

## **Programma di Microbiologia e laboratorio (8 CFU) gruppo 1 (Prof. E. Ricca)**

**Introduzione.** Cenni storici. Microscopia: potere di risoluzione; microscopia ottica in campo scuro, ad immersione, a contrasto di fase ed a fluorescenza; tecniche di colorazione; colorazioni differenziali (Gram e acido-resistenza); microscopia elettronica a trasmissione ed a scansione; microscopia confocale ed a forza atomica (AFM).

**Struttura della cellula procariotica.** La cellula procariotica: forma e dimensioni. Membrana citoplasmatica di Eubatteri ed Archea. Parete cellulare dei gram-positivi e gram-negativi: peptidoglicano, acidi teicoici, membrana esterna, porine, lipopolisaccaridi e lipoproteine. Sistemi di secrezione. Capsula. Strato S (S-layer). Appendici cellulari: fimbrie, flagelli, chemiotassi e movimento cellulare. Nucleoide. Ribosomi, plasmidi ed inclusioni citoplasmatiche.

**Nutrizione delle cellule batteriche.** Esigenze nutrizionali: macro- e micronutrienti. Meccanismi di assunzione dei nutrienti: trasporto passivo, attivo, sistema fosfotrasferasico. Metodi di coltivazione dei microrganismi: terreni minimi e massimi; terreni solidi, isolamento colonie pure; terreni differenziali.

**Crescita microbica.** Curva di crescita. Misura del tempo di generazione e della velocità di crescita. Colture continue: il chemostato. Fattori che influenzano la crescita: disponibilità di acqua, concentrazione soluti, pH, temperatura, concentrazione di ossigeno, pressione e radiazioni. Controllo della crescita; metodi fisici: calore (calcolo del valore D e del valore Z), filtrazione e radiazioni; metodi chimici.

**Metabolismo microbico.** Metabolismo energetico. Sintesi di ATP. Respirazione aerobica ed anaerobica. Fermentazioni. Litotrofia. Fotosintesi batterica. Assimilazione di carbonio, azoto e zolfo.

**Replicazione DNA batterico.** Cenni sulla struttura del cromosoma batterico e sulla replicazione del DNA. Mutazioni puntiformi spontanee ed indotte da agenti mutageni. Mutazioni non-senso, mis-sense e frame-shift. Mutazioni silenti ed auxotrofiche. Reversione vera e per soppressione. Isolamento di mutanti e revertanti. Test di Ames.

**Scambio genico nei batteri.** Coniugazione: ceppi F+, Hfr ed F'. Trasformazione: meccanismo di trasformazione in batteri naturalmente trasformabili. Trasformazione di batteri non naturalmente competenti. Trasduzione generalizzata e specializzata.

**Trascrizione e traduzione nei batteri.** RNA polimerasi batterica, il promotore ed il terminatore. Sintesi proteica ed accoppiamento trascrizione-traduzione nei batteri. Organizzazione genica in geni ed operoni. La regolazione dell'espressione genica nei batteri: regolazione trascrizionale positiva e negativa. L'esempio dell'operone lattosio.

**Antibiotici.** Meccanismo d'azione di antibiotici modello che agiscono sulla sintesi del peptidoglicano (b-lattamici, vancomicina, bacitracina, cicloserina), sulla sintesi di acidi nucleici (acido nalidixico), sulla sintesi proteica (streptomicina, cloramfenicolo, eritromicina, tetracicline) e sul metabolismo primario (solfonamidi). Meccanismi di resistenza agli antibiotici. Trasposizione.

**Virus.** Caratteristiche morfologiche dei virus. Moltiplicazione virale. Batteriofagi: ciclo litico e lisogenico. Conversione lisogenica. Virus a DNA ed a RNA. Il virus dell'influenza. Esempi di molecole con azione antivirale.

**Elementi di sistematica batterica.** Metodi di classificazione dei batteri. Principali caratteristiche di gruppi selezionati di Archea (metanogeni, solfatoriduttori, alofili, privi di parete e termofili estremi) ed Eubatteri (Mycoplasmi; Gram-negativi: fotosintetici, litotrofi, metofili, prostecati, rizobi, agrobatteri, enterobatteri, clamidie; e Gram-positivi: fotosintetici, sporigeni, corinebatteri, attinomiceti, lattici).

**Cenni sulla patogenesi batterica.** Geni codificanti per fattori di virulenza: plasmidi, fagi ed isole di patogenicità. Patogeni extra-cellulari, intra-cellulari ed invasivi. Eso- ed endo-tossine. Meccanismo d'azione di eso-tossine batteriche modello: le tossine di *Bacillus anthracis*, la tossina colerica, botulinica, tetanica e difterica. Batteri patogeni invasivi. Sistemi di secrezione di tipo III e IV. Meccanismi di invasione e sopravvivenza nella cellula ospite.

### **Testo consigliato:**

Biologia dei microrganismi. a cura di Gianni Dehò e Enrica Galli. Casa Editrice Ambrosiana