

47. Appendice 7: fondamenti di microbiologia

III edizione ebook

Luigi Barbieri, Giovanna Testa



(per gli studenti che devono affrontare il corso di Patologia generale prima del corso di Microbiologia)

| | | | |
|--|------|--|------|
| 47. Appendice 7: fondamenti di microbiologia..... | 1493 | 47.4. GENERALIA FUNGINA | 1503 |
| 47.1. GENERALIA MICROBIOLOGICA | 1495 | 47.4.1. Caratteristiche principali dei funghi..... | 1505 |
| 47.1.1. Speciazione..... | 1495 | 47.4.2. Morfologia dei miceti: strutture microscopiche..... | 1507 |
| 47.1.2. Ambito dottrinale..... | 1496 | 47.4.3. La morfologia dei miceti: strutture macroscopiche..... | 1508 |
| 47.2. GENERALIA PROTOZOARIA | 1497 | 47.4.4. Crescita e fisiologia..... | 1508 |
| 47.2.1. Terminologia..... | 1497 | 47.4.5. La riproduzione dei miceti..... | 1508 |
| 47.3. CARATTERISTICHE PRINCIPALI DEI PROTOZOI | 1498 | 47.4.6. Usi..... | 1510 |
| 47.3.1. Caratteristiche strutturali..... | 1498 | 47.4.7. Sorgente di farmaci..... | 1510 |
| 47.3.2. Ciclo biologico dei protozoi..... | 1500 | 47.4.8. Coltivazione per scopi alimentari..... | 1511 |
| 47.3.3. Esempio di ciclo biologico di un protozoo: la Babesia..... | 1501 | 47.4.9. Specie eduli e specie velenose..... | 1511 |
| 47.3.4. Malattie protozoarie umane..... | 1502 | 47.4.10. Uso come pesticidi in agricoltura..... | 1512 |
| | | 47.4.11. Uso per gli effetti psicotropi..... | 1512 |

| | | | |
|---|-------------|--|-------------|
| 47.4.12. Micotossine..... | 1513 | 47.14.1. Genomi virali..... | 1544 |
| 47.4.13. Micosi..... | 1514 | 47.14.2. Variazioni genetiche nei virus..... | 1545 |
| 47.5. GENERALIA BATTERIOLOGICA | 1515 | 47.14.3. Ciclo virale..... | 1547 |
| 47.6. MORFOLOGIA DEI BATTERI | 1518 | 47.14.4. Replicazione virale in funzione del tipo di acido nucleico del genoma virale..... | 1548 |
| 47.7. STRUTTURA DELLA CELLULA BATTERICA | 1520 | 47.14.5. Effetti sulla cellula ospite..... | 1550 |
| 47.7.1. Strutture intra-cellulari..... | 1520 | 47.14.6. Spettro di specie infettabili dai virus..... | 1551 |
| 47.7.2. Strutture extra-cellulari..... | 1523 | 47.15. CLASSIFICAZIONE DEI VIRUS | 1552 |
| 47.8. METABOLISMO DEI BATTERI | 1527 | 47.15.1. Classificazione di Baltimore..... | 1552 |
| 47.9. CRESCITA E RIPRODUZIONE DEI BATTERI | 1528 | 47.16. RUOLO DEI VIRUS NELLA PATOLOGIA UMANA | 1553 |
| 47.9.1. Genetica batterica..... | 1529 | 47.16.1. Epidemiologia virale..... | 1554 |
| 47.9.2. Batteriofagi..... | 1529 | 47.16.2. Epidemie e pandemie..... | 1555 |
| 47.9.3. Comportamento dei batteri..... | 1530 | 47.16.3. Virus e neoplasie..... | 1556 |
| 47.10. CLASSIFICAZIONE E IDENTIFICAZIONE | 1531 | 47.16.4. Meccanismi di difesa dell'ospite..... | 1557 |
| 47.10.1. La classificazione basata sulla colorazione di Gram..... | 1532 | 47.16.5. Prevenzione e trattamento..... | 1557 |
| 47.10.2. Interazioni con altri organismi..... | 1533 | 47.17. APPLICAZIONI | 1560 |
| 47.11. I BATTERI NEL MONDO INDUSTRIALE E TECNOLOGICO | 1536 | 47.17.1. Biologia e medicina..... | 1560 |
| 47.12. GENERALIA VIROLOGICA | 1537 | 47.17.2. Virus sintetici..... | 1561 |
| 47.13. ORIGINI DEI VIRUS | 1538 | 47.17.3. Scienza dei materiali (nanotecnologie)..... | 1561 |
| 47.14. STRUTTURA DEI VIRUS | 1540 | 47.18. PRINCIPALI FONTI UTILIZZATE | 1562 |



47.1. Generalia microbiologica

47.1.1. SPECIAZIONE

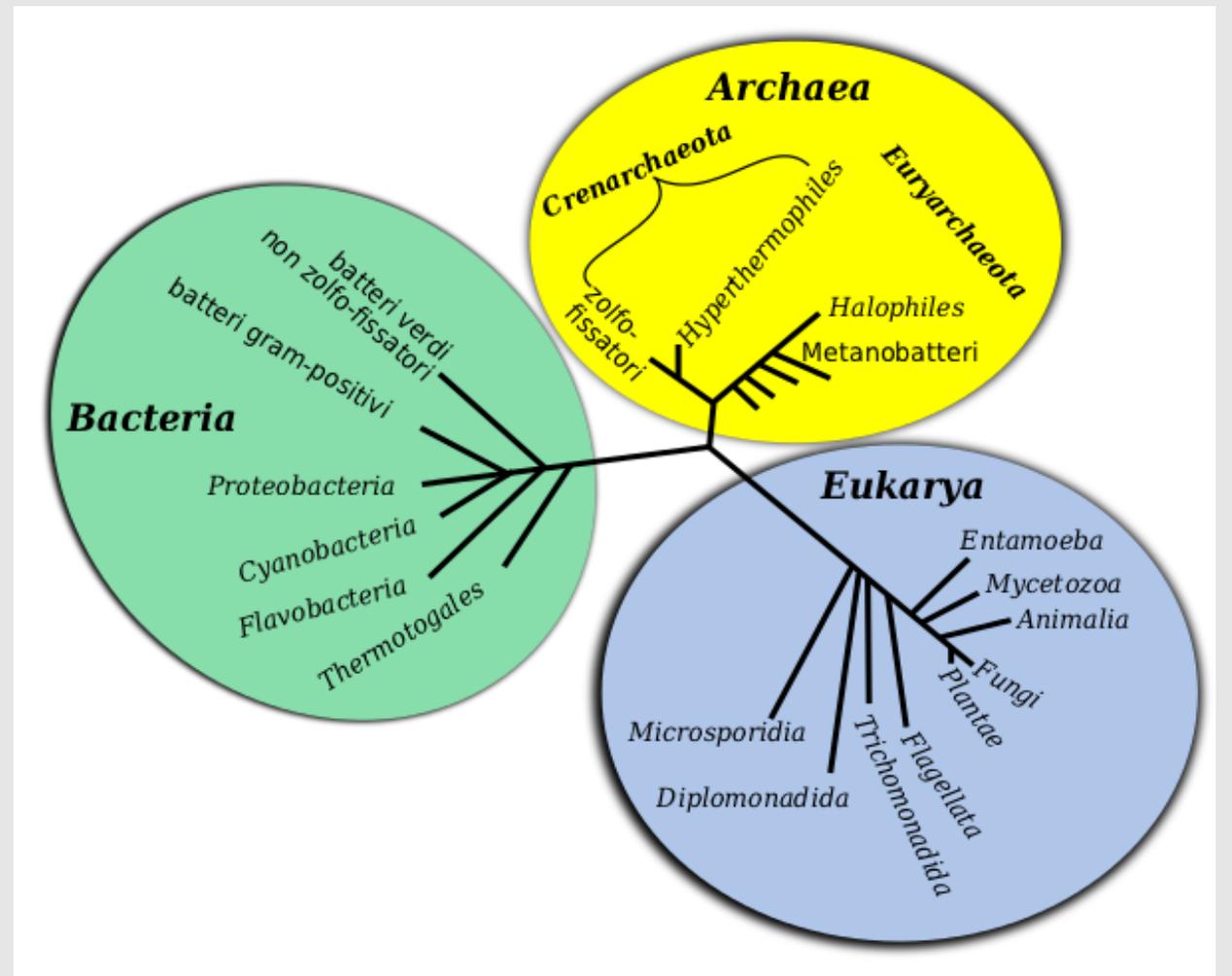
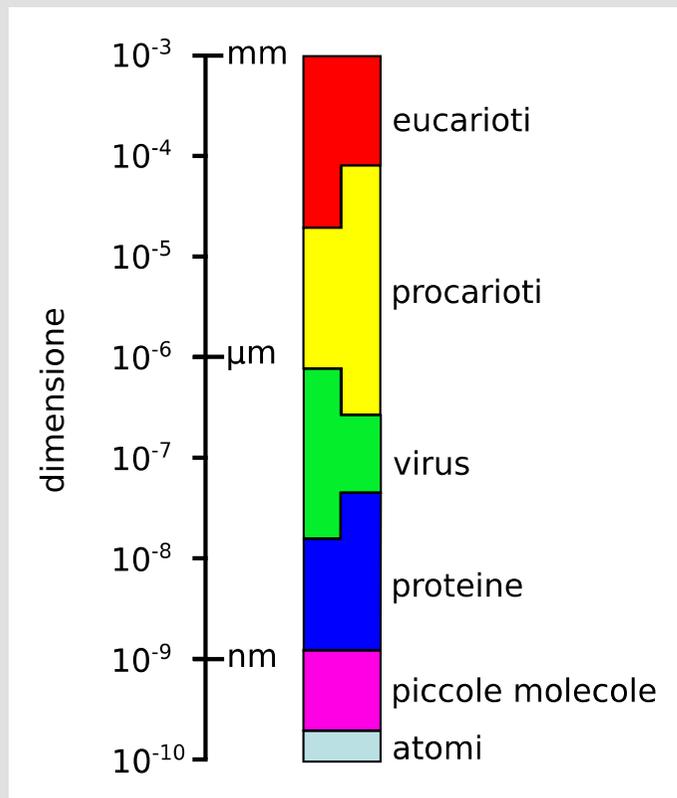
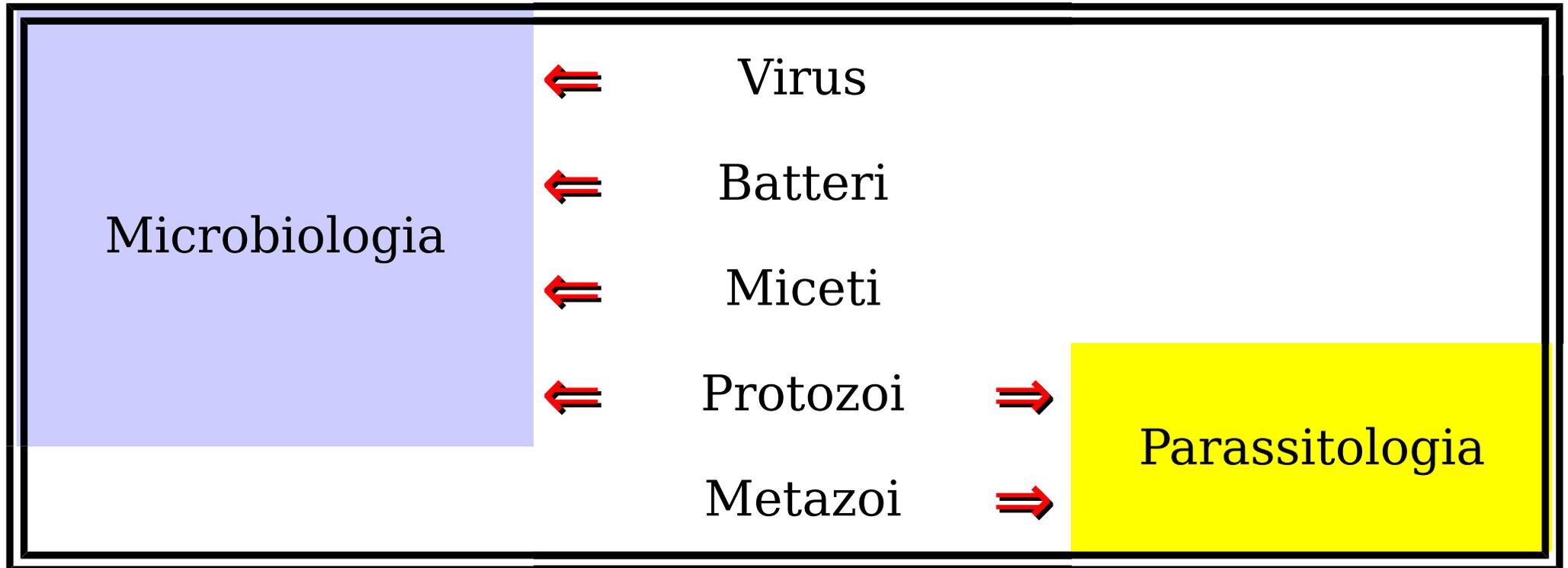


Figura 47.1. I limiti di dimensioni di vari organismi biologici e bio-molecole

Liberamente tratto da un'immagine di public domain di Vickers, T. da upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/01/Relative_scale.svg

Figura 47.2. L'albero della vita con i tre domini evolutivi principali

47.1.2. AMBITO DOTTRINALE

 La parassitologia e la microbiologia si dividono le patologie da protozoi, mentre quelle da metazoi fanno parte solamente della parassitologia

47.2. Generalia protozoaria

47.2.1. TERMINOLOGIA

☞ I protozoi sono un gruppo eterogeneo di organismi eucariotici unicellulari, molti dei quali dotati di motilità

Vengono spesso inseriti tra gli “animali”

La loro fisiologia cellulare è molto simile a quella degli animali metazoi come l'uomo

Poche sono le caratteristiche distintive che possono essere sfruttate da farmaci specifici

● *In particolare gli antibiotici (antibatterici) non hanno alcun effetto sui protozoi patogeni*

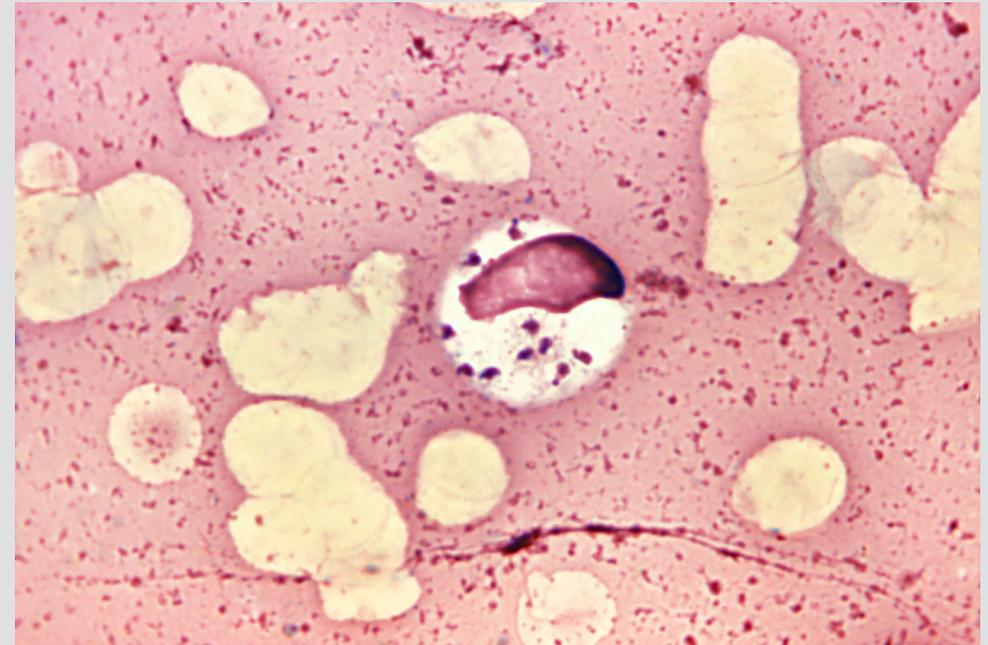


Figura 47.3. *Leishmania donovani*, (una specie di protozoo) in una cellula midollare; striscio di midollo osseo umano

Immagine di public domain di Moore, L.L. Jr. (1969) CDC Public Health Image Library da phil.cdc.gov/PHIL/Images/10231998/00019/05G0001_lores.jpg

