MICROBIOLOGIA

PROF.SSA GHELARDI

2021-21

master COPY

EUBATTERI

I batteri sono cellule procariotiche e, in base ad alcuni principi possono essere classificati. La prima caratteristica che viene osservata e può essere analizzata è la forma. I batteri si possono suddividere sulla base della loro forma in cocchi, bastoncelli o bacilli e, in forme spiraliformi o a virgola. La forma del microrganismo è una caratteristica intrinseca della specie. Ovvero un microrganismo che abbia una forma a bastoncino avrà sempre questa forma. Perché? Perché la forma al microrganismo viene conferita dalla presenza di una parete rigida che si colloca al di sopra della membrana plasmatica e che assume una determinata conformazione a seconda delle caratteristiche genetiche del microrganismo. La parete quindi viene conformata geneticamente e non può cambiare. La struttura della parete è diversa nei batteri e la maggioranza dei batteri ha una parete che fa sì che il microrganismo reagisca in una certa maniera alla colorazione di Gram. La reattività alla colorazione di Gram dipende dalla struttura della parete. Non tutti i batteri sono Gram+ o Gram -; ci sono anche batteri che hanno una parete diversa e non reagiscono alla colorazione né in modo positivo né negativo. Oltre alla forma, si analizza anche la reattività microbica alle colorazioni dunque, per rendere evidenti le differenze nella composizione della parete. La terza caratteristica è come si associano i microrganismi l'uno rispetto all'altro, quindi la disposizione reciproca delle cellule. I cocchi ad esempio possono disporsi reciprocamente in modo diverso: possono ritrovarsi disposti a due a due (diplococchi), oppure disposti a catenelle come una collana di perle (streptococchi), oppure come ammassi di cellule che hanno la conformazione di un grappolo d'uva (stafilococchi, da stafili che indica l'uva in greco). Anche la disposizione reciproca delle cellule quindi è una caratteristica importante. Come mai mantengono un rapporto intimo l'una con l'altra anche nella divisione? Questo dipende dall'asse di divisione della cellula. Gli streptococchi ad esempio, che formano delle catenelle, si dividono lungo un unico asse longitudinale e quindi a seguito della divisione rimangono associati a formare una collana di perle. Gli streptococchi si dividono nei tre piani dello spazio, quindi formano degli ammassi che ricordano il grappolo d'uva. I bastoncelli anche possono non separarsi e formano un ammasso che ricorda un mazzo di sigari, ovvero l'asse di divisione può essere anche lungo il lato lungo. Quando facciamo un'osservazione microscopica dei batteri, non è solo importante andare a vedere la forma della singola cellula, la reattività alla colorazione ma è importante anche andare a vedere come si dispongono reciprocamente. Questa caratteristica ha una rilevanza tassonomica. Quindi nella presentazione degli streptococchi diremo che sono cocchi, gram + che si associano a catenella ecc.

La tolleranza all'ossigeno è un'altra caratteristica dei batteri. Partiamo dai microrganismi aerobi obbligati. Le nostre cellule producono energia attraverso processi di respirazione aerobica. Gli aerobi obbligati producono energia solo tramite processi di respirazione aerobica. Gli anaerobi obbligati producono energia compiendo dei processi di fermentazione. Un anaerobio obbligato quindi non produce energia tramite respirazione ed è anche intollerante all'ossigeno. I motivi di questo sono molti: i batteri anaerobi obbligati non hanno gli enzimi capaci di degradare i prodotti tossici dell'ossigeno (anione superossido perché non hanno la superossido dismutasi e anche la catalasi o perossidasi, capaci di degradare l'acqua ossigenata che si forma normalmente in presenza di ossigeno durante il metabolismo microbico). Quando il batterio anaerobio obbligato viene esposto all'ossigeno, si producono al suo interno questi due componenti tossici che egli non è in grado di degradare e quindi muore. Ci sono tuttavia numerosi organismi anaerobi obbligati che riescono comunque a dare infezioni nell'uomo, come il clostridium tetani, clostridium botulinum ecc. Questi quindi trovano nel nostro organismo degli ambienti anaerobi dove dare infezioni.

