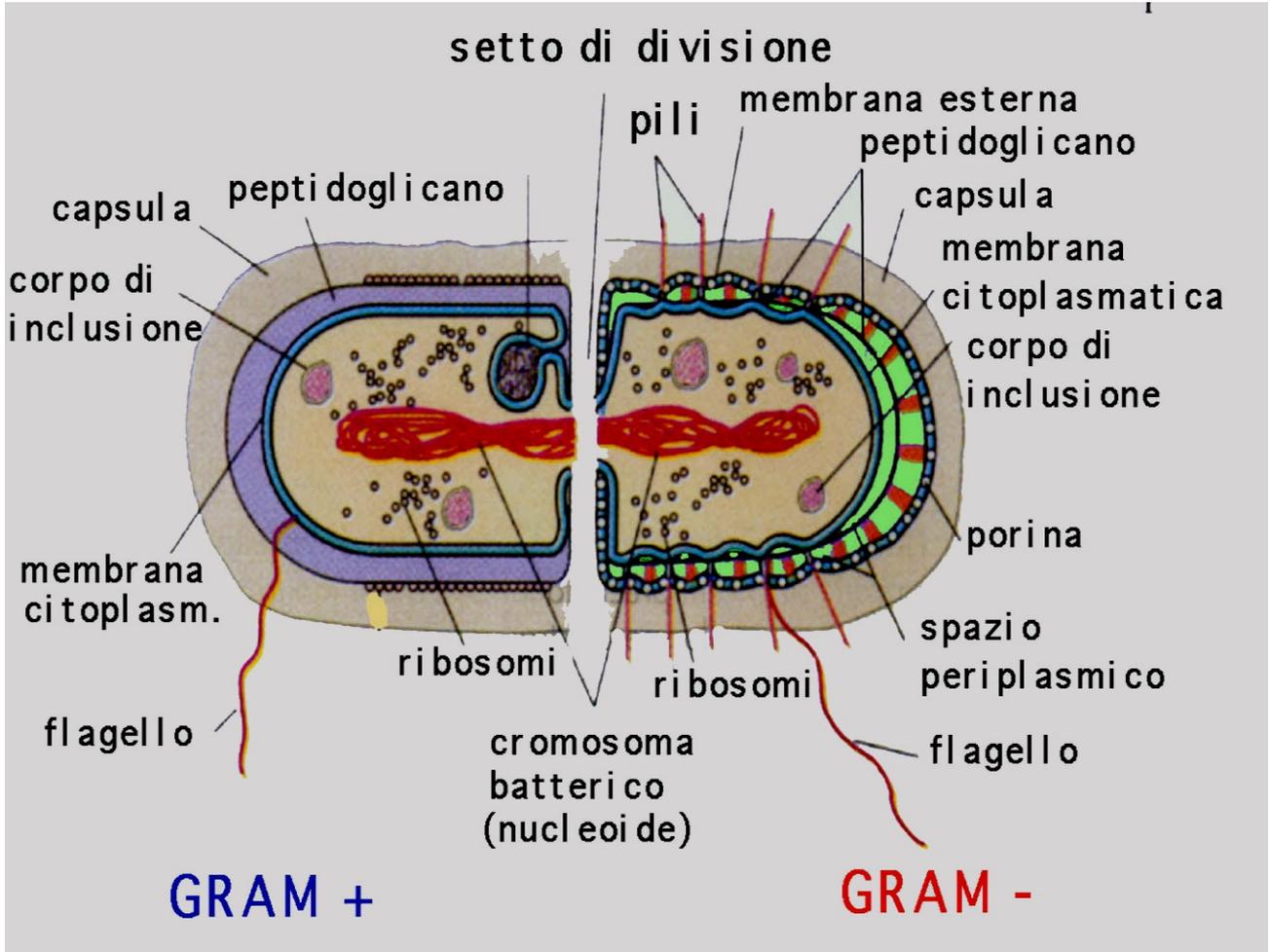
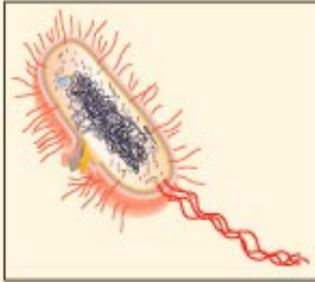