47.3. Caratteristiche principali dei protozoi

-  ● I protozoi hanno una dimensione generalmente compresa tra 10 e 52 μm
- I protozoi possono essere osservati al microscopio ottico
- Popolano sia ambienti solidi che acquosi
- Si possono trovare in moltissimi ecosistemi con un livello variabile nella catena alimentare
- Il numero dei protozoi potenzialmente patogeni è assai ridotto rispetto al numero di specie riconosciute

47.3.1. CARATTERISTICHE STRUTTURALI

-  I protozoi possono assorbire nutrienti
 - attraverso la membrana
 - per fagocitosi/endocitosi
 - attraverso strutture dedicate (solo alcuni)

I nutrienti complessi vengono degradati nei vacuoli

Nucleo

I protozoi hanno un nucleo separato da strutture membranarie dal citoplasma

Possono avere più nuclei anche diversi tra loro

Pellicola e appendici

La pellicola è uno strato sottile che supporta la membrana citoplasmatica in molti protozoi proteggendoli e consentendo loro di mantenere una forma stabile

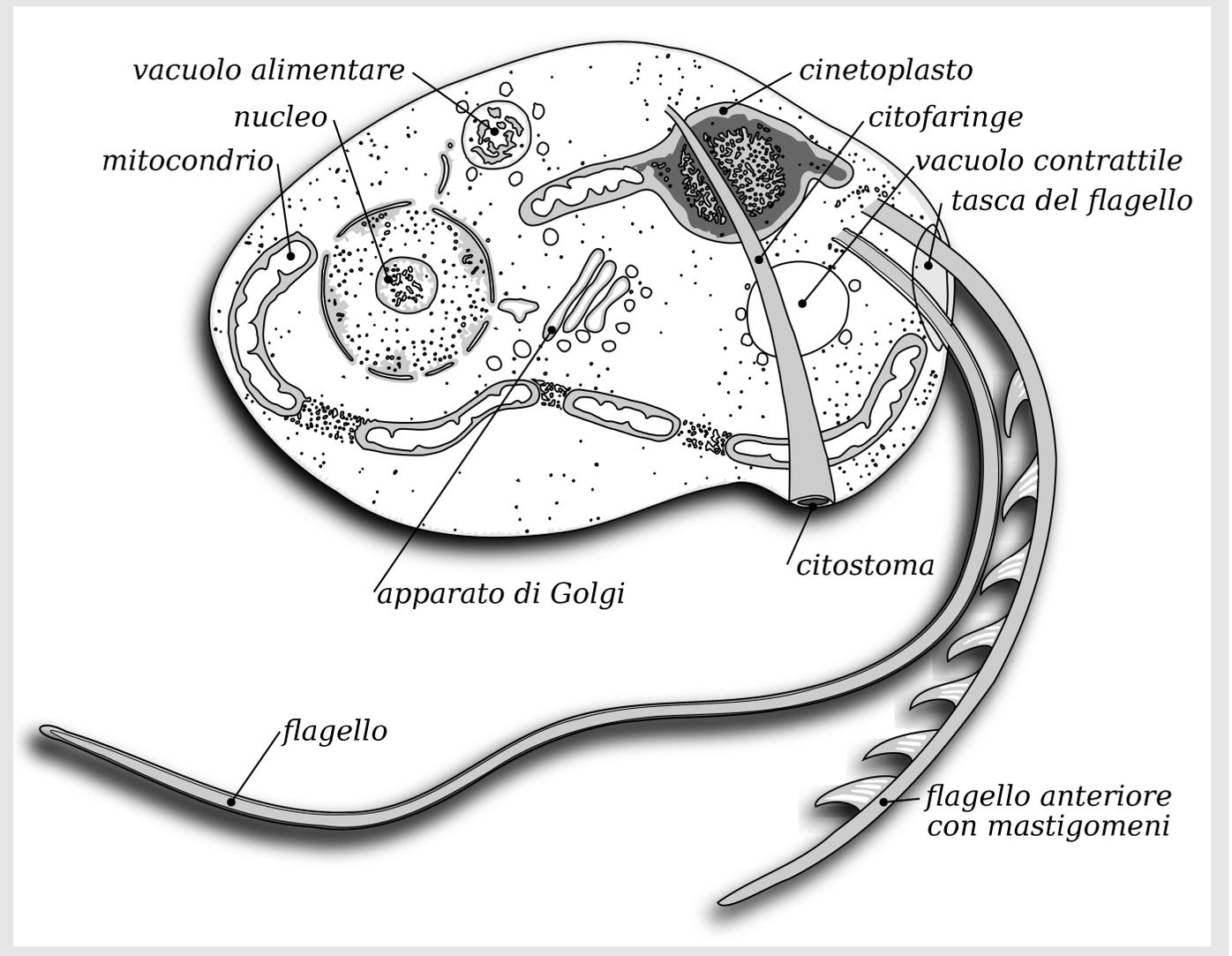
Molti protozoi possiedono strutture extra citoplasmatiche deputate al movimento: cilia, flagelli

Struttura di un protozoo

Figura 47.4. Struttura di un protozoo:
Bodo saltans

Liberamente tratto da
resnaturalis.blogspot.it/2011/04/kinetoplastida.html

Questa struttura viene portata come
esempio: le singole specie di protozoi
possono avere forme e strutture assai
diverse



47.3.2. CICLO BIOLOGICO DEI PROTOZOI

- ☞ ● Alcuni protozoi hanno cicli che alternano stadi proliferativi e stadi dormienti (spesso **cisti**)
 - Le cisti consentono di sopravvivere nell'ambiente in condizioni non adatta alla vita del protozoo e sono utili come forma di trasmissione da un ospite all'altro in caso di protozoi parassiti
 - Si chiamano **trofozoiti** le forme di protozoo in uno stadio di accrescimento
 - I protozoi si possono dividere per scissione binaria o per fissione multipla
 - Alcuni hanno una riproduzione sessuata, altri a sessuata, altri alternano le due forme. Ogni singolo protozoo è ermafrodito
-

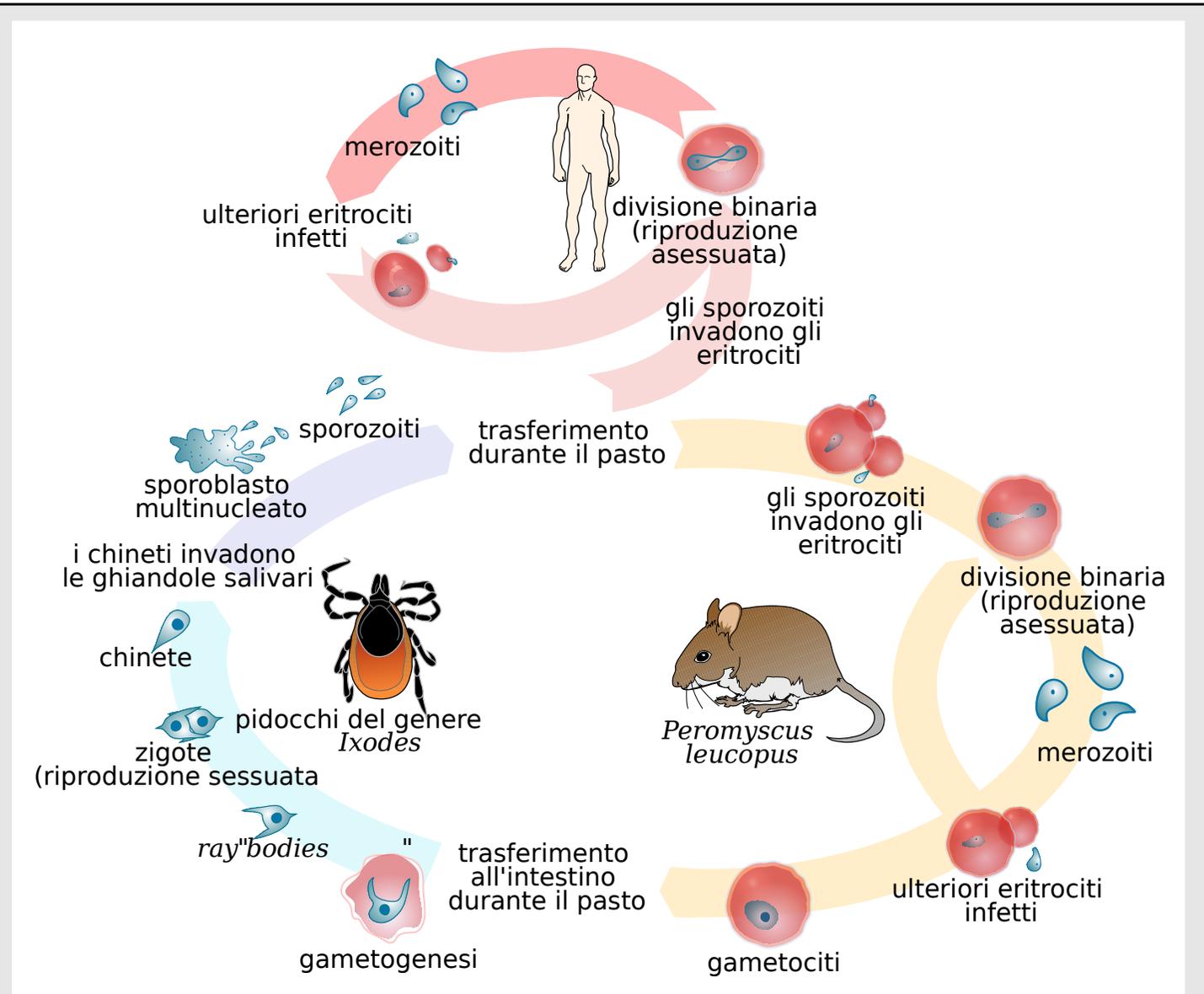
47.3.3. ESEMPIO DI CICLO BIOLOGICO DI UN PROTOZOO: LA BABESIA

Figura 47.5. Ciclo vitale della Babesia

Liberamente tratto da www.cdc.gov/parasites/babesiosis/biology.html

Il ciclo vitale del parassita ruota principalmente tra il pidocchio ed il topo

- (1) gli sporozoiti entrano nel pidocchio attraverso il pasto ematico consumato su un animale infetto, generalmente un topo od altro piccolo mammifero
- (2) le babesie vanno incontro ad un ciclo riproduttivo asessuato durante il quale prende la forma di merozoiti e trofozoiti; quindi
- (3) di gametociti
- (4) poiché la riproduzione asessuata può avvenire nei topi, questi rappresentano il serbatoio di infezione
- (5) le babesie vanno incontro a riproduzione sessuata nel pidocchio. Perciò anche il pidocchio può essere considerato un ospite definitivo
- (6) se il pidocchio punge un'ampia varietà di animali (tra cui l'uomo) può trasferire con il pasto ematico sporozoiti al nuovo ospite e causare la malattia babeiosi



47.3.4. MALATTIE PROTOZOARIE UMANE

☞ Solo un numero molto ristretto di protozoi sono patogeni per l'uomo

Le principali malattie protozoarie sono:

- malaria (da per es.: *Plasmodium malariae*)
- amebiasi (da per es.: *Entamoeba histolytica*)
- giardiasi (da *Giardia lamblia*)
- toxoplasmosi (da *Toxoplasma gondii*)
- criptosporidiosi (da *Cryptosporidium parvum*)
- trichomoniasi (da *Trichomonas vaginalis*)
- morbo di Chagas (da *Trypanosoma cruzi*)
- leishmaniosi (da per es.: *Leishmania donovani*)
- malattia del sonno (da *Trypanosoma brucei*)



Figura 47.6. *Trypanosoma cruzi* crithidia, da striscio di sangue. Colorazione Giemsa al microscopio ottico

Immagine di public domain preparata da Schultz, M.G (Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library), 2005

47.4. Generalia fungina



Figura 47.7. I funghi hanno multiformi aspetti

In alto da sn. a dx. *Amanita muscaria* (immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Netherlands di Onderwijsgek (2006) da en.wikipedia.org/wiki/File:Amanita_muscaria_3_vliegenzwammen_op_rij.jpg); *Amanita phalloides* (immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Archenzo (2005) da it.wikipedia.org/wiki/File:Amanita_phalloides_1.JPG); muffa su pomodoro (immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Algont (2006) da commons.wikimedia.org/wiki/File:Schimmel-op-tomaat1079.jpg)

In basso da sn. a dx. *Aspergillus niger* (per gentile concessione di Anna Nanetti, Alma Mater Università di Bologna); Chytridiomycota (Patterson, D., Laderman, A. (2001) da clarku.edu/faculty/dhibbett/TFTOL/content/1introduction.html)

☞ I miceti rappresentano un largo gruppo di organismi eucariotici che includono:

- lieviti
- muffe
- funghi macroscopici eduli e non

Sono classificati in un unico regno, separato da quello delle piante, degli animali o dei batteri

La disciplina che studia i funghi è la micologia

I funghi hanno un ruolo essenziale nel ciclo di decomposizione della materia organica ed in altri cicli nutrizionali

Sono stati usati dall'uomo:

- come cibo (funghi eduli)
- come complemento alimentare (levitazione del pane, fermentazione della birra)
- per la produzione di antibiotici (sostanze di origine micetica con attività antibatterica)
- per le proprietà allucinogene di alcuni loro prodotti
- come agenti per il controllo delle infestazioni dei raccolti in agricoltura

Alcune specie contengono micotossine che possono essere altamente velenose per l'uomo ed altri animali

I funghi presentano enorme varietà di ruoli ecologici, cicli vitali, morfologie da singole cellule ai macroscopici funghi eduli



Figura 47.8. Micheli, P.A.

Liberamente tratto da un'immagine di public domain da webalice.it/mondellix/Storia_della_micologia.htm

Nel 1729, Pier A. Micheli pubblicò la prima descrizione dei funghi

47.4.1. CARATTERISTICHE PRINCIPALI DEI FUNGHI

👉 Come le piante i funghi spesso crescono direttamente sul suolo, con strutture macroscopiche che possono ricordare le piante, ma sono completamente separati evolutivamente e strutturalmente sia dalle piante sia dagli animali

Come gli altri eucarioti i funghi posseggono

- nuclei circondati da membrana con geni che contengono regioni non codificanti (introni)
- organuli citoplasmatici circondati membrana
- ribosomi diversi da quelli batterici

Come le piante i funghi:

- possiedono una parete cellulare e vacuoli
- si riproducono sia per via sessuata che asessuata
- possono produrre spore

Come i batteri alcune specie fungine

- possono crescere come singole cellule e riprodursi per gemmazione o divisione binaria

Diversamente da piante e batteri

- la parete fungina è composta sia da glucani che da chitina

Varietà

👉 Sono state descritte formalmente circa 100,000 specie diverse di funghi, mentre si stima che esse possano essere oltre 5,000,000

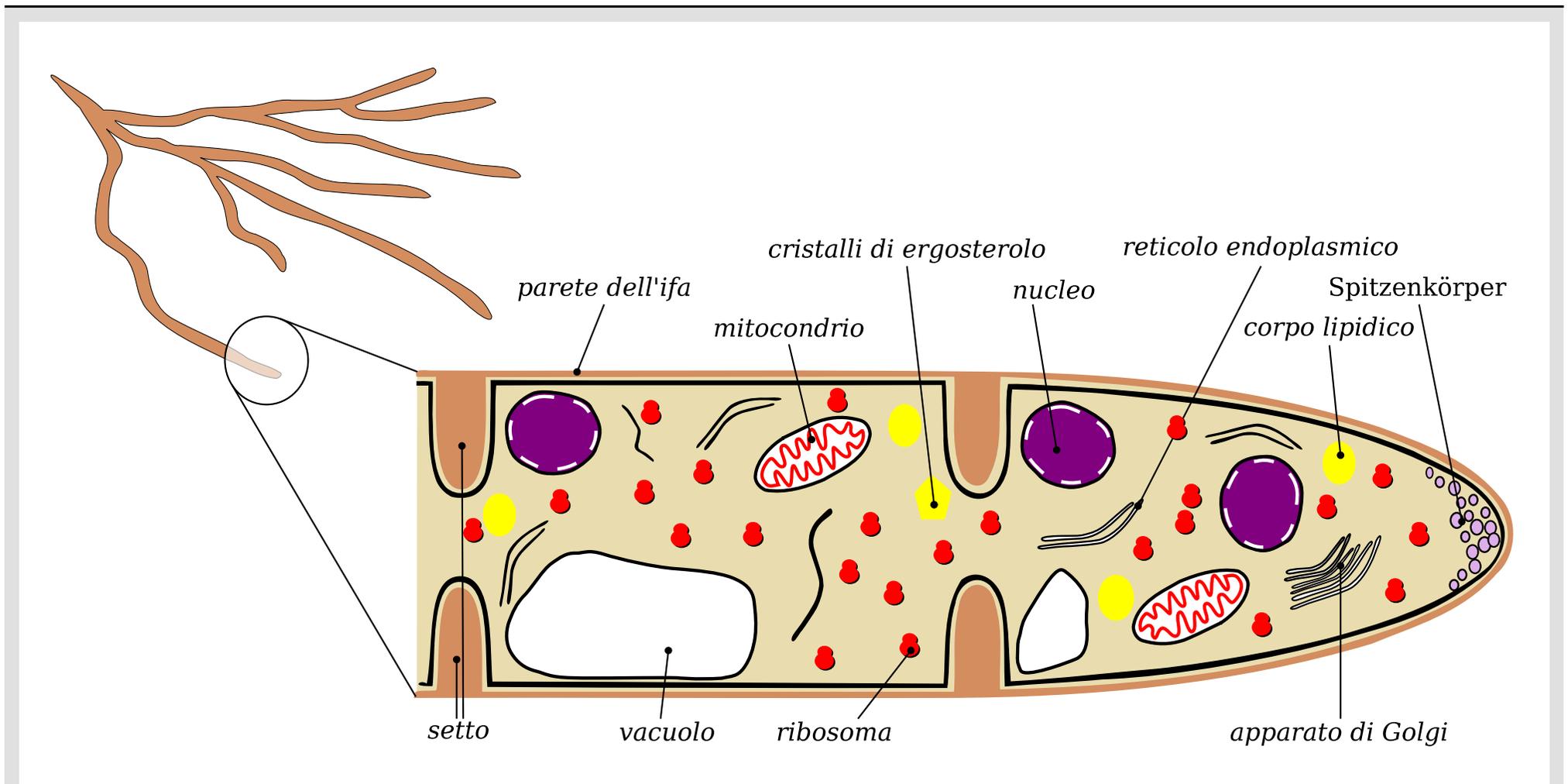


Figura 47.9. Ife: struttura cellulare. Liberamente tratto da un'immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Higgins, A. (2012) da en.wikipedia.org/wiki/File:HYPHAE.png