Ci sono poi altre due categorie: gli aerobi facoltativi e gli anaerobi facoltativi. Gli aerobi facoltativi

sono microrganismi che possono respirare ma possono anche fermentare. Nel caso in cui non sia presente ossigeno, possono comunque sopravvivere e avere un metabolismo attivo perché fermentano. Gli anaerobi facoltativi invece sono quelli per i quali l'ossigeno non è tossico (hanno gli enzimi per detossificare ecc) ma sono in grado solo di fermentare, ovvero non utilizzano l'ossigeno per la respirazione. Un'altra caratteristica per la classificazione è la capacità di produrre spore. Solo alcuni sono in grado di produrre la spora e questi sono detti sporigeni (asporigeni sono quelli che non le producono). Ciò che viene utilizzato per identificare un organismo sono poi le caratteristiche biochimiche: si sottopone ad esami biochimici in cui esso è incubato con determinati substrati. La tipizzazione è una sottoclassificazione, ovvero tipizzare significa riconoscere ceppi diversi appartenenti ad una stessa specie. È un processo che dà per scontato che si sappia a quale specie appartiene il microbo. Quando tipizziamo, dobbiamo essere a conoscenza già della specie a cui il microrganismo appartiene.
Partendo dall'interno della cellula abbiamo un citoplasma con acido nucleico compatto in una struttura detta nucleoide. Nel citoplasma sono presenti ribosomi e, talvolta, delle inclusioni granulari. Il batterio è lungo dagli 1 ai 5 micron di lunghezza. Nel batterio la membrana plasmatica svolge i compiti di mitocondrio, golgi, reticolo endoplasmatico ecc. Il mesosoma è un ripiegamento della membrana plasmatica che si ha quando la cellula va in divisione. Al mesosoma si lega l'acido nucleico e questo setto piano piano si approfonda nella cellula e determina la divisione. Tra un ripiegamento della membrana e l'altro viene apposta la membrana batterica. La cellula batterica ha, al di sopra della membrana plasmatica una struttura detta parete che conferisce la forma al batterio. Le strutture al di sopra della barriera batterica non sono solo la capsula. I pili o fimbrie sono delle appendici proteiche che sono importanti sia per l'adesione del microrganismo alle superfici di un ospite (i pili sono delle adesine), sia per il movimento (?). I flagelli sono deputati al movimento, ovvero conferiscono alla cellula la capacità di nuoto in mezzo liquido.

Glicocalice: al di sopra della parete batterica è quasi sempre presente un glicocalice che comprende una capsula (una formazione a margini netti); uno strato mucoso (senza margini definiti, meno organizzato della capsula); strato S, che è sempre presente. Lo strato S è una formazione proteica che si trova sopra la parete prima del glicocalice. È una formazione proteica costituita da proteine. È capace di proteggere alcuni batteri dall'ingresso di enzimi litici e variazioni di pH. Può funzionare come adesina e consentire l'aderenza del microrganismo alle cellule ospiti e all'ambiente e contribuisce alla virulenza del germe, proteggendo il batterio dall'azione del complemento e in parte, dalla fagocitosi. Si ha quindi la parete, lo strato S e il glicocalice o la capsula.

Capsula: è una formazione molto abbondante con margini netti. Talvolta è più grande del batterio stesso. La capsula riveste la cellula batterica. È simile ad un gel. È comunemente di natura polisaccaridica o polipeptidica ma estremamente ricca d'acqua e quindi ha l'aspetto di un gel. È un importante fattore di virulenza. La capsula viene regolata geneticamente: un microrganismo che sintetizzi la capsula deve essere dotato di geni che la esprimano. Le specie batteriche che ne sono provviste, non sempre producono la capsula e molto spesso la produzione dipende dalle condizioni ambientali. Ad esempio il bacillus antracis è un batterio capsulato e produce la capsula solo se è presente una quantità di CO_2 più elevata nell'atmosfera in cui cresce. Il microrganismo utilizza la CO_2 per produrre l'acido glutammico utile a produrre la capsula. In assenza di queste aggiunte nell'ambiente, tale microrganismo non fa la capsula. La capsula conferisce aspetto liscio alle colonie. Si distinguono ceppi capsulati da quelli non capsulati perché le loro colonie sono diverse. La composizione chimica della capsula è polisaccaridica. Molto comune è quella fatta di acido ialuronico. Può anche essere di natura peptidica. La capsula può essere osservata al MO utilizzando

