Università di Pisa

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

Anno 2020

Esame di <u>Batteriologia</u> – Prof.ssa Ghelardi

Lez. 1-2 – Prof.ssa Ghelardi – 24/25.09.2020

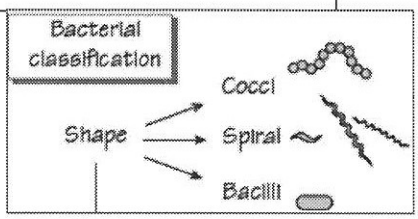
Batteriologia

La più recente classificazione proposta da Carl Woese riconosce 3 regni:

1. **BACTERIA/EUBACTERIA** (comprende procarioti) Sono i classici batteri.
2. **ARCHEA** (comprende procarioti). Questi "archebatteri" sono stati scoperti più tardivamente; vivono in ambienti estremi, infatti sono classificati in ***termoacidofili*** (che sopravvivono in ambienti acidi con temperaturemolto elevate come le solfatare), ***alofili estremi*** (abitano in ambienti con salinità molto elevate, circa 15-20% disalinità, il che significa 15-20 gr di sale in 100 ml d'acqua). Questo genere di ambienti sono Mar Morto, o grandi laghi salati) e ***metanogeni*** (microorganismi che producono metano e usano la CO_2 come fonte di Carbonio. Abitano nel suolo e in alcuni casi li troviamo nel tratto digestivo degli animali).
   Gli Archea hanno una membr.plasmatica intermedia tra eubatteri e eucarkya; inoltre hanno una parete cellulare diversa da quella degli eubatteri e per questi motivi si ritieni siano stati i primi microorganismi a comparire sulla Terra.
3. **EUKARYA** (comprende tutti gli eucarioti, sia uni- che multi- cellulari).

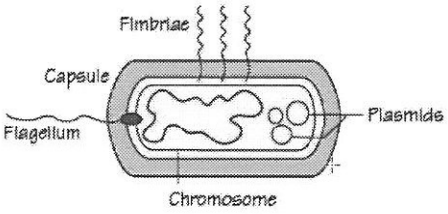
master COPY COPISTERIA

- EUBATTERI -



La loro classificazione (cioè collocazione in una determinata specie) è estremamente complessa:

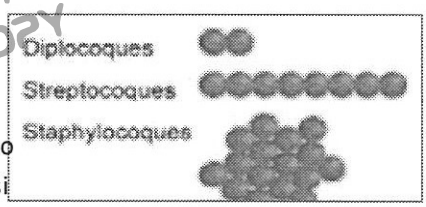
- FORMA: i batteri si possono dividere sulla base della loro forma in **COCCHI**, **BACILLI** e **SPIRALI**.
  La forma è conferita da una ***parete*** *rigida, che si colloca al di sopra della membrana plasmatica*, e assume una conformazione precisa in base alle *caratteristiche genetiche* del microorganismo.

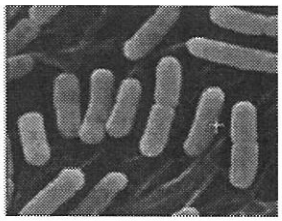


- REATTIVITÀ ALLE COLORAZIONI: la maggioranza dei batteri ha unaparete che fa sì che il microorganismo reagisca in una certa maniera alla **colorazione di Gram**.
  Ci sono però anche dei batteri che hanno una parete diversa dai *Gram+* e *Gram-* e non reagiscono in alcun modo alla colorazione di Gram.

master COPY

- DISPOSIZIONE RECIPROCA: i batteri si possono classificare anche in base allaloro disposizione reciproca.
  Es: i cocchi possono trovarsi: disposti a 2 a 2 (***diplococchi***), disposti a catenelle o a collana di perle (***streptococchi***), disposti in ammassi irregolari (***stafilococchi***) i quali hanno una conformazione "a grappolo d'uva" (*staphylos* in greco = uva). Gli streptococchi si uniscono lungo un unico asse longitudinale e a seguito della divisionerimangono temporaneamente associati a formare delle collane di perle.
  I bastoncelli (bacilli) possono avere l'asse di divisione sia per il lato corto sia per il lato lungo, formando degli ammassi che ricordano un "mazzo di sigari".