47.4.2. MORFOLOGIA DEI MICETI: STRUTTURE MICROSCOPICHE

☞ La maggior parte dei funghi cresce sotto forma di ife che sono strutture cilindriche di circa 2-10 μm di diametro e fino ad alcuni centimetri in lunghezza

Nuove ife si formano per emergenza di nuove gemme spesso con biforcazioni: l'insieme delle ife interconnesse si chiama micelio

Spesso il micelio per la presenza di interconnessioni citoplasmatiche che consentono il passaggio anche di organuli sub-cellulari può essere considerato come formato da un'unica super-cellula multi-nucleata

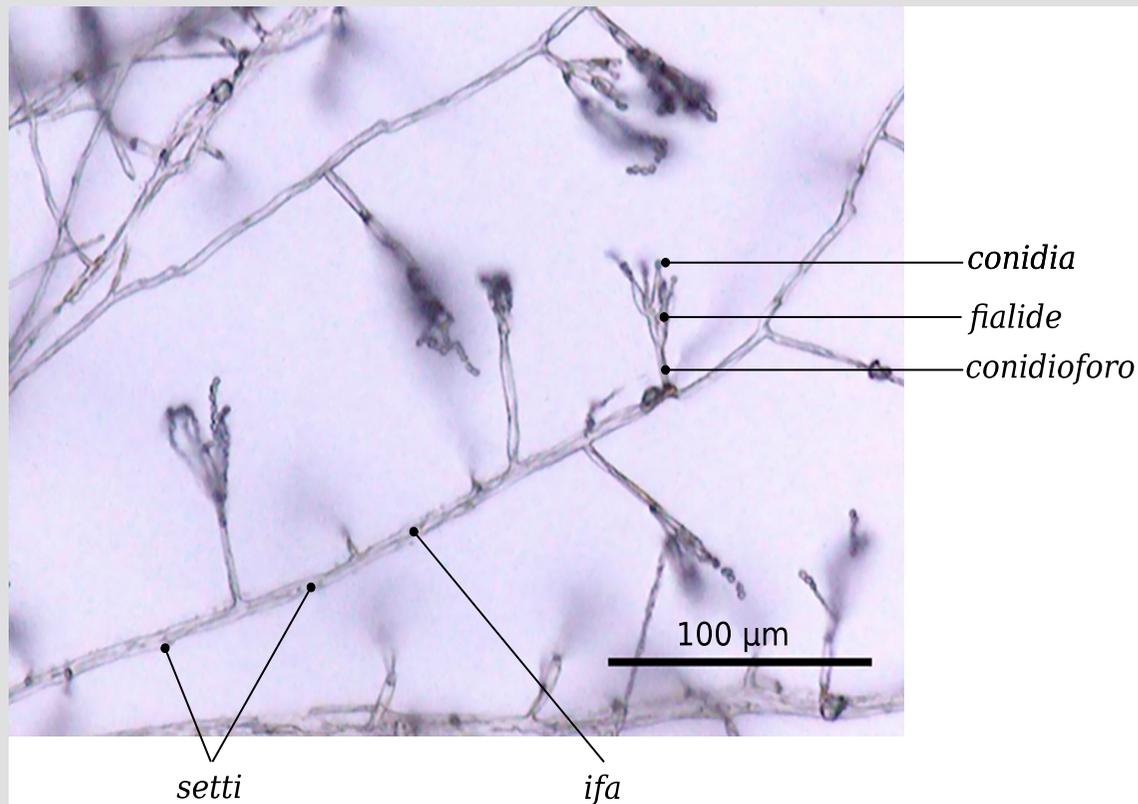


Figura 47.10. Isolato ambientale di *Penicillium* (ingrandimento 200 \times)

Liberamente tratto da un'immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Tombe, Y. (2005)

commons.wikimedia.org/wiki/File:Penicillium_labeled.jpg

47.4.3. LA MORFOLOGIA DEI MICETI: STRUTTURE MACROSCOPICHE

 I miceli possono diventare visibili ad occhio nudo

Spesso possono essere coltivati in laboratorio in mezzi semi-solidi (agar) formando colonie che si caratterizzano per forma, colore ed aspetto, caratteristiche utilizzabili a scopo diagnostico

In natura queste colonie possono raggiungere enormi dimensioni (es.: una colonia di *Armillaria solidipes* che si stima estesa su un'area vicina ai 10 km² con una età di quasi 9,000 anni)

47.4.4. CRESCITA E FISIOLOGIA

 I funghi possono crescere

- come ife in substrati solidi o alla loro superficie (**muffe**)
 - come singole cellule in ambienti acquatici (**lieviti**)
-

47.4.5. LA RIPRODUZIONE DEI MICETI

 La riproduzione nei miceti è complessa e riflette la varietà di strutture ed adattamenti

Possiamo avere:

- riproduzione asessuata
 - riproduzione sessuata
 - entrambe le modalità di riproduzione
-

Le spore die miceti

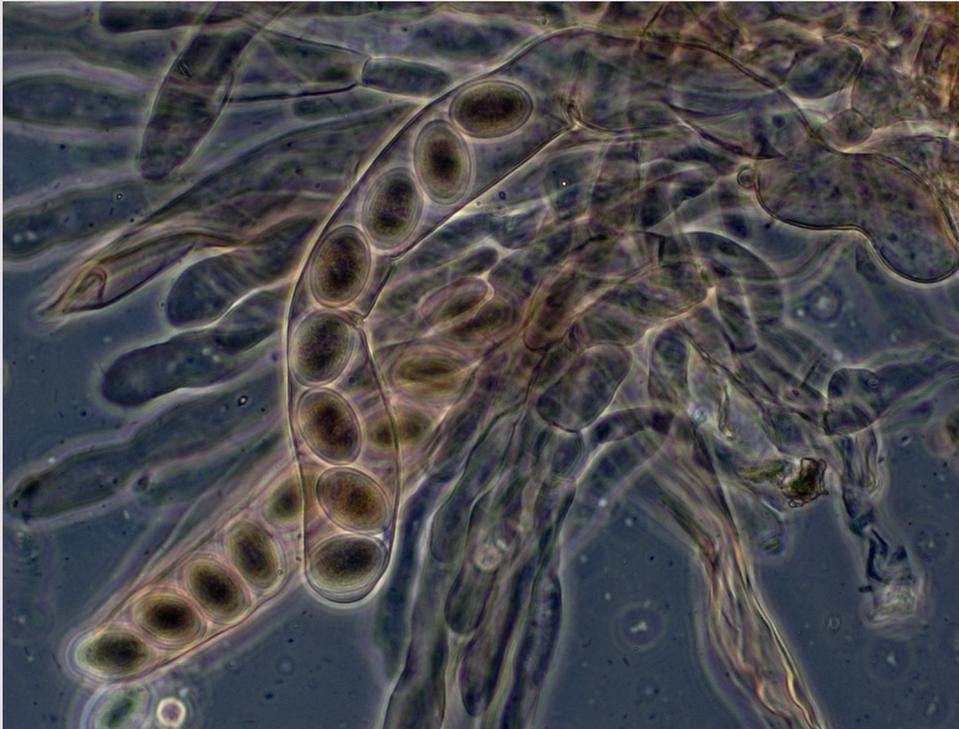


Figura 47.11. Asci di Morchella elata contenenti 8 spore. Immagine al microscopio a contrasto di fase (ingrandimento 40×)
Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Werner, P.G. (2008) da <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Morelasci.jpg>

Una delle modalità di riproduzione più importante è quella tramite la produzione di spore

le spore sono anche una forma particolarmente resistente alle variazioni ambientali, particolarmente utile per la dispersione nell'ambiente



Ecologia

Insieme ai batteri i funghi sono i principali decompositori di materiali organici giocando un ruolo essenziale in molti cicli biologici alimentari



Simbiosi

Molti funghi hanno importanti relazioni simbiotiche con altre specie. Anche sulla superficie e in alcune cavità del corpo umano ci sono funghi simbiotici

47.4.6. Usi

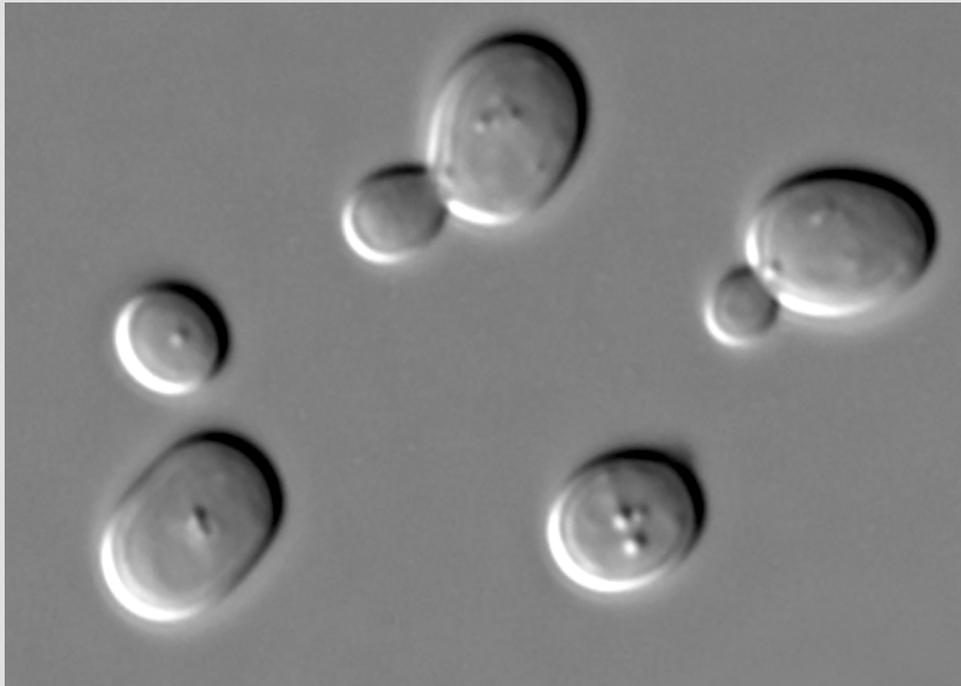


Figura 47.12. *Saccharomyces cerevisiae*. Immagine ottenuta per differential interference contrast microscopy (DIC)

Immagine di public domain modificata da en.wikipedia.org/wiki/File:S_cerevisiae_under_DIC_microscopy.jpg

47.4.7. SORGENTE DI FARMACI

☞ Molte specie producono metaboliti che sono la sorgente di farmaci

- antibiotici anti batterici, es.: la penicillina
- antibiotici anti-fungini, es.: la griseofulvina
- statine per la riduzione della sintesi del colesterolo, es.: inibitori dell'enzima HMG-CoA reduttasi come la mevastatina

47.4.8. COLTIVAZIONE PER SCOPI ALIMENTARI

☞ Esempi tipici:

- lievito di birra (*Saccharomyces cerevisiae*) un micete che cresce a cellule singole (lievito)
- miceti appartenenti al genere *Saccharomyces* vengono usati per produrre bevande alcoliche attraverso il processo della fermentazione
- il lievito *shoyu koji* (*Aspergillus oryzae*) è un ingrediente essenziale nella preparazione della salsa di soia e *sake*

47.4.9. SPECIE EDULI E SPECIE VELENOSE



Figura 47.13. *Penicillium glaucum*, la muffa del Gorgonzola

☞ Alcuni funghi producono delle masse macroscopiche che possono essere usate a scopo alimentare: funghi eduli e tartufi

Molti di questi funghi sono tuttavia da trattare con conoscenza di causa perché sono simili a specie tossiche o sono eduli solo dopo cottura prolungata

Alcuni tipi di formaggio richiedono l'inoculazione con specie particolari di miceti durante la maturazione per dar loro caratteristiche particolari

47.4.10. Uso COME PESTICIDI IN AGRICOLTURA



Figura 47.14. Infezione letale da *Beauveria bassiana*
Liberamente tratto da
home.comcast.net/~pholowko/OnLineShows/Soil/MicroBio/Beauveria_bassiana_16552.jpg

- ☞ In agricoltura i funghi sono importanti come simbionti
- come specie che occupano una nicchia ecologica non lasciando spazio a batteri od altri funghi potenzialmente patogeni
- come patogeni per insetti, nematodi, ed altri parassiti

47.4.11. Uso PER GLI EFFETTI PSICOTROPI

- ☞ Numerose specie producono sostanze psicotrope vengono assunte per le loro proprietà psichedeliche sia per scopi ricreazionali che religiosi

47.4.12. MICOTOSSINE

👉 Molti funghi producono sostanze biologicamente attive, e quindi potenzialmente tossiche

Le sostanze tossiche per piante ed animali prodotte dai funghi si chiamano **micotossine**

- es.: ergotamina prodotta da *Claviceps sp.* se ingerite possono provocare gangrena, convulsioni, allucinazioni

Le tossine prodotte da funghi di maggiore interesse medico sono di due tipi

- quelle prodotte da funghi che vengono ingeriti accidentalmente come alimento (funghi velenosi). Es. amanitina e falloidina
- quelle prodotte da contaminazioni di derrate alimentari malamente conservate (specie cereali). Es.: aflatossine

47.4.13. Micosi

Vedi capitolo 17.22

👉 Le più comuni micosi umane sono aspergillosi, candidiasi, coccidioidomicosi, criptococcosi, histoplasmosi, micetomi, e paracoccidioidomicosi

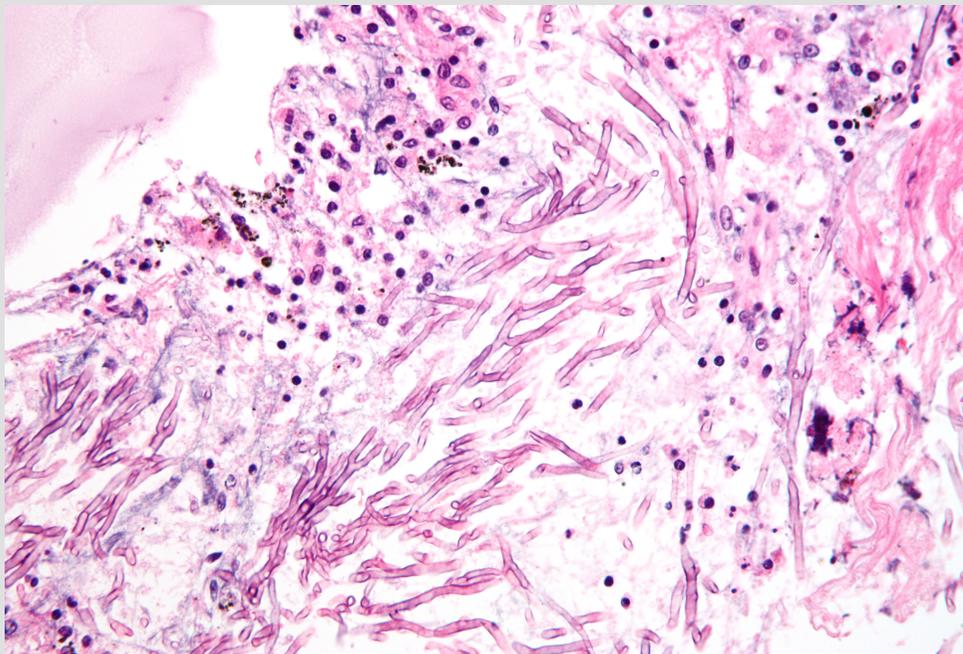


Figura 47.15. Aspergillosi polmonare

Microfotografia di una micosi (aspergillosi), colorazione con ematossilina/eosina. L'Aspergillus (che ha forma di bastoncino allungato) si vede nel centro ed è circondato da cellule infiammatorie e detriti necrotici