master copy

un inchiostro o nigrosina. Si prende una goccia di inchiostro e i batteri vengono messi a bagno nell'inchiostro, che li fa apparire su uno sfondo nero. Al MET anche può essere osservata ed anche al MES se sono presenti più cellule insieme. alcuni batteri hanno una formazione a margini netti che quindi è una capsula ma non è così grande. In questo caso si procede con una reazione detta reazione di rigonfiamento capsulare con la quale si aggiungono degli anticorpi diretti verso antigeni capsulari o della parete. La capsula quindi si rigonfia di acqua e diventa visibile al microscopio. La capsula conferisce resistenza all'essiccamento essendo un gel che riveste il batterio; può essere utilizzata come nutriente in condizioni di scarsità di nutrienti; favorisce l'aderenza e la formazione di microcolonie (biofilm) su superfici di varia natura; è un importante fattore di virulenza.
La placca batterica è un film batterico il cui innesco viene dato dallo streptococcus mutans che è in grado di degradare il saccarosio in glucosio e fruttosio e convertire il glucosio in un polisaccaride appiccicoso (destrano) che forma la sua capsula e permette al germe di aderire allo smalto dei denti e produrre la placca dentale. Nella placca i microgranismi producono acidi che colpiscono lo smalto dentale e lo portano alla demineralizzazione fino alla carie.
Ruolo della capsula nella resistenza alla fagocitosi: la capsula fa si che il microrganismo resista alla fagocitosi non immune, ovvero quella non mediata da anticorpi o opsonine. Dunque il microrganismo, al primo incontro con i fagociti, non può essere fagocitato. I batteri capsulati non possono essere fagocitati perché la capsula copre i pamps presenti sulla sua superficie e i toll like receptors non arrivano alla superficie batterica. Questo è il motivo per cui si dice che la capsula fa sì che il microrganismo sfugga al riconoscimento del fagocita. Quando il nostro sistema immune produce IgG il batterio può essere fagocitato perché la Ig funge da ponte tra la superficie del batterio e il recettore per le Fc del fagocita (fagocitosi anticorpo-mediata). Normalmente le opsonine sono il C3b e gli anticorpi. In alcuni batteri la capsula copre l'opsonina C3b legata alla parete batterica e impedisce il legame con il recettore sulla superficie del fagocita (recettore CR1)

In molti casi il C3b non ha capacità opsonizzante quindi anche se si ha l'attivazione del complemento che si ha quasi sempre quando un microrganismo entra nel nostro organismo, in questo caso non si ha opsonizzazione. Questo succede perché lo spessore della capsula impedisce l'interazione tra il C3b e il recettore delle cellule fagocitiche.
Quando ci infettiamo con lo pneumococco (polmonite), il microrganismo arriva nell'alveolo polmonare e non può essere fagocitato perché ha una grande capsula. La sua proliferazione porta a polmonite lobare. Fino a che il soggetto non monta una risposta immune specifica, il microrganismo difficilmente viene eliminato.
Un'altra funzione di virulenza della capsula è la resistenza alla lisi mediata dal complemento. Questa è una caratteristica di alcune capsule perché dipende dalla loro composizione chimica. Quelle ricche in acido sialico legano il fattore H sierico che stimola la degradazione del fattore I del c3b e inibisce la produzione di c3b (es. H. influenzae e alcuni ceppi di N. meningitidis). Alcune capsule inibiscono la formazione di c3 convertasi. Altre hanno effetto sterico di mascheramento della superficie cellulare e blocco della formazione del complesso di attacco alla membrana.

Parete batterica: La parete è quella struttura rigida che riveste la membrana plasmatica nella maggioranza dei batteri. Gli unici che non possiedono uno strato rigido di parete sopra la membrana plasmatica si chiamano micoplasmi. Sono questi batteri a tutti gli effetti ma senza parete cellulare; sono cellule che non hanno una forma definita. Il microrganismo privo di parete è quindi flessibile ma che ha anche dei difetti rispetto agli altri batteri nel senso che è molto sensibili alla lisi osmotica. Ciò significa che quando il microrganismo si trova in condizioni ipo o iper osmotiche rispetto al proprio citoplasma assume acqua e va incontro a lisi (ipo) oppure perde acqua e muore (iper). Non

