Università di Pisa

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

Sbobine anno accademico 2020

Esame di Microbiologia

Prof.ssa Lupetti

1° parte – MICOLOGIA – prof.ssa Lupetti
2° parte – BATTERIOLOGIA SPECIALE – prof.ssa Lupetti

1^ parte -**MICOLOGIA**

REGNI

1. Procarioti
2. Proctotisti
3. Funghi
4. Piante
5. Animali

FUNGHI

I FUNGHI sono organismi eucarioti (cellule con un nucleo ben delimitato da una **membrana nucleare** e **citoplasma compartimentalizzato**) unicellulari *(LIEVITI)* o pluricellulari *(IFOMICETI)* che si nutrono per assorbimento e presentano una *parete* composta da **chitina, beta-glucani** e **mannani**, che risulta essere rigida.

Candida Albicans, Aspergillus Fumigatus, Criptococcus Neoformans → sono i miceti più studiati nell'ambito della micologia.

RILEVANZA DELLA MICOLOGIA

Cambio di rilevanza: avvenuto **30 anni fa** per **l'immunodepressione**: l'HIV è stato identificato negli anni '90 e, mentre un tempo le infezioni micotiche potevano sostenere infezioni solo **localizzate** (come la **tinea** sul cuoio capelluto dei bambini), con l'avvento dell'HIV i soggetti andavano incontro infezioni **sistemiche**, semplicemente venendo a contatto con un fungo o un lievito particolare, che potevano portare a morte.

Nell'infezione da HIV avviene una **diminuzione del numero dei CD4+** al di sotto di un valore critico (che è circa 200 CD4+ per mm^3). Sotto questo valore il soggetto con HIV si può infettare con qualsiasi microrganismo **commensale** (es. **Candida**). Prima della terapia HAART contro HIV, il soggetto veniva trattato con farmaci antimicotici che hanno favorito la selezione di ceppi di Candida Albicans resistenti.

I soggetti venivano trattati con **Fluconazolo** con funzione preventiva, un farmaco usato maggiormente perché non ha molti effetti collaterali. Quando però la terapia complessiva di Fluconazolo superava i 10 gr, il lievito sviluppava un meccanismo di resistenza al farmaco.

Quando si espone un microrganismo ad una terapia, questo si organizza; se la maggior parte viene debellata dalla terapia, è possibile che anche uno solo per una mutazione casuale non sia suscettibile e che quindi diventi resistente e la sua progenie sarà a sua volta resistente. Questo fenomeno viene definito SELEZIONE DA PRESSIONE POSITIVA INDOTTA DA FARMACO.

Il **microrganismo opportunista** è un microrganismo che si approfitta delle condizioni di difficoltà dell'altro organismo e lo sfrutta. L'infezione opportunista può essere sostenuta sia da un microrganismo esogeno che endogeno (ad esempio batteri commensali dell'intestino, o batteri del cavo orale come lo streptococco responsabile della carie).

La CANDIDOSI VAGINALE (infezione opportunistica) si ha quando la flora microbica è alterata, come durante una terapia antibiotica che uccide sia i batteri patogeni sia quelli della flora commensale batterica. A causa dello squilibrio la candida si manifesterà a livello vaginale poiché si avrà abbondanza di sostanze nutritizie e disponibilità di recettori, quindi disponibilità di spazi, quindi il microrganismo non solo può replicarsi ma può anche attecchire; qualunque microrganismo che aumenti di carica può dare una sintomatologia clinica che sarà comunque localizzata.

NB!!! La frequenza nel corso degli anni è la stessa delle donne sane e in quelle con AIDS conclamato: questo perché a livello sistemico il n° dei CD4+ è importante per difendersi dalle infezioni sistemiche da Candida Albicans, ma a livello vaginale non contano nulla!

Il soggetto HIV+ tipicamente si infetta più probabilmente con un microrganismo commensale poiché è sicuro che ce l'abbia.

Il microrganismo endogeno di cui un HIV+ maggiormente si infetta è *CANDIDA ALBICANS*, che il paziente

prende con maggior probabilità nell'intestino (inteso dal cavo orale fino al retto): si può avere **esofagite** o **colite da candida**, inoltre sono stati descritti anche casi in cui candida albicans viene inglobato dalle cellule esofagee come se esse fossero fagociti e dalla superficie della mucosa può passare al distretto della sottomucosa.