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di anonimo (2010) da en.wikipedia.org/wiki/File:Pulmonary_aspergillosis.jpg

47.5. Generalia batteriologica

☞ Benché spesso si parli di batteri generalmente come procarioti

Tra i procarioti esistono due grandi domini molto differenti tra loro i *Bacteria* e gli *Archea*

☞ La maggior parte delle specie batteriche non sono ancora state caratterizzate

☞ I batteri sono un grande dominio di microrganismi procariotici (senza nucleo con il genoma direttamente nel citoplasma)

- la dimensione tipica è nell'ordine del μm
- le forme dei batteri sono varie sfere, bastoncelli, spirali, etc.
- sono presenti in quasi tutti gli habitat terrestri inclusi luoghi con condizioni estreme
- popolano anche superfici e cavità di organismi superiori (incluso l'uomo) in coabitazioni mutualistiche
- ci sono circa 40,000,000 di cellule batteriche per grammo di suolo superficie e circa 1,000,000 in 1 mL di acqua fresca per un totale di circa (5×10^{30}) batteri nell'intera biosfera terrestre
- la biomassa batterica è ampiamente maggiore di quella di piante ed animali
- I batteri sono essenziali nel ciclo dei nutrienti, es.: fissazione dell'azoto, putrefazione

 I mitocondri ed i protoplasti rappresentano forme di simbiosi profonde tra antenati dei batteri e delle cellule eucariotiche

 Ci sono circa dieci volte tante cellule batteriche che cellule umane in un organismo umano; queste popolano soprattutto il lume intestinale e le superfici esterne

 La maggior parte dei batteri che convivono con l'uomo sono resi inoffensivi dalle strutture e dalle difese dell'organismo umano, mentre alcune specie sono di beneficio e sono necessarie alla vita

Alcune specie di batteri sono potenzialmente patogene, altre sono sempre patogene se vengono in contatto con l'uomo

 I batteri hanno anche un ruolo industriale crescente nell'alimentare, nella chimica/farmaceutica, nell'ecologia

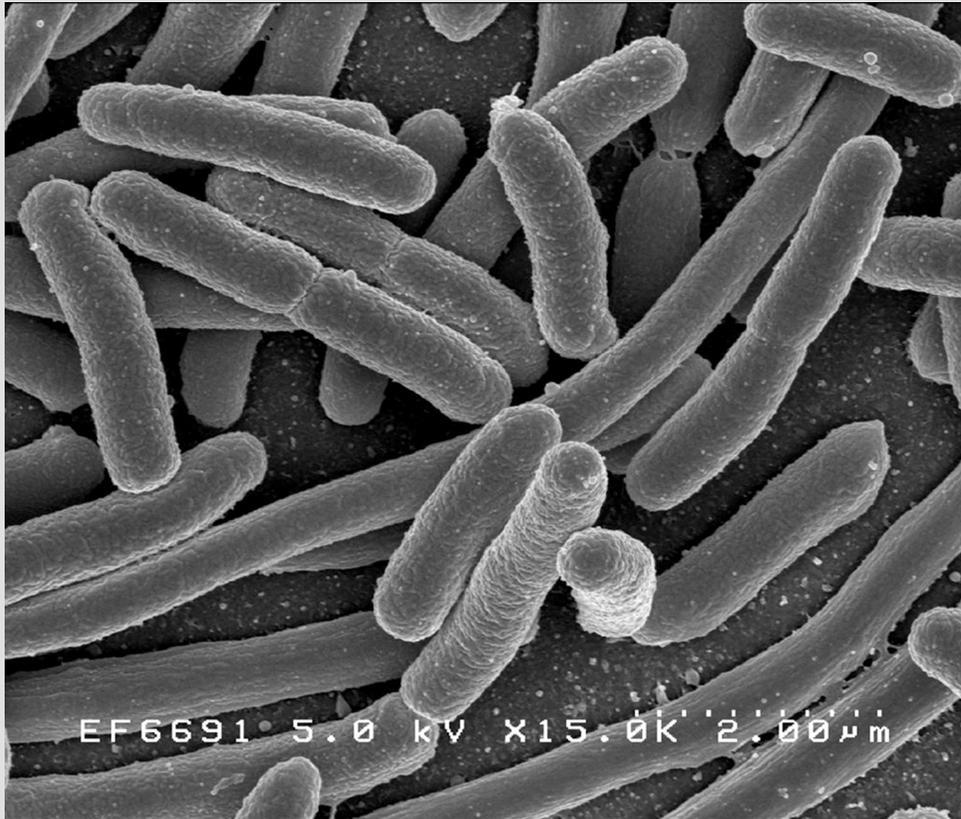


Figura 47.16. Micrografia al microscopio elettronico a scansione di bacilli di *Escherichia coli*

Immagine di public domain dei Rocky Mountain Laboratories NIH da en.wikipedia.org/wiki/File:EscherichiaColi_NIAID.jpg



Figura 47.17. Antonie van Leeuwenhoek, il primo ad osservare i batteri al microscopio

Immagine di public domain di J. Verkolje (1686) da Project Gutenberg ebook of *Den Waaragtigen Omloop des Bloeds* in gutenberg.org/etext/18929

- 👉 1676 Antonie van Leeuwenhoek fu il primo ad osservare i batteri al microscopio
- 1828 Christian Gottfried Ehrenberg coniò il nome batteri
- 1859-1880 Louis Pasteur dimostrò che il processo della fermentazione era dovuto a microrganismi ed in seguito diede sostanza alla teoria dei germi come causa di malattia
- Robert Koch formulò i **postulati di Koch** che stabiliscono l'origine microbica di una malattia
- 1910 Paul Ehrlich sviluppò il primo antibiotico

47.6. Morfologia dei batteri

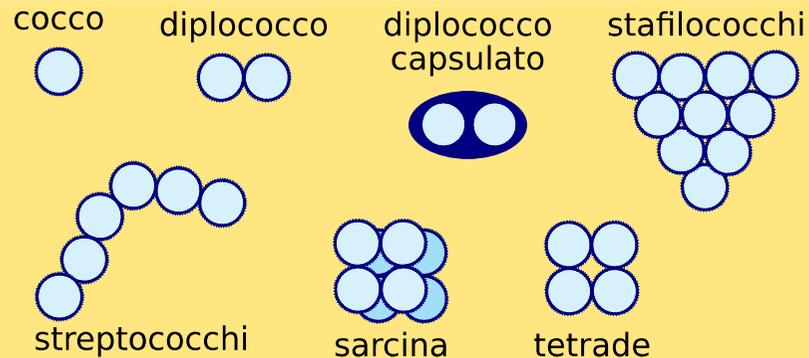
Figura 47.18. Morfologia dei batteri

Liberamente tratto da un'immagine di public domain di Ruiz Villareal, M. da upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/69/Bacterial_morphology_diagram.svg

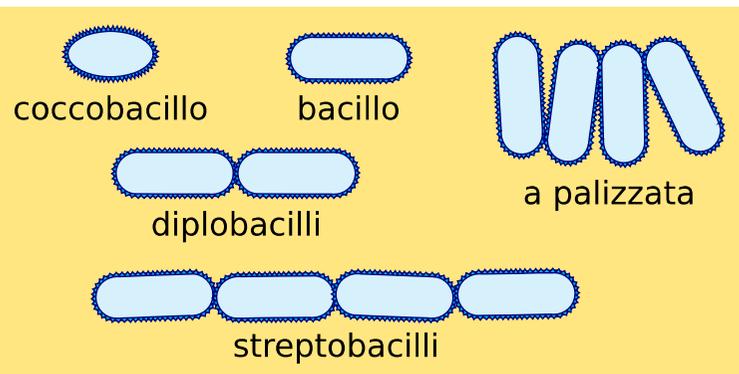
☞ Molti batteri esistono sotto forma di cellule singole, altri si associano con forme caratteristiche

- la *Neisseria* forma coppie
- streptococchi formano catene
- stafilococchi formano grappoli
- actinomiceti sono così allungati da apparire filamentosi
- la *Nocardia* forma complessi ramificati che sono simili al micelio dei funghi

cocchi



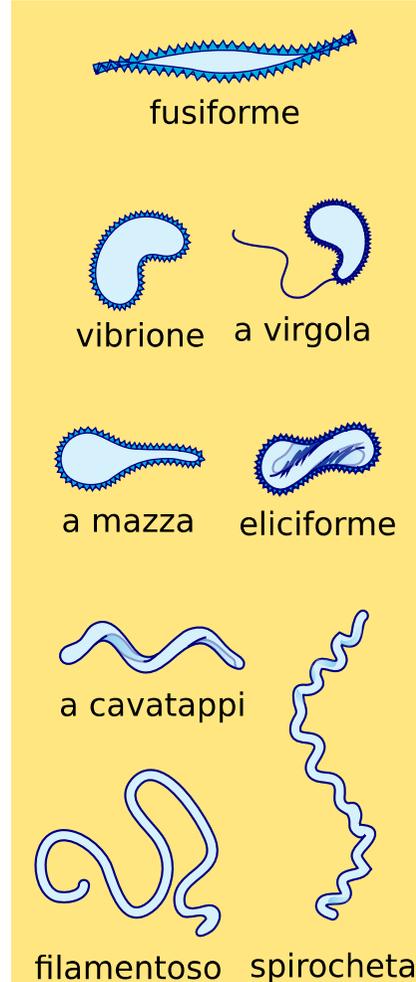
bacilli



forme con appendici e protrusioni



altre forme

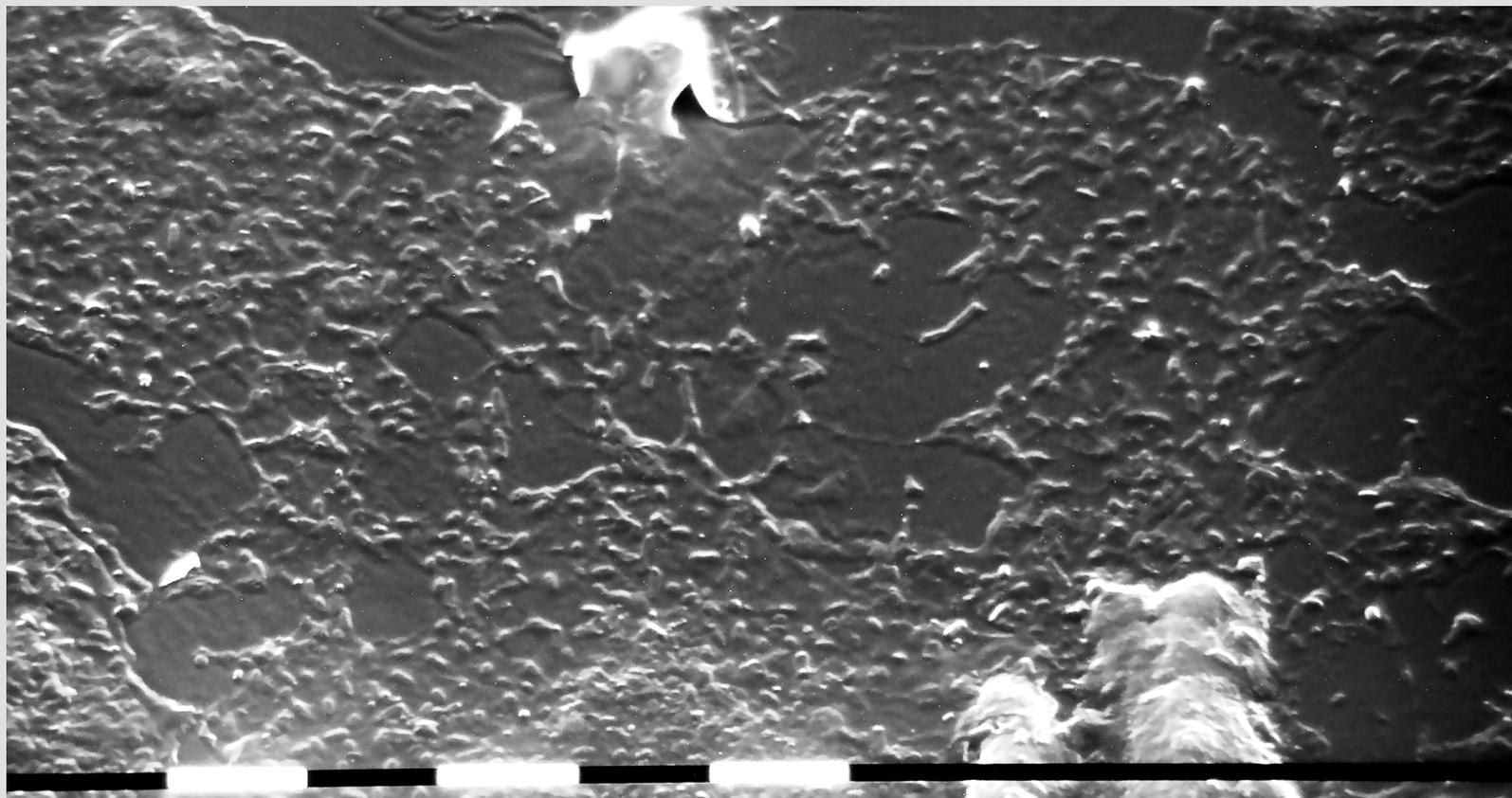


Biofilm

☞ I batteri spesso si attaccano alle superfici e formano densi aggregati chiamati **biofilm**. In natura sulle superfici solide i batteri sono comunemente presenti in biofilm che possono contenere numerose specie di batteri ed altri protisti e archea

I biofilm sono importanti in medicina perché sono spesso presenti in infezioni croniche e sulla superficie di impianti (es.: cateteri a permanenza, protesi d'anca)

i batteri in biofilm sono molto più resistenti alla terapia ed è molto difficile eradicarli



*Figura 47.19. Biofilm
Superficie di una turbina
di un riunito
odontoiatrico osservata
al microscopio
elettronico a scansione a
forte ingrandimento per
dimostrare la presenza
di batteri compresi nel
biofilm*

*La barra indica intervalli
di 10 μm*

*Immagine al
microscopio a scansione
di Gianandrea
Pasquinelli, Alma Mater
Università di Bologna*

47.7. Struttura della cellula batterica

47.7.1. STRUTTURE INTRA-CELLULARI

☞ La cellula batterica è circondata da una membrana plasmatica con la tipica struttura a doppio strato lipidico. Essendo procarioti non hanno organuli intra-citoplasmatici delimitati da membrana tipo plasmatica: mancano di

- nucleo
- mitocondri
- cloroplasti
- reticolo e apparato di Golgi con le vescicole collegate

Esistono tuttavia compartimentalizzazioni non strutturate dei componenti citoplasmatici e micro-compartimenti come i carbossisomi, il cui rivestimento è assicurato da proteine e non da membrane lipidiche.

Tutte le reazioni biochimiche avvengono quindi o nel citoplasma o a cavallo della membrana plasmatica tra citoplasma e spazio peri-plasmatico.

Materiale genetico

☞ I batteri hanno come materiale genetico

- un singolo cromosoma circolare localizzato nel citoplasma a formare una struttura detta nucleotide
- plasmidi

Il nucleotide contiene il DNA associato a proteine ed RNA.

I batteri posseggono ribosomi per la sintesi proteica che hanno una struttura diversa da quella degli eucarioti (facendone così un bersaglio per l'azione di antibiotici).