master COPY

può essere coltivato nei terreni di coltura ed è suscettibile alle condizioni del terreno in cui si trova. Alcuni di questi possono dare infezioni nell'uomo. I micoplasmi venivano inizialmente considerati dei virus perché erano filtrabili: quando si vuole rimuovere i batteri da un liquido basta far passare questo liquido attraverso un filtro con una porosità di o,2 micron. Questo significa che tutti i batteri rimangono al di sopra del filtro e il liquido che passa risulta privo di batteri. I micoplasmi, a differenza degli altri batteri, sono capaci di passare in questi filtri, quindi all'inizio i microbiologi li ritenevano dei virus.
Il fatto di avere una parete fa si che i batteri possano essere in ambienti diversi sulla Terra. L'ambiente in cui viviamo è tutto colonizzato da batteri e questo è legato al fatto che i batteri resistono alla lisi osmotica (non sono suscettibili a variazioni di osmolarità ambientali anche se repentine). Questo avviene grazie alla parete rigida. Normalmente, quando si parla di parete batterica, ci si riferisce alla parete presente nei batteri gram+ e-. La struttura della parete è diversa in questi batteri.
Molti dei componenti della parete sono unici in natura: alcuni dei componenti di questo strato sono dei componenti che si ritrovano solo nei batteri. Per questo motivo numerosi antibatterici hanno come bersaglio la parete (anche il lisozima). La parete dei gram + è più spessa e ha caratteristiche diverse che fanno sì che i batteri + si colorino in violetto con gram. I gram – hanno una parete più sottile che ha un ulteriore strato esterno (membrana esterna) che fa sì che i batteri si colorino di rosso con gram.
La parete dei gram + è molto più imponente sulla superficie del microrganismo rispetto a quella dei gram -. I gram + hanno una parete costituita per la maggior parte da una macromolecola detta peptidoglicano, che è una macromolecola rigida che conferisce le caratteristiche di rigidità alla parete. Ci sono poi delle molecole accessorie. Nei gram – invece lo strato di peptidoglicano è comunque presente ma normalmente nei + ci sono 40 strati di peptidoglicano a fronte di 1-2 strati nei negativi. Al di sopra del peptidoglicano nei gram – è presente un'altra struttura detta membrana esterna o parietale. Quindi il gram – presenta 2 membrane tra cui sono presenti gli strati di peptidoglicani. La membrana esterna presenta il lipopolisaccaride.

Peptidoglicano: è uno strato rigido composto da uno scheletro di catene glicaniche (2 zuccheri che si ripetono) legate da ponti aminoacidici. Gli zuccheri sono N-acetilglucosammina e l'acido-N-acetilmuramico. Le catene sono quindi costituite da ripetizioni di due zuccheri. L'acido muramico è uno di quei componenti della parete batterica che è presente solo nella parete batterica. Alla molecola di acido n-acetilmuramico è legata una catena di peptidi (un tetrapeptide costituito da 4 amminoacidi: L-alanina, Acido-D-glutammico, L-lisina (o acido diaminopimelico), D-alanina (enzima racemasi)). La D-alanina è presente solo nei batteri, che sono in grado di sintetizzarla dalla L-alanina grazie all'enzima racemasi. Anche questo è target di antibiotici. La L-lisina è un aminoacido bi-basici, ovvero hanno due gruppi amminici e non uno solo. Questo fa si che il terzo aminoacido della catena sia in grado di formare 3 legami: quelli normali con i due amminoacidi adiacenti ed uno con l'ultimo amminoacido della catena vicina. Tridimensionalmente il peptidoglicano è come una rete metallica, ovvero tutte le catene di zuccheri hanno legati i peptidi, che formano ulteriormente dei legami uno con l'altro, come se fossero delle maglie di una rete metallica. Pensando ai batteri gram +, in cui ci sono tanti zuccheri sovrastanti e sottostanti, il legame non solo si forma tra peptidi di catene adiacenti ma anche tra peptidi di catene sovrastanti e sottostanti. (su youtube cell wall syntesis).
Il legame tra il 3° e il 4° amminoacido di due catene adiacenti può essere un legame diretto oppure possono esserci dei ponti amminoacidici che legano i due amminoacidi. La parete di stafilococcus aureus ad esempio presenta legami indiretti con il tramite di 5 glicine.
Quando il microrganismo va incontro a divisione cellulare, deve apporre nuova parete. I batteri

master COPY