- TOLLERANZA ALL'OSSIGENO. Distinzione:
  - **AEROBI OBBLIGATI**: l'O_2 è necessario alla produzione di energia, come accettore finale della catena respiratoria;
  - **ANAEROBI OBBLIGATI**: microorganismi che non hanno bisogno dell'O_2 per i loro processi metabolici (perché

sono *fermentanti*), ed inoltre sono intolleranti all'O_2 in quanto non hanno gli enzimi capaci di degradare i prodotti tossici dell'O_2: l'anione superossido (perché mancano di *superossido dismutasi*) e H_2O_2 (perché mancano di *catalasi/perossidas,* che degradano l'acqua ossigenata in H_20 e O_2).
Per questo motivo se il batterio anaerobio obbligato è esposto all'O_2, muore. Nonostante ciò ci sono molti anaerobi obbligati che riescono comunque a dare infezioni nell'Uomo: i **clostridi** (es.il *Clostridium tetani*).

- **AEROBI FACOLTATIVI:** sono aerobi, per cui possono usare l'O_2, ma possono anche fermentare. Nel caso in cuinon sia presente O_2 riescono a sopravvivere ed avere un metabolismo attivo.
- **ANAEROBI FACOLTATIVI**: sono microorganismi per cui l'O_2 non è tossico (perché hanno gli enzimi degradanti i prodotti tossici dell'O_2), ma possono solo fermentare (metabolicamente sono anaerobi).

- SPORE: i batteri che possono produrre le spore sono detti **SPORIGENI**, altrimenti **ASPORIGENI.**

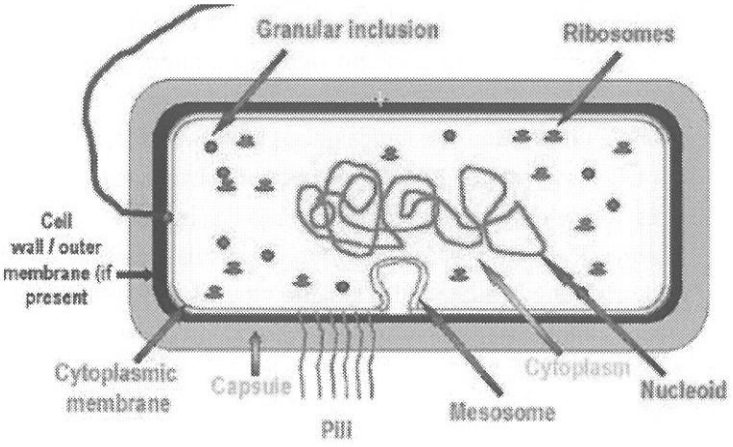
- REAZIONI BIOCHIMICHE

master COPY

TIPIZZAZIONE: è una sottoclassificazione. Tipizzare vuol dire "riconoscere ceppi diversi appartenenti ad una stesa specie". A qst punto possiamo identificare i singoli ceppi all'interno di una stessa specie.

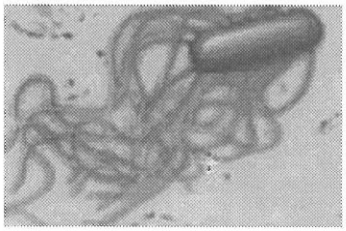
Struttura della cellula batterica

- Dentro la cellula c'è un **citoplasma**, un acido nucleico (normalmente strettamente aggrovigliato nel **nucleoide**), **ribosomi** (necessari alla sintesi proteica) e talvolta delle **inclusioni granulari**.
- Tutte le funzioni normalmente svolte dal mitocondrio, dal RE e dal Golgi, sono svolte dalla **membrana plasmatica**. In essa sono infatti collocati gli enzimi della catena respiratoria.
- La membrana plasmatica forma un ripiegamento detto **mesosoma**, quando la cellula entra in divisione. Al mesosoma si lega l'acido nucleico (che nel frattempo si sta replicando) e il setto si approfonda nella cellula, determinando poi la divisione.