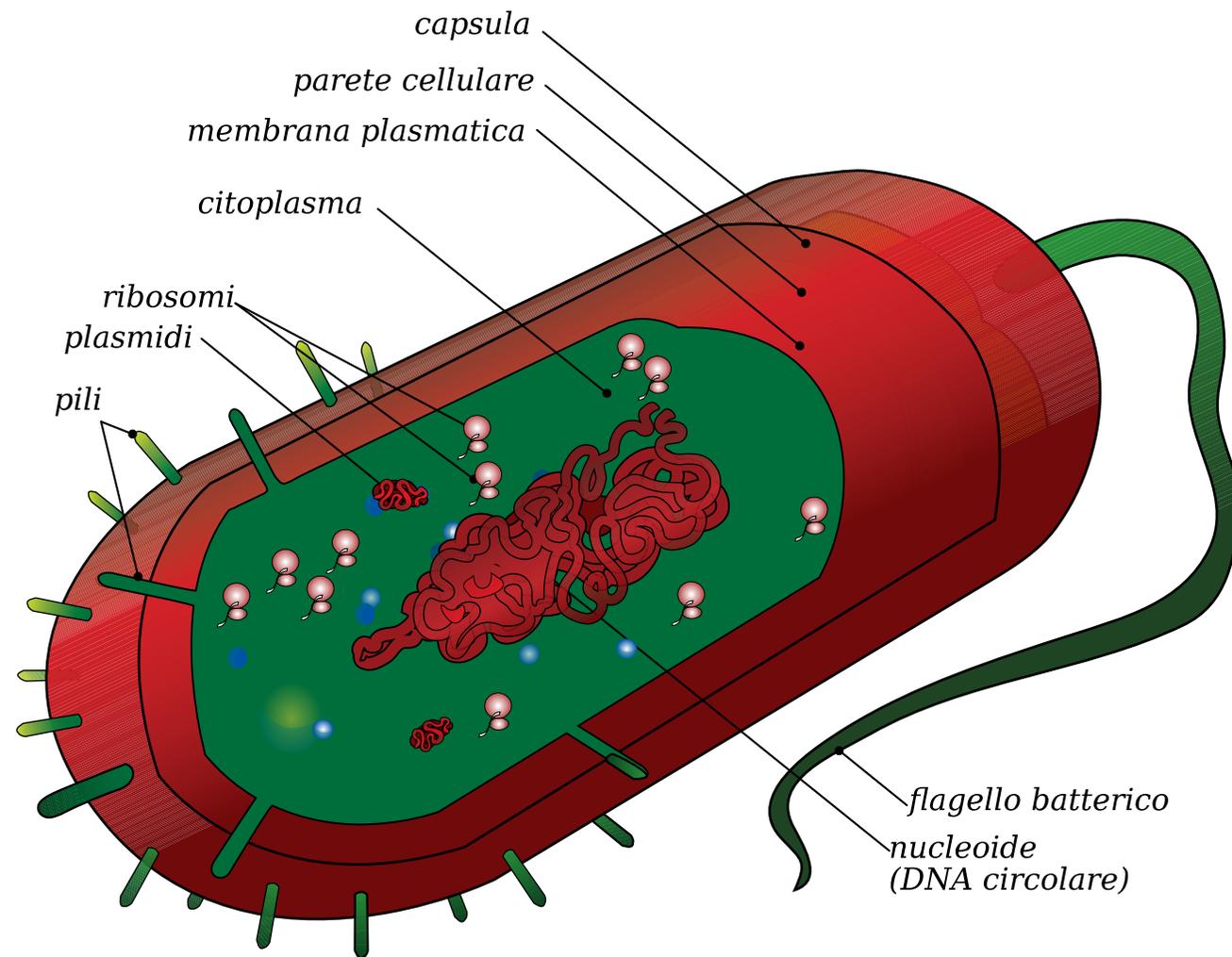
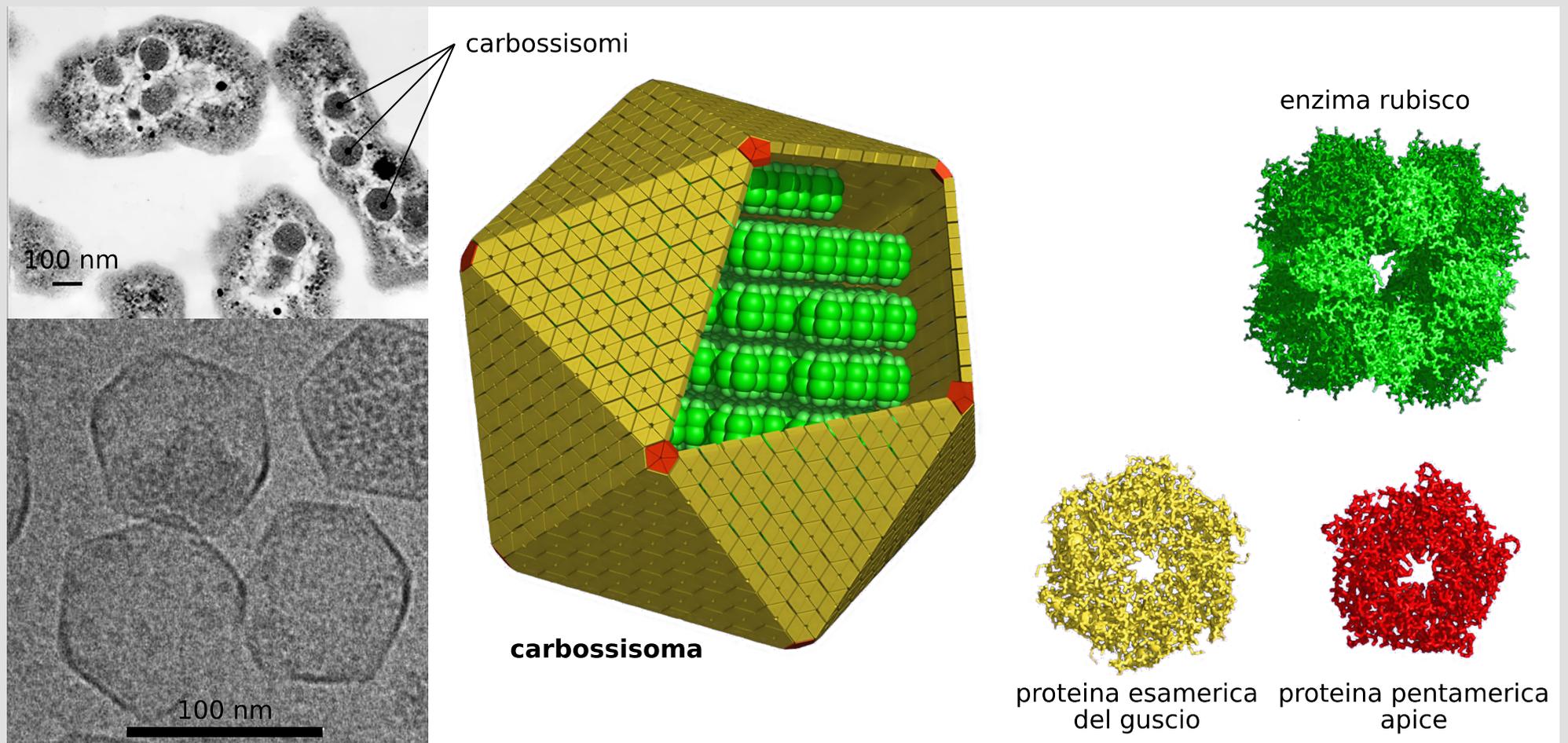


Figura 47.20. Struttura e contenuto di un tipico batterio Gram positive

Liberamente tratto da un'immagine di public domain di Ruiz Villarreal, M. (2008) da: upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5a/Average_prokaryote_cell_en.svg

I carbossisomi

*Figura 47.21. Carbocapsomi: organuli citoplasmatici batterici con involucro proteico. In alto a sn. microfotografia la microscopia elettronica di carbocapsomi in *Halothiobacillus neapolitanus*; in basso a dx. un'immagine al microscopio elettronico di carbocapsomi purificati. A dx. modello di struttura di carbocapsoma. Immagine Creative Commons Attribution 3.0 Unported di Yeats, T.O., liberamente tratto da Tanaka (2008)*

47.7.2. STRUTTURE EXTRA-CELLULARI

☞ Per strutture extra-cellulari si intendono tutte quelle che sono all'esterno della membrana plasmatica

- parete
- flagelli e fimbrie
- capsula
- endo-spore

La parete batterica

☞ Nella maggior parte dei batteri è presente una parete batterica all'esterno della membrana citoplasmatica

Il componente più caratteristico della parete batterica è il **peptidoglicano** formato da catene polisaccaridiche *cross-linked* da peptidi contenenti D-amminoacidi (gli amminoacidi delle proteine sono L-amminoacidi)

Le pareti dei batteri sono diverse da quelle di funghi (con chitina), piante (con cellulosa), e *Archea* (senza peptidoglicano)

La parete cellulare è essenziale per la sopravvivenza di molti batteri: bloccandone la sintesi si uccidono i batteri

Ci sono due grandi tipi di parete batterica che qualificano i batteri come

- Gram-positivi
- Gram-negativi

in quanto la diversa composizione fa assumere ai batteri una diversa colorazione con il metodo di Gram

I batteri Gram positivi possiedono una spessa parete con molti strati di peptidoglicano ed acido teicoico

I batteri Gram negativi hanno una parete relativamente sottile con pochi strati di peptidoglicano circondati da un secondo strato lipidico contenente lipo-polisaccaridi e lipo-proteine

☞ Una parete particolare è quella dei micobatteri, particolarmente impermeabile e rigida che conferisce a questi batteri molte delle loro proprietà

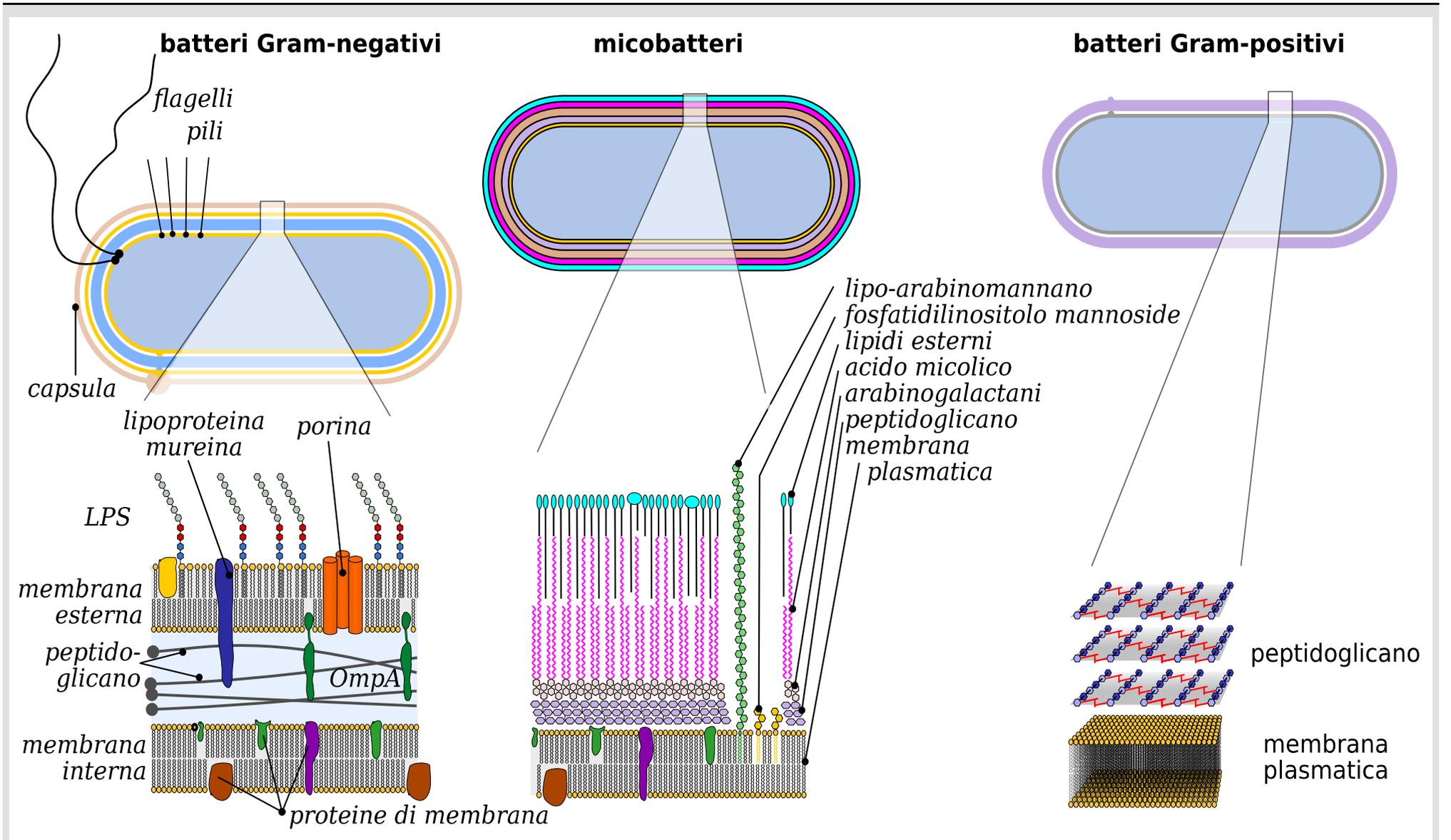


Figura 47.22. La parete dei batteri. Liberamente tratto da immagini Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di anonimo da en.wikipedia.org/wiki/File:Gram-positive_cellwall-schematic.png; Dahl, J. (2008) da en.wikipedia.org/wiki/File:Gram_negative_cell_wall.svg; Tambe, Y. (2006) da en.wikipedia.org/wiki/File:Mycobacterial_cell_wall_diagram.png

Flagelli, fimbrie, pili

☞ I **flagelli** sono strutture proteiche rigide di circa 20 nm di diametro e lunghi fino a 200 nm

Sono importanti per la motilità dei batteri ed essendo di natura proteica sono antigenici e quindi bersaglio del sistema immunitario

☞ Le **fimbrie** sono sottili filamenti proteici (2-10 nm di diametro)

Sono distribuite sulla superficie della cellula

Sono implicate nella fase di attacco ai substrati solidi o ad altre cellule

Sono considerate nei batteri patogeni dei fattori di virulenza in quanto favoriscono l'attaccamento dei batteri ed il conseguente instaurarsi di un *focus* infettivo

☞ I **pili** sono appendici cellulari che sono in grado di trasferire materiale genetico tra cellule in un processo chiamato coniugazione

Anche i pili sono immunogenici e potenziali bersaglio del sistema immunitario di un eventuale ospite



Figura 47.23. Micrografia al microscopio elettronico di *Helicobacter pylori*, mostrante multipli flagelli sulla superficie cellulare (colorazione negativa)

Immagine di public domain di Tsutsumi, Y. (Department of Pathology Fujita) da upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d6/EMpylori.jpg

Capsule

☞ Le capsule sono costituite da uno strato di materiale che viene prodotto dai batteri per circondare all'esterno la cellula

Le capsule hanno diverso grado di complessità e struttura

Possono proteggere un batterio dalla fagocitosi, impedendo l'attacco del batterio al fagocita

Costituiscono un potenziale antigene

Sono coinvolte nella generazione dei biofilm connettendo cellule tra loro

hanno un ruolo nella localizzazione ed attacco dei batteri ai substrati

Endo-spore

☞ Alcuni generi di batteri Gram-positivi (tra cui bacilli e clostridi di grande significato medico: es.: antrace, tetano, botulino) possono organizzarsi in forme dormienti di grande resistenza chiamate endo-spore

Le endo-spore non sono attive metabolicamente e sono protette da un guscio esterno rigido che conferisce la resistenza

Possono sopravvivere ad intensa radiazione UV, detergenti, disinfettanti, caldo e freddo e possono rimanere vitali per milioni di anni, essendo particolarmente resistenti anche alle radiazioni ionizzanti

In condizioni ottimali le spore passano ad una fase vegetativa ed il metabolismo cellulare riprende così come la riproduzione

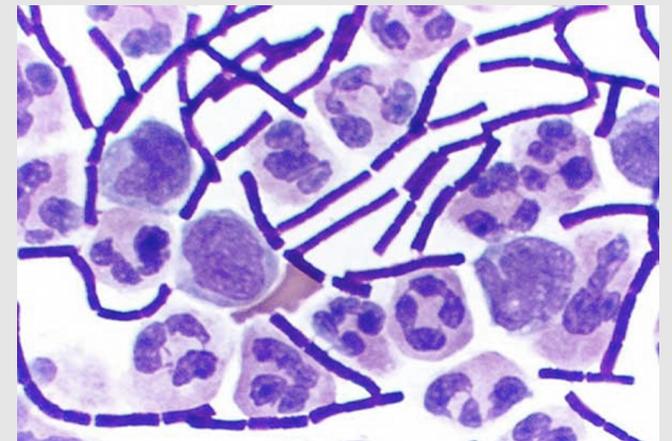


Figura 47.24. *Bacillus anthracis* (colorato in porpora) in liquido cerebro-spinale

Immagine di public domain da upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/79/Gram_Stain_Anthrax.jpg

47.8. *Metabolismo dei batteri*

 I batteri presentano una amplissima varietà di tipi metabolici diversi

I batteri vengono classificati sulla base metabolica secondo tre criteri principali:

- il tipo di energia usato per la crescita
- la sorgente di carbonio utilizzata (carbonio organico o inorganico)
- i donatori di elettroni impiegati

Un criterio utile di classificazione si basa sulla respirazione: aerobica o anaerobica

 Da un punto di vista medico è molto importante identificare i processi metabolici propri dei batteri che non esistono negli eucarioti perché questi possono essere bersaglio di farmaci anti batteri patogeni relativamente sicuri per l'uomo

47.9. Crescita e riproduzione dei batteri

👉 I batteri crescono sino ad una dimensione fissa e poi si dividono in due per **divisione binaria** una forma di riproduzione a sessuata

In condizioni ottimali i batteri possono crescere e dividersi molto velocemente: una popolazione batterica può raddoppiare in 9.8 min

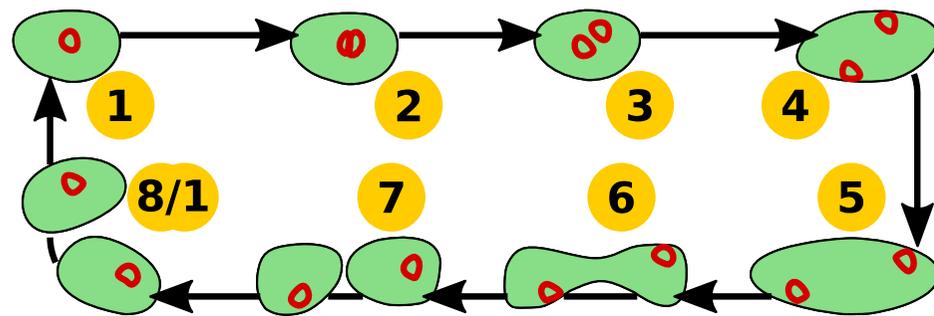


Figura 47.25. Scissione binaria di un batterio.