IMMUNOCOMPROMESSI

Altri casi con un incremento delle infezioni micotiche sistemiche sono:

- Paziente oncologico sottoposto a **chemioterapia** che lo porta a immunodepressione.
- Paziente infetto da **HIV** che vengono trattati con terapia HAART grazie alla quale si cerca di mantenere i CD4 a un valore superiore a 200.
- Paziente dopo **trapianto d'organo**; in particolare il trapianto di **fegato** e di **midollo osseo** sono particolarmente suscettibili ad infezioni fungine. Es. ***ASPERGILLUS FUMIGATUS:*** è un micete che stanella terra: se prendessimo una zolletta di terra e la mettessimo in una piastra con acido tannico al 20%, noteremmo la presenza di almeno una ventina di specie diverse di aspergillus. L'infezione da Aspergillus può avvenire tramite **inalazione** semplicemente camminando all'aperto, infatti il movimento di zolle di terra porta i conidi del micete nell'aria. Questa contaminazione si traduce in una micosi sistemica che porta ad una **frequenza di mortalità nel paziente post-trapianto altissima (circa il 97%).**
  Se io faccio il tampone nasale in entrambe le narici ad un soggetto che deve essere ancora trapiantato e che è positivo ad Aspergillus. Vuol dire il soggetto non è infetto da aspergillus (finchè non viene fatto il trapianto, non è immunocompromesso), ma è verosimile che sia stato contaminato nella cavità nasale mentre era fuori dall'ospedale. È una delle prime cose che vengono fatte quando un soggetto deve essere ricoverato per un trapianto, la persona quindi deve essere bonificata nel caso fosse presente aspergillus in una delle due narici.

master COPY COPISTERIA

STORIA DEI MICETI

I funghi si distinguono in *lieviti* (unicellulari) e *ifomiceti* (pluricellulari). I lieviti, come ***Saccharomyces Cerivisiae***, lo usiamo per esempio per la lievitazione del pane (= lievito madre) e per questo furono chiamati LIEVITI. L'odore del lievito è quello che sentiamo fuori dal forno mentre il panaio panifica.

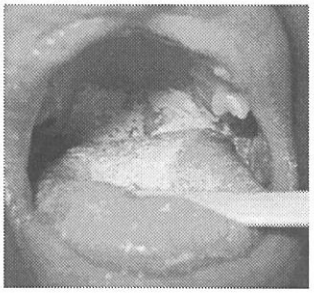
Pasteur → microbiologo francese. Vide che quando nel vino si trovavano delle forme bastoncellari (risultate poi gram -) il vino andava incontro a putrefazione, quando invece nel vino erano contenute le cellule del lievito di forma sferica (che producono dallo zucchero l'etanolo per fermentazione alcolica), il vino diventava un ottimo vino perché i lieviti hanno infatti la capacità di produrre l'etanolo.

Irlanda → i funghi furono causa di una carestia in Irlanda (all'epoca in cui si mangiavano soltanto patate) ad opera del fungo *Phytophtora Infestans* che aveva infettato la patata che era l'unico alimento disponibile per cui le persone morivano.

Fleming → 1928: isolò dal *Penicillium Notatum* la penicillina; stava lavorando con ***Staphylococcus Aureus***, seminò su una piastra questo microrganismo a tutto spessore e il giorno successivo trovò che la piastra era stata contaminata da una forma filamentosa anomala. Osservò che tra l'ifomicete e il batterio vi era un alone trasparente che aveva inibito la crescita del batterio. Da lì a 15 anni era stata isolata la **penicillina** e immessa sul mercato, durante la seconda guerra mondiale. La penicillina rivoluzionò il trattamento terapeutico (INIZIO ERA ANTIBIOTICA).

master COPY

MUGHETTO (**candidosi del cavo orale dei neonati prematuri**)



Venne descritto da **Ippocrate** (secondo la prof Celso). Esso è un fiore bianco e in microbiologia; è una patina bianca che riveste la lingua, la superficie del palato e della bocca in generale ed è legata ad uno stato di immunocompromissione come nel caso del bambino nato prematuro ma anche nel bambino appena nato. Trovare una persona adulta con il mughetto è possibile, bisogna pensare subito che sia un **immunocompromesso**, quindi per prima cosa si fa **test per HIV**, è la prima infezione che un soggetto infettato da HIV manifesta quando il livello di CD4 scende sotto i 200. Se il test è negativo allora il soggetto è comunque immunocompromesso, quindi si deve indagare su altre possibili cause.