- Al di sopra della membrana plasmatica c'è una struttura rigida, detta **parete cellulare** o **parete batterica***, che conferisce la forma alla cellula batterica.
- Al di di sopra della parete batterica c'è poi un **glicocalice**, che ricomprende: una **capsula**** (una formazione di natura polisaccaridica a margini netti) oppure uno **strato mucoso** (formazione più lassa, meno compatta, a margini non definiti, di natura polisaccaridica) e poi sempre uno **strato S** (una formazione proteica di proteine e glicoproteine che si autoassemblano in vitro a formare trimeri, tetrameri, pentameri e pori di 2-3 nm. Può anch'esso funzionare come adesina, permettendo al batterio di aderire alle cellule ospiti e a superfici nell'ambiente; sembra contribuire alla virulenza del germe che lo possiede, proteggendo il batterio dall'azione del complemento e, in parte, dalla fagocitosi; sembra capace di proteggere alcuni batteri da enzimi litici e variazioni del pH).

master COPY



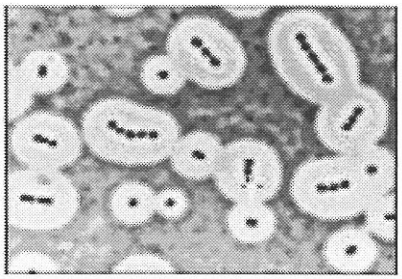
- Al di fuori della cellula ci sono i **pili** o **fimbrie**, appendici proteiche, importanti sia per l'adesione del microorganismo alle cellule (es. nella *gonorrea* i pili sono essenziali per far sì che il gonococco si leghi alle c.epiteliali dell'apparato genitale), sia per il processo di trasferimento genetico tra batteri (es. coniugazione).
- Ci può essere 1 o più strutture, i **flagelli**, che conferiscono la capacità di movimento/nuoto nel liquido.

master COPY COPISTERIA

** **CAPSULA**:

È una formazione che circonda il batterio molto ampia. Sembra quasi un alone, un gel, intorno al batterio.

- È molto importante: secondo *l'esperimento di Griffith* alcuni topolini inoculati con un batterio incapsulato, il topo moriva. Se lo stesso ceppo di batterio era acapsulato, il topo viveva. Per cui la capsula è un importante vettore di virulenza.
- Solo alcuni batteri sono capaci di produrre una capsula (controllo genetico). La sua produzione dipende anche dalle condizioni ambientali (controllo ambientale. Es. il *Bacillus anthracis* produce la capsula solo se è presente una quantità di CO_2 più elevata dell'atmosfera in cui cresce e se c'è bicarbonato nel terreno. Questi gli servono per produrre l'acido glutammico necessario per formare la capsula.)



- La capsula inoltre conferisce un aspetto liscio alle colonie.
- La capsula è prevalentemente di natura polisaccaridica oppure polipeptidica (Es. *Bacillus anthracis*) ed è ricca di acqua.

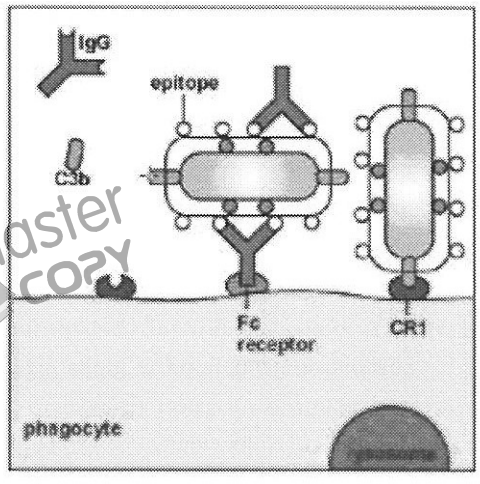
La capsula può essere osservata al MO perché non si colora e quindi si mette in evidenza il batterio; al MET e al MES (se si associano più cellule batteriche insieme).
Alcuni batteri hanno una capsula poco abbondante detta **microcapsula.** Essa non è visibile al MO e al ME, per cui si effettua una *reazione di rigonfiamento capsulare* affinchè diventi visibile al microscopio. Questo viene fatto ad es. per la *Salmonella*, usando degli Ab rivolti contro Ag parietali o della capsula.