Liberamente tratto da una serie di immagini con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Milenko, Z. (2004) da en.wikipedia.org/wiki/File:Binary_fission_anim.gif

👉 La maggior parte dei batteri possono essere coltivati in laboratorio in mezzi solidi o liquidi

47.9.1. GENETICA BATTERICA

☞ La maggior parte dei batteri ha un singolo cromosoma circolare
Fanno eccezione le spirochete del genere *Borrelia* (malattia di Lyme) che hanno un singolo cromosoma lineare
I geni non contengono di regola introni (tratti di DNA non codificante)
I batteri inoltre contengono plasmidi, piccoli DNA extra-cromosomici che possono contenere geni per la resistenza agli antibiotici o per fattori di virulenza

☞ Alcuni batteri sono in grado di scambiarsi materiale genetico in tre modi:

- assunzione di DNA esogeno dall'esterno: **trasformazione**
- trasferimento di geni attraverso un batteriofago: **trasduzione**
- trasferimento di DNA attraverso contatto diretto tra due cellule: **coniugazione**

Il trasferimento di geni è particolarmente importante perché porta alla diffusione dei geni per la resistenza agli antibiotici con importanti ricadute negative sulla lotta alle infezioni batteriche

47.9.2. BATTERIOFAGI

☞ I batteriofagi sono virus che infettano i batteri

I batteriofagi possono contenere geni che contribuiscono al fenotipo dell'ospite

- i geni per le tossine di *Escherichia coli* O157:H7 e *Clostridium botulinum*, che sono potenzialmente letali per l'uomo
-

47.9.3. COMPORTAMENTO DEI BATTERI

Secrezione

-  I batteri possono secernere sostanze chimiche nell'ambiente per modificarlo in senso favorevole alla loro crescita
Le secrezioni sono spesso enzimi proteici che digeriscono l'ambiente esterno per ricavarne nutrienti o condizioni favorevoli
-

Multi-cellularità

-  I batteri spesso funzionano come aggregati multicellulari conosciuti come biofilm scambiandosi una varietà di molecole segnale per la comunicazione inter-cellulare, dando inizio a comportamenti coordinati multi-cellulari
i benefici di queste comunità sono divisione dei compiti cellulari, accesso a risorse che non possono essere facilmente disponibili per una cellula singola, difesa collettiva contro antagonisti, ottimizzazione delle possibilità di sopravvivenza differenziandosi in cellule con caratteristiche diverse
es.: i batteri in biofilm possono avere una capacità di resistenza ad agenti antibatterici sino a 500 volte quella della singola cellula
-

Movimento

-  Molti batteri sono capaci di movimento attivo usando una serie di meccanismi diversi:
flagelli e cambio di galleggiabilità (movimenti in verticale) in ambienti liquidi
capacità di scorrimento su superfici solide
-

47.10. Classificazione e identificazione

 La classificazione cerca di descrivere la diversità delle specie batteriche raggruppando in base a caratteristiche comuni

Esistono quindi diverse classificazioni in funzione dello scopo per cui si utilizzano

Le più comuni classificazioni sono sulla base di

- struttura cellulare
- metabolismo cellulare
- differenze nei componenti molecolari
- patogenicità
- genoma

La classificazione ufficiale dei batteri è controllata da un organismo internazionale *The International Committee on Systematic Bacteriology* (ICSB)

Identificazione dei batteri in laboratorio è particolarmente importante in medicina, dove la corretta terapia si base sull'accertamento dell'agente infettivo e delle specifiche proprietà (es.: sensibilità agli antibiotici)

47.10.1. LA CLASSIFICAZIONE BASATA SULLA COLORAZIONE DI GRAM



Figura 47.26. *Streptococcus mutans* visualizzato con la colorazione di Gram

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Tambe, Y. (2006) da en.wikipedia.org/wiki/File:Streptococcus_mutans_Gram.jpg

☞ La colorazione di Gram categorizza i batteri in base alla struttura della loro parete

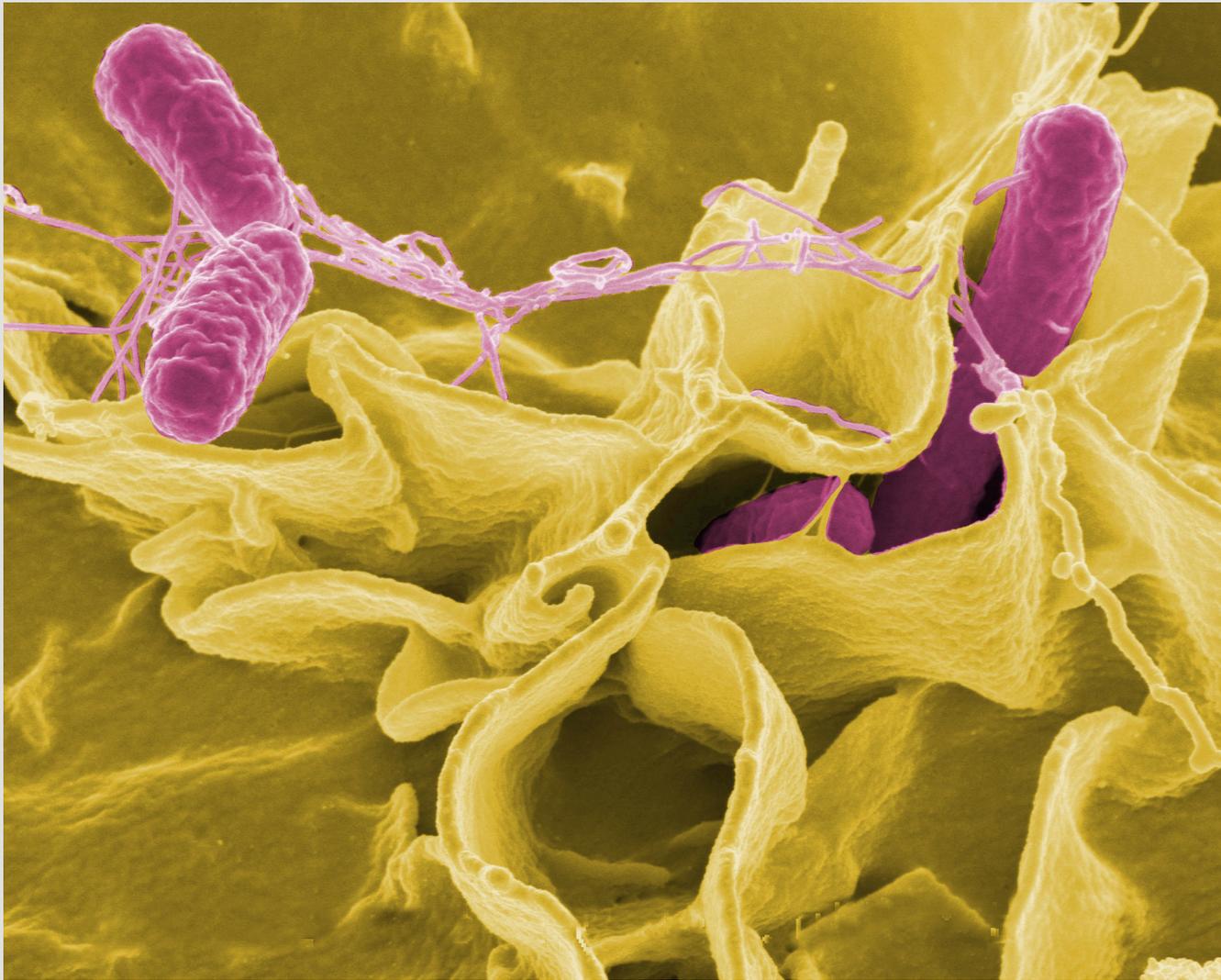
- lo spesso strato di peptidoglicano della parete dei Gram-positivi si colora in blu
- lo strato sottile di peptidoglicano della parete dei Gram-negativi si colora debolmente in rosa

Combinando morfologia e colorazione di Gram si possono classificare i batteri in 4 principali gruppi:

- cocci Gram-positivi
- bacilli Gram-positivi
- cocci Gram-negativi
- bacilli Gram-negativi

☞ Alcuni batteri vengono meglio definiti con colorazioni differenti (es.: acido-resistenza nella colorazione di Ziehl-Neelsen per i micobatteri)

☞ Altri batteri vengono identificati solo tramite coltura in mezzi speciali, ricerca sierologica (antigeni o anticorpi), ricerca di specifiche sequenze geniche (amplificazione genica con PCR (*polymerase chain reaction*, reazione polimerasica a catena))

47.10.2. INTERAZIONI CON ALTRI ORGANISMI

☞ Nonostante la loro apparente semplicità i batteri possono formare complesse associazioni con altri organismi

Queste associazioni simbiotiche possono essere divise in:

- parassitismo: vantaggio per il parassita, danno per il parassitato
- commensalismo: suddivisione dell'habitat con vantaggi reciproci
- mutualismo: vantaggi reciproci

Figura 47.27. Micrografia la microscopio elettronico a scansione con colorazione artificiale che mostra Salmonella typhimurium (rosa) invadere cellule umane in coltura

Immagine public domain fornita da Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH da en.wikipedia.org/wiki/File:SalmonellaNIAID.jpg

Batteri patogeni**meningite batterica**

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Neisseria meningitidis*
- *Haemophilus influenzae*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Listeria monocytogenes*

otite media

- *Streptococcus pneumoniae*

polmoniti

- *Streptococcus pneumoniae*
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Staphylococcus aureus*
- atipiche:
- *Mycoplasma pneumoniae*
 - *Chlamydia pneumoniae*
 - *Legionella pneumophila*
- tubercolosi
- *Mycobacterium tuberculosis*

infezioni della pelle

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Pseudomonas aeruginosa*

infezioni delle vie urinarie

- *Escherichia coli*
- altre *Enterobacteriaceae*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Pseudomonas aeruginosa*

infezioni dell'occhio

- *Staphylococcus aureus*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*

sinusite

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*

infezioni delle vie aeree superiori

- *Streptococcus pyogenes*
- *Haemophilus influenzae*

gastrite

- *Helicobacter pylori*

infezioni da cibo contaminato

- *Campylobacter jejuni*
- *Salmonella*
- *Shigella*
- *Clostridium*
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*

infezioni veneree

- *Chlamydia trachomatis*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Treponema pallidum*
- *Ureaplasma urealyticum*
- *Haemophilus ducreyi*

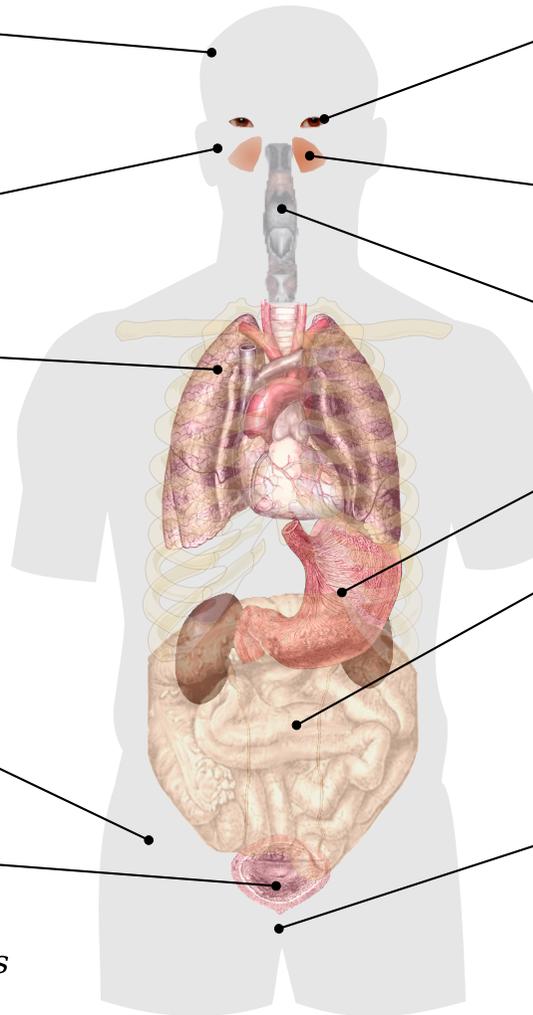


Figura 47.28. Infezioni batteriche principali e specie coinvolte. Liberamente tratto da un'immagine di public domain di Häggström, M. (2009) da [en.wikipedia.org_Bacterial_infections_and_involved_species](http://en.wikipedia.org/Bacterial_infections_and_involved_species)

Interventi contro le infezioni batteriche

 Le infezioni batteriche possono essere curate con gli antibiotici:

- battericidi se uccidono i batteri
- batteriostatici se ne impediscono la moltiplicazione

 Le infezioni batteriche vanno soprattutto prevenute con:

- misure di igiene pubblica
- misure di igiene personale
- vaccinazioni

 Tra le misure di igiene personale vale soprattutto ricordare il lavaggio delle mani

L'incorretta od omessa procedura di lavaggio delle mani è ancora oggi nei paesi sanitariamente avanzati causa di significativa morbilità, tanto che l'OMS (organizzazione mondiale della sanità) ha messo il lavaggio corretto delle mani come priorità

47.11. I batteri nel mondo industriale e tecnologico



- Batteri (es.: *Lactobacillus* e *Lactococcus*), in combinazione con muffe e lieviti sono stati usati da migliaia di anni nella fermentazione e trasformazione degli alimenti (es.: vino, aceto, yogurt)
- La capacità dei batteri di degradare una grande quantità di composti organici, ha portato al loro uso per la eliminazione di rifiuti e di contaminanti vari (inclusi i derivati del petrolio)
- Nell'industria chimica i batteri sono utilizzati per la produzione di composti enantiomericamente puri, difficilmente ottenibili con semplici metodi sintetici
- Batteri sono anche usati come pesticidi. In particolare il *Bacillus thuringiensis* è usato come insetticida specifico per i lepidotteri, risparmiando così gli insetti impollinatori e l'ambiente in generale
- Per la loro crescita esponenziale e per la capacità da noi acquisita di manipolarli geneticamente, i batteri vengono impiegati per la produzione di proteine ricombinanti da usarsi come farmaci; es.: insulina ed altri ormoni, fattori di crescita, fattori della coagulazione, anticorpi geneticamente modificati

47.12. Generalia virologica

Definizione di virus

Un virus è un piccolo agente infettivo in grado di replicarsi solo all'interno di cellule viventi

I virus possono infettare tutti i tipi di organismi: animali, piante, batteri, Archea

- 👉 Il primo virus fu scoperto nelle piante (il virus del mosaico del tabacco) da Dimitri Ivanovsky (1892) e Martinus Beijerinck (1898)
Sono stati descritti in dettaglio più di 5,000 diversi virus, mentre si stima che i diversi tipi assommino a milioni
Virus si trovano in ogni ecosistema e forse sono l'entità biologica più ampiamente diffusa

- 👉 I virus sono importanti mezzi naturali per il trasferimento di geni tra specie differenti, aumentando così la variabilità genetica e stimolando l'evoluzione

Figura 47.29. Martinus Beijerinck nel suo laboratorio 1921. Immagine di public domain da en.wikipedia.org/wiki/File:Mwb_in_lab.jpg



47.13. Origini dei virus

☞ Esistono tre ipotesi principali sull'evoluzione dei virus, che ci aiutano a comprenderne la funzione e l'esistenza:

- ipotesi della regressione
- ipotesi dell'origine cellulare
- ipotesi della co-evoluzione

Ipotesi della regressione

☞ I virus derivano da piccole cellule molto semplici difettive in alcuni processi metabolici che parassitavano cellule più grandi e complesse

Alcuni batteri (es.: rickettsie, clamidie, micoplasmi) sono esempi di queste cellule

Durante l'evoluzione queste cellule avrebbero perduto tutte le strutture molecolari che non fossero necessarie per la loro riproduzione incluse le membrane diventando quindi virus

Ipotesi dell'origine cellulare

☞ I virus si sono evoluti a partire da frammenti di DNA o RNA distaccatisi dai geni di organismi superiori sarebbero quindi un'evoluzione di:

- **plasmidi** (molecole di DNA nudo (senza proteine) in grado di muoversi tra le cellule)
- **trasposoni** (molecole di DNA che si replicano e si spostano in differenti posizioni tra i geni del DNA cromosomico)

Ipotesi della co-evoluzione

☞ I virus si sono evoluti da miscele complesse di acidi nucleici e proteine contemporaneamente all'evoluzione delle cellule

Viroidi e virus difettivi satelliti

☞ I viroidi sono molecole di RNA che non sono classificati come virus perché mancano di un involucro proteico. Avendo tuttavia molte proprietà dei virus vengono spesso chiamati agenti sub-virali. I viroidi non codificano per proteine ma interagiscono con le cellule per la loro replicazione.