Il soggetto HIV+ risulta positivo dopo un periodo di latenza che può essere anche molto lungo, quindi l'infezione non si manifesta finché non si abbassano i livelli di CD4+.
Sono presenti anche le linfocitopenie idiopatiche CD4+ che possono portare a questo stato di immunodeficienza che porta al mughetto.

master COPY COPISTERIA

CLASSIFICAZIONE DEI MICETI
I miceti sono microorganismi:

1. **Aerobi o Anaerobi facoltativi**.
2. **Immobili**.
3. **Chemiosintetici** → producono energia ossidando anche molecole inorganiche. Prendono energia da reazioni di ossidazione chimica non luminosa.
4. **Eterotrofi** → la fonte di carbonio è rappresentata da un substrato organico.
5. **Privi di clorofilla.**

Distinguiamo 2 grandi categorie: **LIEVITI** → **monocellulari**. **IFOMICETI** → **pluricellulari**.

Tutti i miceti sono dotati di replicazione asessuata, che viene chiamata forma imperfetta o *anamorfa*;
Conidio → indica la replicazione asessuata.

Alcuni funghi sono dotati anche di **replicazione sessuata** e vengono chiamati per questo forme perfette o *teleomorfe*. **Spora** → per indicare la replicazione sessuata.

Il ciclo asessuato è presente in tutte le specie.
Il ciclo sessuato in alcuni tipi di funghi (imperfetti) non è ancora stato trovato perché sono necessarie condizioni particolari e specifiche di crescita per ogni tipo di fungo. Esistono moltissime specie in natura, più di 100.000, ma solo un centinaio è rilevante in ambito clinico.

La **micologia medica** (parassitismo indotto da funghi) si occupa dei **funghi microscopici** che parassitano l'ospite e quindi possono dare un'infezione oppure funghi microscopici che producono **micotossine**; non è invece ambito della micologia medica l'intossicazione da funghi come *Amanita Phalloides*.

1. ***LIEVITI* UNICELLULARI** - sono eucarioti, molto più grandi dei batteri, sono ovalari e tipicamente si replicano per **gemmazione**.
2. ***IFOMICETI* PLURICELLULARI**; la loro unità morfofunzionale, l'**IFA** è un tubulo che è costituito da tante cellule che sono in contatto tra di loro. Le cellule sono una accanto all'altra divise da setti incompleti che permettono lo scambio.

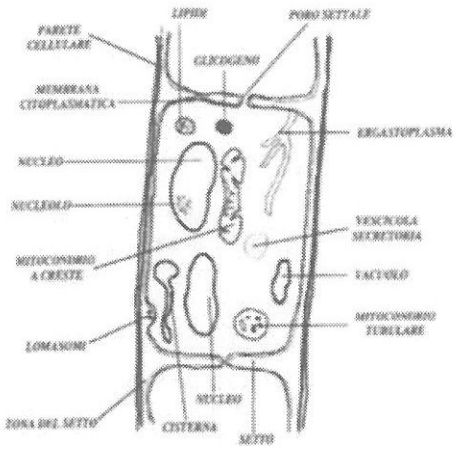
LIEVITI o BLASTOGONIDI (unicellulari)

Sono delle cellule sferiche, ma più **ovalari** e più grandi di un batterio. Essendo organismi eucarioti hanno un'organizzazione citoplasmatica con presenza di organelli (come vacuoli, perossisomi).
Presentano una **membrana cellulare** e una **parete esterna** (costituita da Chitina + Beta-glucani + Mannani) più rigida.
All'esterno ci può essere anche una **capsula**.