TABLE 4.2

**Principal Differences Between Prokaryotic and Eukaryotic Cells**

Characteristic	Prokaryotic	Eukaryotic
		
Size of cell	Typically 0.2–2.0 $\mu\text{m}$ in diameter	Typically 10–100 $\mu\text{m}$ in diameter
Nucleus	No nuclear membrane or nucleoli	True nucleus, consisting of nuclear membrane and nucleoli
Membrane-enclosed organelles	Absent	Present; examples include lysosomes, Golgi complex, endoplasmic reticulum, mitochondria, and chloroplasts
Flagella	Consist of two protein building blocks	Complex; consist of multiple microtubules
Glycocalyx	Present as a capsule or slime layer	Present in some cells that lack a cell wall
Cell wall	Usually present; chemically complex (typical bacterial cell wall includes peptidoglycan)	When present, chemically simple
Plasma membrane	No carbohydrates and generally lacks sterols	Sterols and carbohydrates that serve as receptors present
Cytoplasm	No cytoskeleton or cytoplasmic streaming	Cytoskeleton; cytoplasmic streaming
Ribosomes	Smaller size (70S)	Larger size (80S); smaller size (70S) in organelles
Chromosome (DNA)	Single circular chromosome; lacks histones	Multiple linear chromosomes with histones arrangement
Cell division	Binary fission	Mitosis
Sexual reproduction	No meiosis; transfer of DNA fragments only	Involves meiosis



Bronchi

Organo Corti  
orecchio

# BATTERI ATIPICI

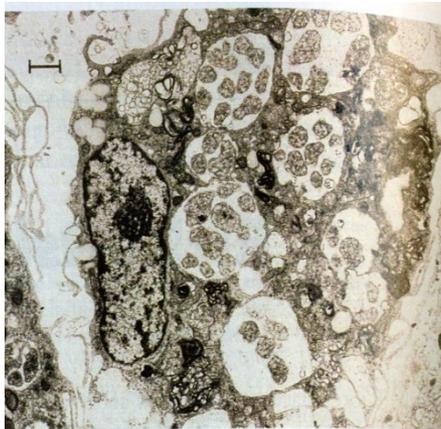
## Micoplasmi

- non hanno peptidoglicani e parete
- colesterolo nella membrana cellulare
- forma tonda o filamentosa
- colorazione di Gram: rosso (ma non si definiscono GRAM- !)
- parassiti extracellulari



## Micobatterio

- Parete con peptidoglicano + cere (lipidi)
- Gram-variabile → col. Ziehl-Neelsen



**Parassiti endocellulari obbligati (terreni cellulari)**

## Clamidio:

-cocco Gram negativo privo di peptidoglicano

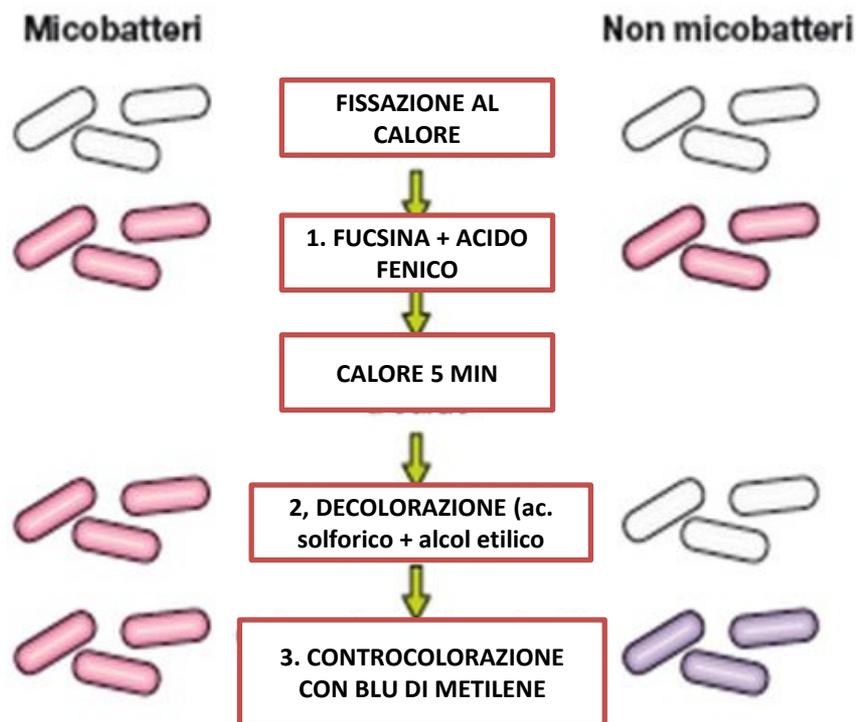
## Rickettsie:

-bacillo Gram negativo

-trasmessi casualmete all'uomo tramite artropodi vettori

# COLORAZIONE DI ZIEHL-NEELEN

Specifica per evidenziare i **MICOBATTERI** (Tubercolosi).



SOLO I **MICOBATTERI** SI COLARONO DI **ROSSO**

Hanno la parete ricca di **CERE** che li rendono **ACIDO-RESISTENTI**

I batteri non acido resistenti, invece, perdono il primo colore ed acquisiscono il secondo (blu).