☞ Il virus umano dell'epatite δ ha un genoma simile a quello dei viroidi: ha sì un involucro proteico, ma è quello codificato dal virus dell'epatite B (HBV) e non ne codifica uno suo. Il virus dell'epatite delta viene quindi chiamato un virus difettivo (o virus satellite) perché necessita della co-infezione con un altro specifico virus (detto virus *helper*, in questo caso HBV) per la sua replicazione completa.

Valutazione complessiva

- ☞ Tuttavia una rivalutazione complessiva del problema deve essere fatta alla luce
- della scoperta che i virus appaiono nell'ecosistema prima della separazione dei tre principali domini degli organismi viventi
 - del fatto che l'ipotesi regressiva non spiega perché nemmeno il più piccolo parassita cellulare ha somiglianze molecolari con virus
 - del fatto che la teoria dell'origine cellulare non spiega l'esistenza di complesse strutture virali non presenti nelle cellule (es.: capsidi)
 - del fatto che l'ipotesi della co-evoluzione è incompatibile con l'asserzione che i virus necessitano delle cellule per la loro riproduzione (quindi devono comparire prime le cellule e poi i virus)
-

47.14. Struttura dei virus



I virus mostrano una ampia diversità di strutture e di forme

In generale sono assai più piccoli dei batteri: generalmente tra 20 e 300 nm

Una particella virale completa è detta **virione**



Un virione è composto da

- un **acido nucleico**
 - un **capside**: involucro proteico che circonda l'acido nucleico: le unità proteiche ripetute che formano il capsid si chiamano capsomeri
 - un **envelope** lipidico (solo alcuni virus) derivato dalla membrana plasmatica della cellula ospite all'esterno del capsid che può contenere proteine di codificazione sia virale che cellulare
 - **proteine codificate dal virus** che possono essere necessarie per il ciclo replicativo virale
-

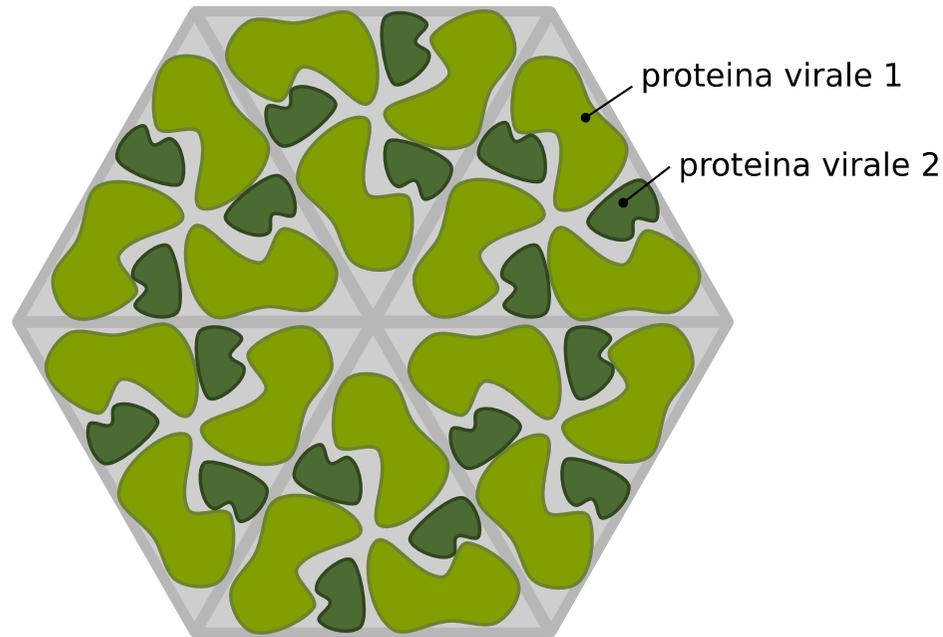


Figura 47.30. Schema che mostra come un capsid virale possa essere costruito con multiple copie di solo due proteine

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di anonimo (2009) da en.wikipedia.org/wiki/File:Hexon.svg

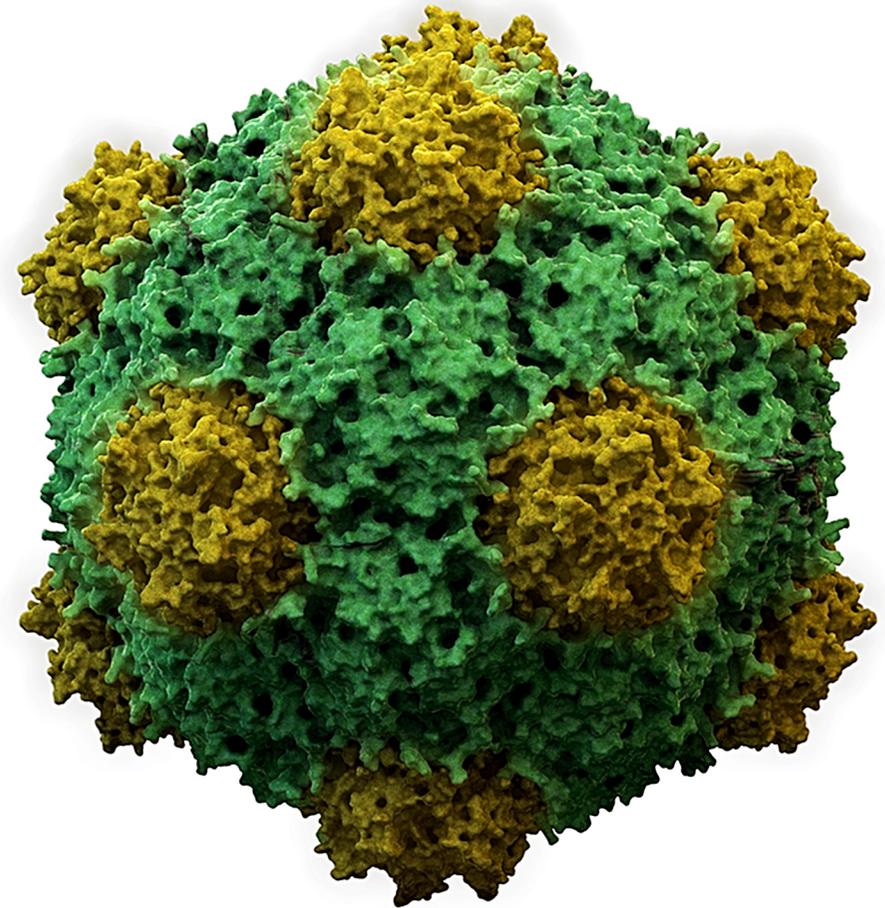


Figura 47.31. Struttura icosaedrica del virus del mosaico del fagiolo (cowpea mosaic virus)

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Splettstoesser, T. (2009) da en.wikipedia.org/wiki/File:CowpeaMosaicVirus3D.png

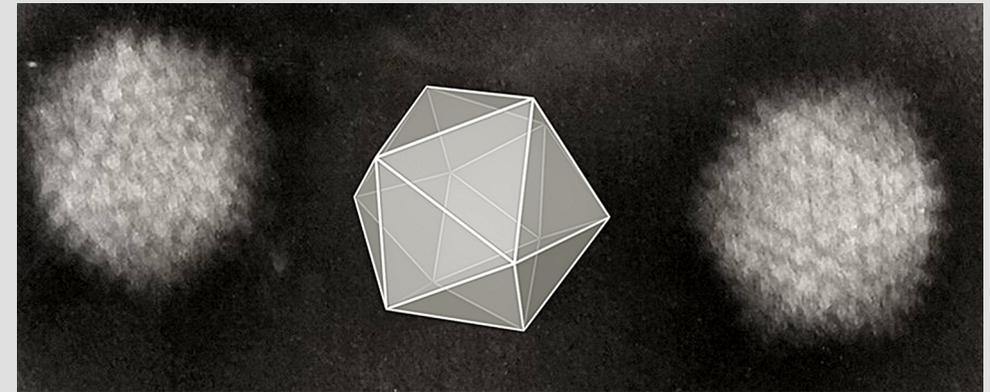
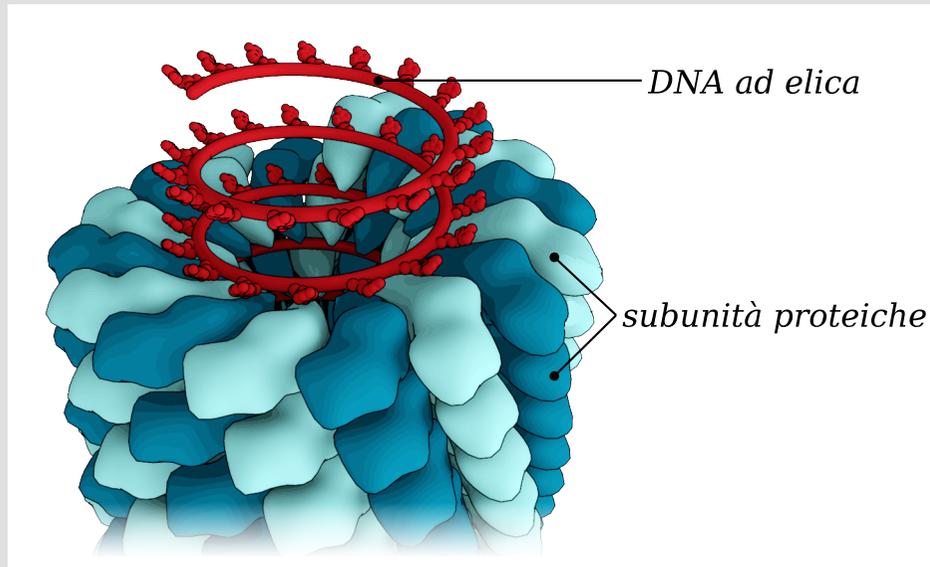


Figura 47.32. In alto a sn. Struttura del virus del mosaico del tabacco: RNA avvolto in un'elica di sub-unità proteiche ripetute
Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Splettstoesser, T. (2012) da en.wikipedia.org/wiki/File:TMV_structure_simple.png

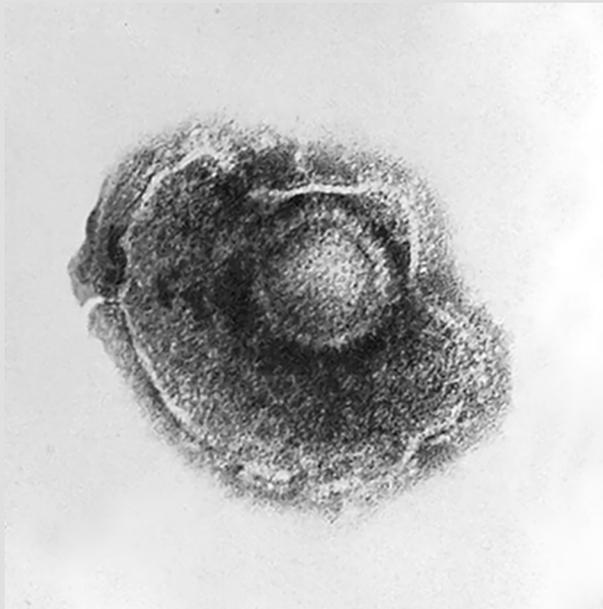


Figura 47.33. In alto a dx. Micrografia al microscopio elettronico di un adenovirus a struttura icosaedrica

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Colm, G. (2008) da en.wikipedia.org/wiki/File:Icosahedral_Adenoviruses.jpg

Figura 47.34. In basso a sn. I virus erpetici (Herpes) hanno un involucro lipidico

Micrografia al microscopio elettronico di un virione di varicella, malattia causata dal virus erpetico varicella/zoster

Immagine di public domain preparata da Palmer, E., Partin, B.G. (Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library), 2005 da [en.wikipedia.org/wiki/File:Varicella_\(Chickenpox\)_Virus_PHIL_1878_lores.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Varicella_(Chickenpox)_Virus_PHIL_1878_lores.jpg)

☞ I virus presentano diverse forme, alcune altamente simmetriche

Tra queste:

- **eliciformi** (un singolo tipo di capsomero intorno ad un asse centrale a formare un'elica)
 - **icosaedriche** (un icosaedro regolare (solido con 20 lati) rappresenta la forma ottimale per formare un solido con un singolo componente ripetuto)
 - **prolate** (un mezzo icosaedro per estremità con un cilindro in mezzo)
 - forme non costanti dipendenti dalla presenza di un **envelope** (il capsido è circondato da un pezzo di membrana di provenienza cellulare, modificato con enzimi ed altre proteine virus-codificate)
 - **complesse** (presentano strutture accessorie; es.: batteriofagi (vedi fig. 47.39) o poliovirus responsabili della poliomielite)
-

47.14.1. GENOMI VIRALI

Diversità genomica tra i virus

 Vi è una enorme varietà di strutture genomiche tra i virus: a fronte di circa 5,000 descritti in dettaglio se ne contano in natura milioni

Tabella 47.1. Genomi virali

| proprietà | parametri |
|-------------------------|---|
| acido nucleico | <ul style="list-style-type: none">● DNA● RNA● Sia DNA che RNA (in stadi diversi del ciclo virale) |
| forma | <ul style="list-style-type: none">● lineare● circolare● segmentato |
| filamenti | <ul style="list-style-type: none">● singolo filamento● doppio filamento● regioni di doppia elica in filamento singolo |
| senso di lettura | <ul style="list-style-type: none">● senso positivo (+)● senso negativo (-)● entrambi i sensi (+/-) |

Codice di lettura degli acidi nucleici virali

- ☞ Per la maggior parte dei virus con genoma ad RNA e per alcuni virus a ssDNA (a singolo filamento) i filamenti vengono definiti positivi (*sense*, +) o negativi (*antisense*, -)
- i filamenti *sense* (+) vengono letti allo stesso modo dell'mRNA virale e possono quindi essere direttamente tradotti in proteine
 - i filamenti di RNA *antisense* (-) devono essere convertiti in *sense* (+) da una RNA polimerasi RNA-dipendente prima della traduzione a proteine
 - lo stesso vale per i virus a ssDNA
 - fanno eccezione alcuni virus sia a ssRNA che ssDNA che sono *ambisense* (la trascrizione può avvenire in entrambe le direzioni di lettura)
-