SI replicano per **GEMMAZIONE (o BLASTOGONIA)** ma ci sono 2 lieviti che usano la **germinazione** (C. Albicans e C. Dubliniensis)
La gemma è una cellula figlia che si ingrandirà e si staccherà poi dalla cellula madre; sono sempre poi alla fine una separata dall'altra mantenendo così l'unicellularità.
La colonia di un lievito è piccola, cupoliforme e biancastra, come quella di Staphylococcus.
Come si distinguono lieviti e batteri? Si prende un vetrino, si mette un po' di patina del microorganismo, si mette una goccia di blu di metilene, si aggiunge il vetrino coprioggetto e andiamo a osservare al microscopio. Se fosse un batterio, a **40x** vediamo che le cellule sono sferiche e piccole, i lieviti sono cellule sferiche più grosse ma nel campo del microscopio dovremmo vedere almeno una **gemma** [importante per il ginecologo per stabilire la causa della vaginite in tempi molto brevi]. è necessaria la presenza della gemma.

IFOMICETI (pluricellulari)

È una cellula **eucariotica** con compartimentalizzazione del citoplasma, ma tra una cellula e l'altra il setto non è mai completo, permettendo il passaggio di sostanze e, in alcuni casi, del nucleo.
CI sono vari tipi di **setti incompleti**:
a) setto laterale (solo da un lato)
b) sembra completo, ma visto dall'alto in sezione traversale si vedono vari pertugi attraverso cui passa il materiale
c) come nella foto, ad entrambi i lati



Ci sono 2 casi in cui il setto diventa **completo**:
1. Zona di necrosi: parte del fungo va incontro a necrosi, tagliando fuori così la parte necrotica;
2. Prima di un ciclo di vita sessuato: prima che vada incontro a un ciclo di vita sessuata, da cui non si sa cosa scaturirà perché potrebbe scaturire anche una forma non vitale, prima fa un setto netto e si mantiene in vita, e poi si replica per replicazione sessuata.

In alcuni funghi (BASIDIOMICETI) è presente una struttura chiamata ***Doliporo***, una specie di cappello che impedisce il passaggio del nucleo da una cellula all'altra, consentendo però il passaggio delle altre sostanze. Il fungo pluricellulare quindi si comporta come un unico organismo, infatti alcune cellule producono una determinata sostanza per tutte le altre cellule, come se facessero parte di un unicum: c'è collaborazione tra le singole cellule.

Il micete è rappresentato dall'unità morfofunzionale detta ***IFA*** o ***MICELIO*** (tubulo costituito da tante cellule separate da un setto incompleto). L'accrescimento dell'ifa avviene al **tip ifale**, cioè nella porzione apicale. Gli enzimi che degradano e ricostituiscono la parete e le sostanze necessarie vengono prodotte dalle cellule sottostanti e arrivano alla parte apicale medianti i setti. L'ifa può essere:

1. **Septato**.
2. **Aseptato** → dette **ife cenocitiche,** tipiche degli **ZIGOMICETI**. Non significa che non abbiano i setti ma che questi sono molto più rari.

Gli ifomiceti presentano una notevole differenziazione delle funzioni che si riflette sulla struttura del micelio che si distingue in *micelio aereo* e *micelio vegetativo*.

- MICELIO VEGETATIVO

  Il fungo si nutre per **assorbimento**.

  Non consente l'identificazione del microorganismo: perché è costituito da un insieme di tubuli intersecanti (groviglio di ife) tra di loro che non ci permettono il riconoscimento al vetrino poiché è un micelio comune a tutti i miceti e si occupa del **nutrimento dell'intero fungo** (anche del micelio aereo)traendo le sostanze nutritive dal terreno a cui è adeso per assorbimento.

- MICELIO AEREO

  Consente l'identificazione perché il CICLO REPLICATIVO è tipico di una specie: il micelio aereo invece dà luogo a dei **CORPI DI FRUTTIFICAZIONE** che consentono al microbiologo di fare diagnosi.

  Il micelio aereo è quello che si occupa della replicazione (sessuata o asessuata a seconda delle condizioni di crescita o della presenza o meno del ciclo sessuato).

master COPY COPISTERIA