La capsula non è una struttura essenziale per la sopravvivenza del batterio, ma essa:

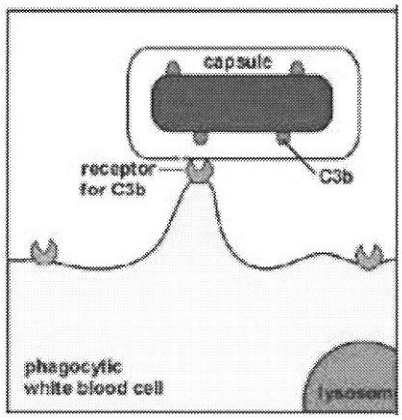
1. Conferisce **resistenza all'essiccamento** (infatti è un gel che riveste la superficie batterica)
2. Può essere usata come **nutriente** (venendo degradata e riassorbita dal batterio) in momenti di difficoltà
3. Favorisce **l'aderenza** tra un microorganismo e un altro microorganismo e la formazione di **microcolonie** (o **biofilm**, che è un termine che indica un agglomerato di batteri con struttura peculiare. Es. il verde che si vede nell'incrostazione dei rubinetti è la un batterio chiamato *Pseudomonas.*)

Es. lo *Streptococcus mutans* degrada il saccarosio in glucosio e fruttosio e converte il glucosio in un polisaccaride appiccicoso (destano) che forma la capsula e permette al germe di aderire allo smalto dei denti e produrre la placca dentale, nella quale poi si infilano altri microorganismi, fino a produrre il tartaro.

4. È un importante **fattore di virulenza.** La capsula fa sì che il microorganismo possa resistere alla **fagocitosi non immune,** cioè la fagocitosi che non è mediata da anticorpi o opsonine. La capsula copre i PAMPs presenti sulla sua superficie, facendo sì che esso non venga riconosciuto dal fagocita....Il microorganismo darà l'infezione.



Se però il nostro sistema immunitario, all'ingresso del microorganismo, ha già montato una risposte immunitaria specifica e ha prodtto IgG che possono riconoscere il batterio capsulato. La presenza degli Ab quindi fa sì che il germe capsulato possa essere fagocitato (fagocitosi anticorpo-mediata), perché fa da ponte tra il batterio e il recettore Fc presente sulla superficie del fagocita.



⟸ In alcuni batteri, la capsula copre l'opsonina C3b legata alla parete batterica e impedisce il legame con il recettore sulla superficie del fagocita. Quindi le proteine del complemento sono poco efficienti nel favorire la fagocitosi dei microorganismi capsulati.

5. Conferisce **resistenza alla lisi mediata dal complemento.**

- Alcune capsule ricche in acido sialico legano il fattore H sierico che stimola la degradazione da parte del fattore I del C3b e inibisce la produzione di C3b
- Alcune capsula inibisce la formazione di C3 convertasi, bloccando il complemento
- Effetto sterico di mascheramento della superficie cellulare e blocco della formazione del complesso di attacco alla membrana.

master COPY COPISTERIA

*PARETE BATTERICA

La maggior parte dei batteri non può vivere senza parete; i batteri che non ce l'hanno sono detti "***micoplasmi***" (= essi non sono dotati di una struttura rigida che gli conferisce una forma compatta e non possono essere coltivati nei comuni terreni di coltura. All'inizio venivano considerati dei virus, perché erano "filtrabili".

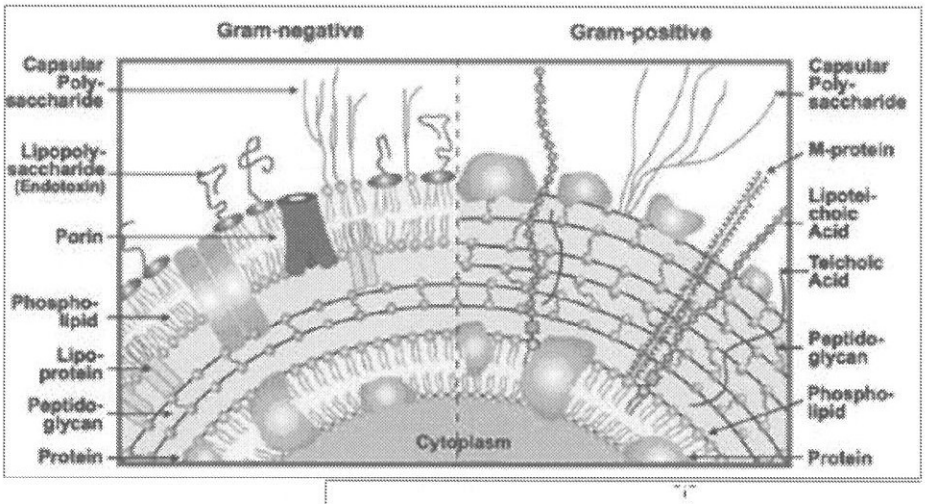
La parete:

- Protegge il batterio dalla *LISI OSMOTICA* (evita che il batterio perda acqua e muoia). I micoplasmi invece ne sono molto sensibili.
- Determina la forma del batterio
- Ha dei componenti unici in natura
- E' il bersaglio di numerosi *agenti antibatterici/antibiotici* (è bersaglio anche del lisozima presente nelle lacrime e nella saliva)
- La struttura della parete è diversa nei batteri Gram+ e Gram-. Anche i batteri che non si colorano col Gram devono questa caratteristica di non colorabilità alla composizione della parete.

master COPY

Parete dei Gram + positivi

La parete dei Gram+ è più spessa e fa sì che questi batteri si colorino di **violetto** con la colorazione di Gram. In particolare i Gram+ hanno una parete costituita per la maggior parte da **peptidoglicani***(circa 40 strati), macromolecole rigide che conferiscono rigidità alla parete, con altre molecole accessorie (es. acido lipotecoici, acido tecoico).

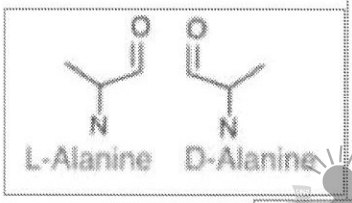


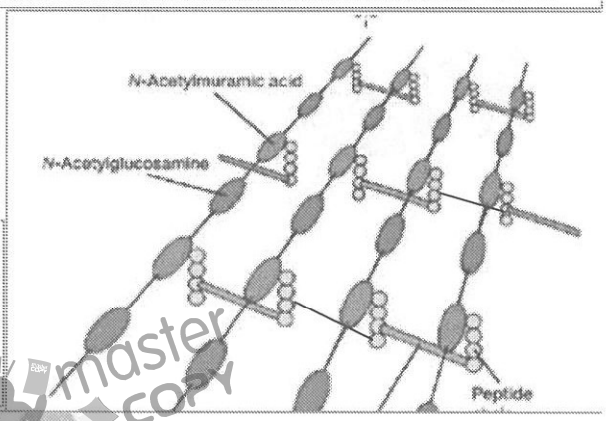
*Peptidoglicano:

- Strato rigido presente sia nei Gram+ che Gram-
- Composto da uno scheletro di catene glicaniche (2 zuccheri che si ripetono: **N-acetilglucosammina** e **Acido N-acetilmuramico** (presente solo ed esclusivamente nei batteri)).

All'acido N-acetilmuramico si lega un **tetrapeptide** costituito da 4 AA (**L-alanina, Acido D-glutammico, L-lisina, D-alanina**).

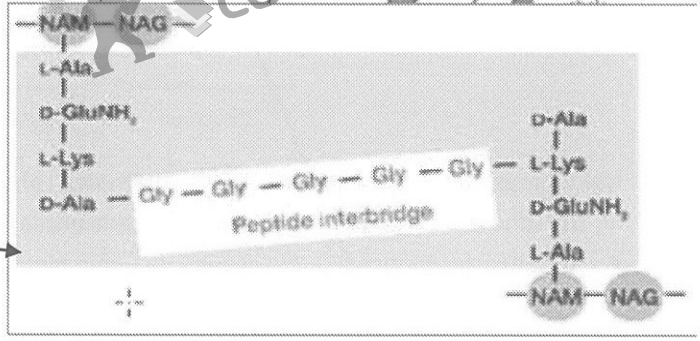
I batteri sono in grado di trasformare la L-alanina in D-alanina mediante l'enzima *Alanina-racemasi.*





master COPY

Il 3° amminoacido, la L-lisina (o l'Acido diaminopimelico) può formare un legame con il 4° amminoacido della catena adiacente (residuo di D-alanina), ed esso poi forma un legame col 3° amminoacido della catena adiacente. I legami possono essere diretti o indiretti (con interposizione di un altro peptidico; Es. ponte di 5 glicine in *Staphylococcus aureus*; ponti di glicina; serina o treonina in altri batteri Gram+)



Tridimensionalmente il peptidoglicano è come una rete metallica.

master COPY COPISTERIA