47.14.2. VARIAZIONI GENETICHE NEI VIRUS

- ☞ I virus vanno incontro a variabilità genetica attraverso diversi meccanismi
- **genetic drift**: singole basi nell'acido nucleico vengono sostituite con altre basi. molte di queste mutazioni sono silenziose dal punto di vista del comportamento del virus, ma spesso offrono un vantaggio evolutivo conferendo resistenza a farmaci anti-virali
 - **quasi-species**: i virus ad RNA spesso sono presenti in sciami di individui con sequenze genomiche leggermente diverse tra loro: costituiscono una base eccellente per la selezione naturale del tipo più adatto in ogni dato ambiente
 - **reassortment**: si ha nel caso di genomi segmentati nel qual caso diversi virus possono scambiarsi i segmenti e dare origine a nuove combinazioni
 - **ricombinazione genetica**: è un processo in base al quale un filamento di DNA viene rotto e quindi ricongiunto all'estremità di una differente molecola di DNA. Accade quando virus diversi infettano contemporaneamente la stessa cellula
-

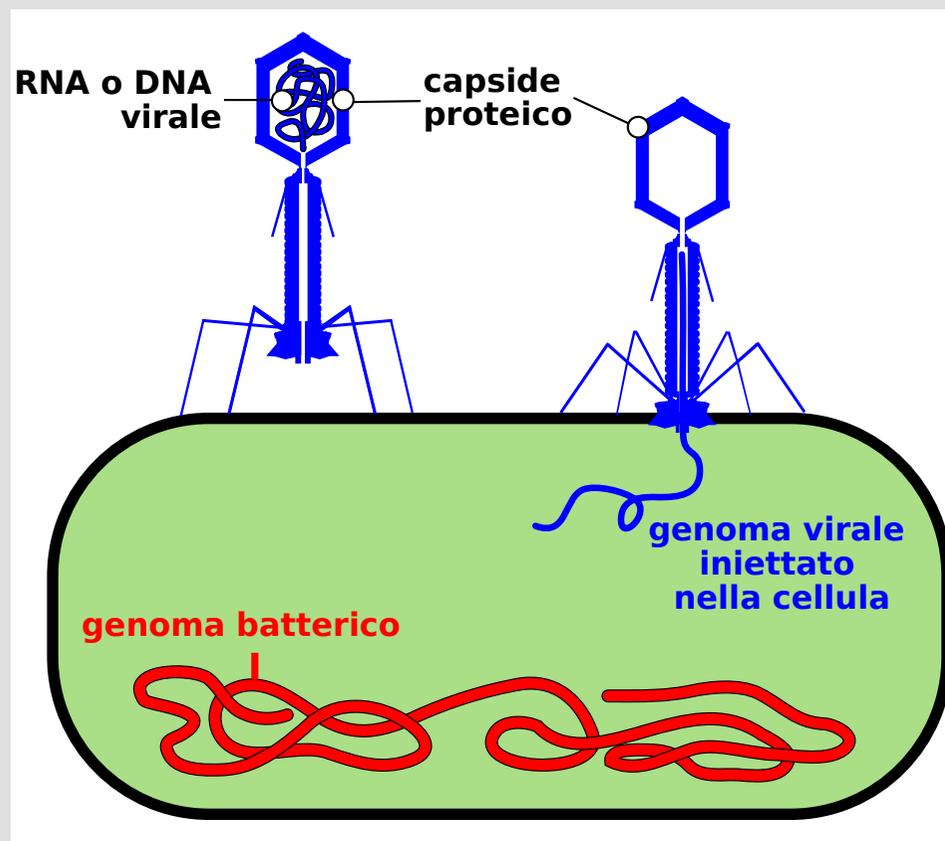
Batteriofagi

Figura 47.35. Batteriofagi (virus dei batteri) che iniettano il proprio acido nucleico nella cellula batterica (non in scala)

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Thomas Spletstoeser, T. (2012) da en.wikipedia.org/wiki/File:Phage_injecting_its_genome_into_bacteria.svg

47.14.3. CICLO VIRALE

-
- 👉 **Contatto** è uno specifico legame tra le proteine del capsido virale e recettori sulla superficie della cellula
La specificità del contatto determina lo spettro di specie ospiti del virus
- es.: l'HIV infetta solo un limitato numero di linfociti umani perché la sua proteina gp120 si lega alla molecola CD4, presente su alcuni sottogruppi di cellule
-
- 👉 **Penetrazione o (ingresso)**: segue il contatto: i virioni (in particolare il genoma virale) entrano nella cellula ospite per fusione con la membrana o per endocitosi mediata da recettore
-
- 👉 **Uncoating**: è il processo mediante il quale viene eliminato il capsido virale liberando l'acido nucleico virale
-
- 👉 **Replicazione**: richiede innanzi tutto la moltiplicazione del genoma virale e poi la sintesi delle proteine virali
- parte della sintesi proteica virus-codificata avviene immediatamente (*early proteins*, proteine precoci, che regolano la produzione degli acidi nucleici virali)
 - parte della sintesi proteica virus-codificata tardiva (*late expression*) produce proteine del capsido virale
-
- 👉 **Assemblaggio**: Le strutture virali sono in grado di auto-assemblaggio, raggiungendo la forma matura, anche alcune modificazioni possono avvenire dopo l'assemblaggio
-
- 👉 **Rilascio**: I virus per ripetere il ciclo infettivo devono essere rilasciati dalla cellula attraverso
- la lisi della cellula, con morte cellulare
 - la gemmazione dalla membrana della cellula ospite
-
- 👉 In qualche caso il genoma virale in forma di DNA a doppia catena viene incorporato nel DNA genomico della cellula ospite e si replica insieme ad esso: **pro-virus**
- Il provirus è generalmente silente sino che non passi ad una fase proliferativa autonoma con un ciclo litico
-

47.14.4. REPLICAZIONE VIRALE IN FUNZIONE DEL TIPO DI ACIDO NUCLEICO DEL GENOMA VIRALE

Virus a DNA

☞ La replicazione del genoma della maggior parte dei virus a DNA avviene nel nucleo cellulare utilizzando le strutture replicative della cellula ospite

Virus a RNA

☞ La replicazione del genoma dei virus a RNA avviene di solito nel citoplasma con sistemi che possono essere sia cellulari (es.: traduzione diretta di ssRNA(-)) che virali (es.: trascrittasi inversa o RNA-replicasi)

Retrovirus (virus che utilizzano la trascrittasi inversa)

☞ Questi virus hanno un ssRNA o dsDNA

Per la replicazione usano una trascrittasi inversa per formare DNA su uno stampo di RNA

nel caso di virus a RNA è l'RNA virale stesso a dirigere la trascrittasi inversa

nel caso di virus a DNA si forma nel ciclo replicativo un intermedio a RNA che viene poi trascritto nel DNA virale maturo

☞ ● I **retrovirus** usano la trascrittasi inversa per produrre DNA che viene poi integrato nel genoma virale, il ciclo si conclude con una RNA sintesi DNA diretta (es.: **HIV**)

● I **para-retrovirus** non integrano obbligatoriamente il genoma virale nel DNA cellulare (es.: il **virus dell'epatite B**)

- ☞ Le popolazioni virali non crescono attraverso la divisione cellulare, perché sono acellulari
- I virus usano le strutture ed il metabolismo di una cellula ospite per produrre ed assemblare multiple copie di se stessi

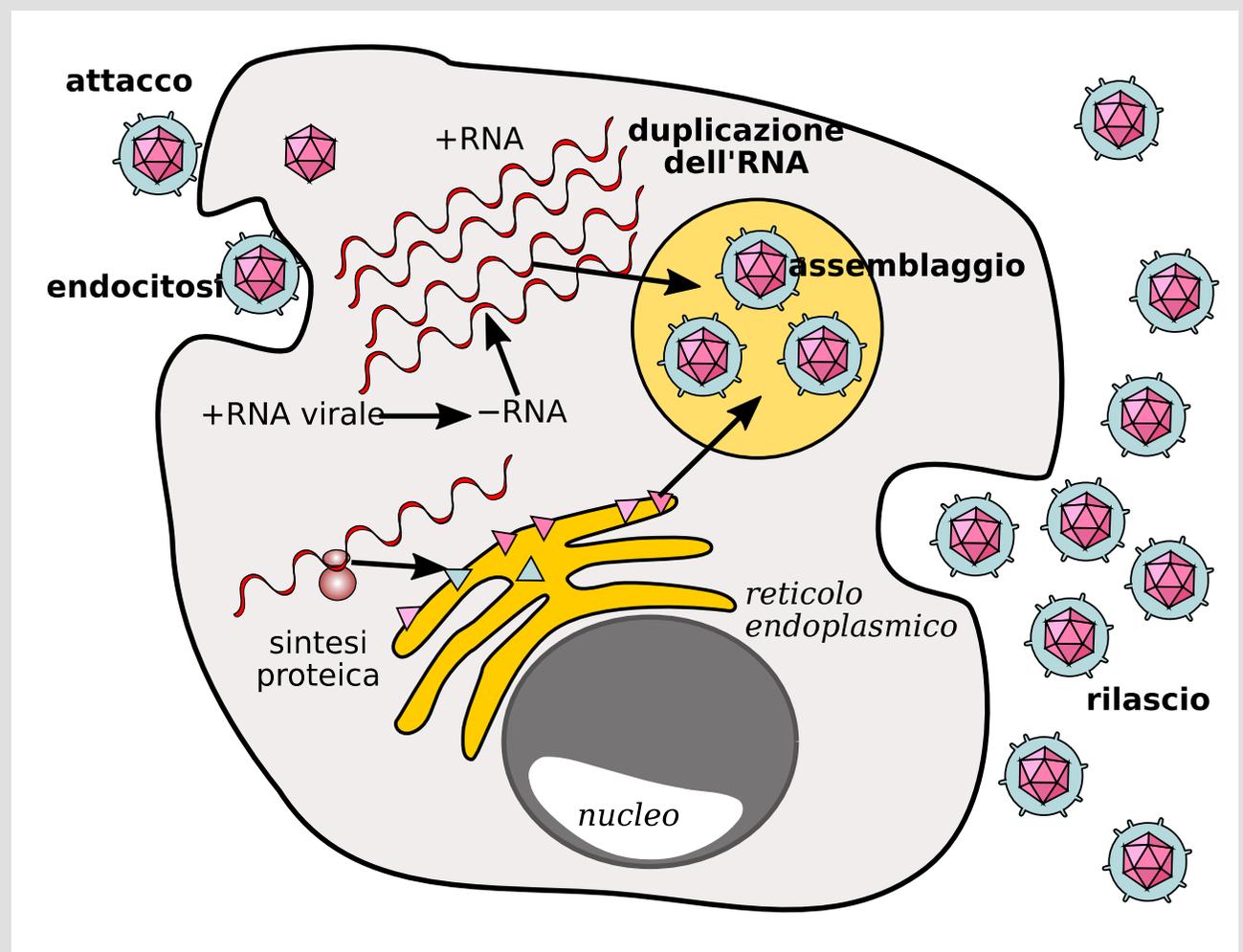


Figura 47.36. Tipico ciclo replicativo virale: *virus dell'epatite C*

Liberamente tratto da un'immagine di public domain di Colm, G. (2007) da en.wikipedia.org/wiki/File:HepC_replication.png

47.14.5. EFFETTI SULLA CELLULA OSPITE

-  Una cellula infetta generalmente va incontro a morte per:
- azione del sistema immunitario dell'ospite
 - azione citotossica diretta del virus (es.: rottura cellulare al momento della dispersione dei nuovi virus prodotti)
 - apoptosi (la cellula infetta, danneggiata ma ancora vitale, mette in atto un “suicidio attivo” che conduce alla morte cellulare prima che i virioni neo-sintetizzati si siano assemblati e possano andare ad infettare nuove cellule)

Sono peraltro molteplici gli effetti di una infezione virale sul metabolismo della cellula e sulla sua stessa struttura (es.: formazione di cellule sinciziali indotte da proteine di fusione virus-codificate)

-
-  Alcuni virus possono dare origine ad infezioni latenti: il virus è presente e funzionale nella cellula ma non procede ad una replicazione massiva
-
-  Alcuni virus integrandosi nel genoma della cellula possono alterare il meccanismo di controllo replicativo dando origine a neoplasie
-

47.14.6. SPETTRO DI SPECIE INFETTABILI DAI VIRUS

 I virus infettano tutti i tipi cellulari:

- animali
- piante
- miceti
- batteri

Ogni singolo virus, tuttavia, infetta un numero molto limitato di specie, a volte solo una singola specie:

- i virus delle piante non infettano l'uomo
 - i virus dei batteri non infettano l'uomo
 - la maggior parte dei virus animali non infettano l'uomo (salvo alcune eccezioni es.: il virus della rabbia)
-

47.15. Classificazione dei virus

- 👉 A causa della brevità di molti genomi virali e della loro instabilità è difficile applicare una tassonomia linneiana efficace (es.: ordine, genere, specie)
Esiste un International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) che sta classificando tutte le sequenze conosciute in: Ordine, Famiglia, Sottofamiglia, Genere, Specie, trascurando sottospecie, ceppi ed singoli isolati
- 👉 Una classificazione più semplice e con dei riflessi immediati sulla medicina in quanto indirizza verso il tipo di terapia possibile è quella del premio Nobel Baltimore
La classificazione di Baltimore si basa sul metodo di sintesi dell'mRNA virale

47.15.1. CLASSIFICAZIONE DI BALTIMORE

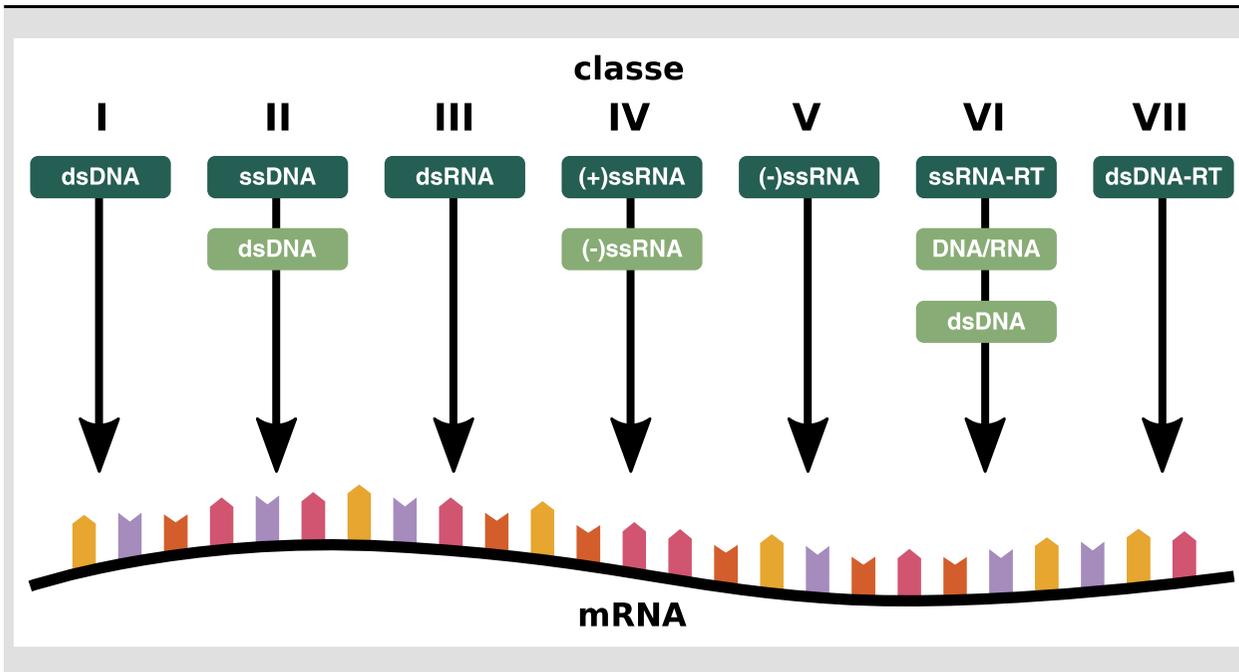


Figura 47.37. La classificazione di Baltimore
Liberamente tratto da un'immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Splettstoesser, T. (2012) da en.wikipedia.org/wiki/File:VirusBaltimoreClassification.svg

- I virus devono generare mRNA dai loro genomi per produrre le proprie proteine
- I genomi virali possono essere a singolo filamento (ss), a doppio filamento (ds); a RNA a DNA; possono usare la trascrittasi inversa (RT); la codifica può essere da 5' a 3' (sense +) o da 3' a 5' (antisense -)
- La classificazione divide i virus in 7 gruppi
- Nella pratica a questa classificazione si associa almeno parte di quella tassonomica

47.16. Ruolo dei virus nella patologia umana

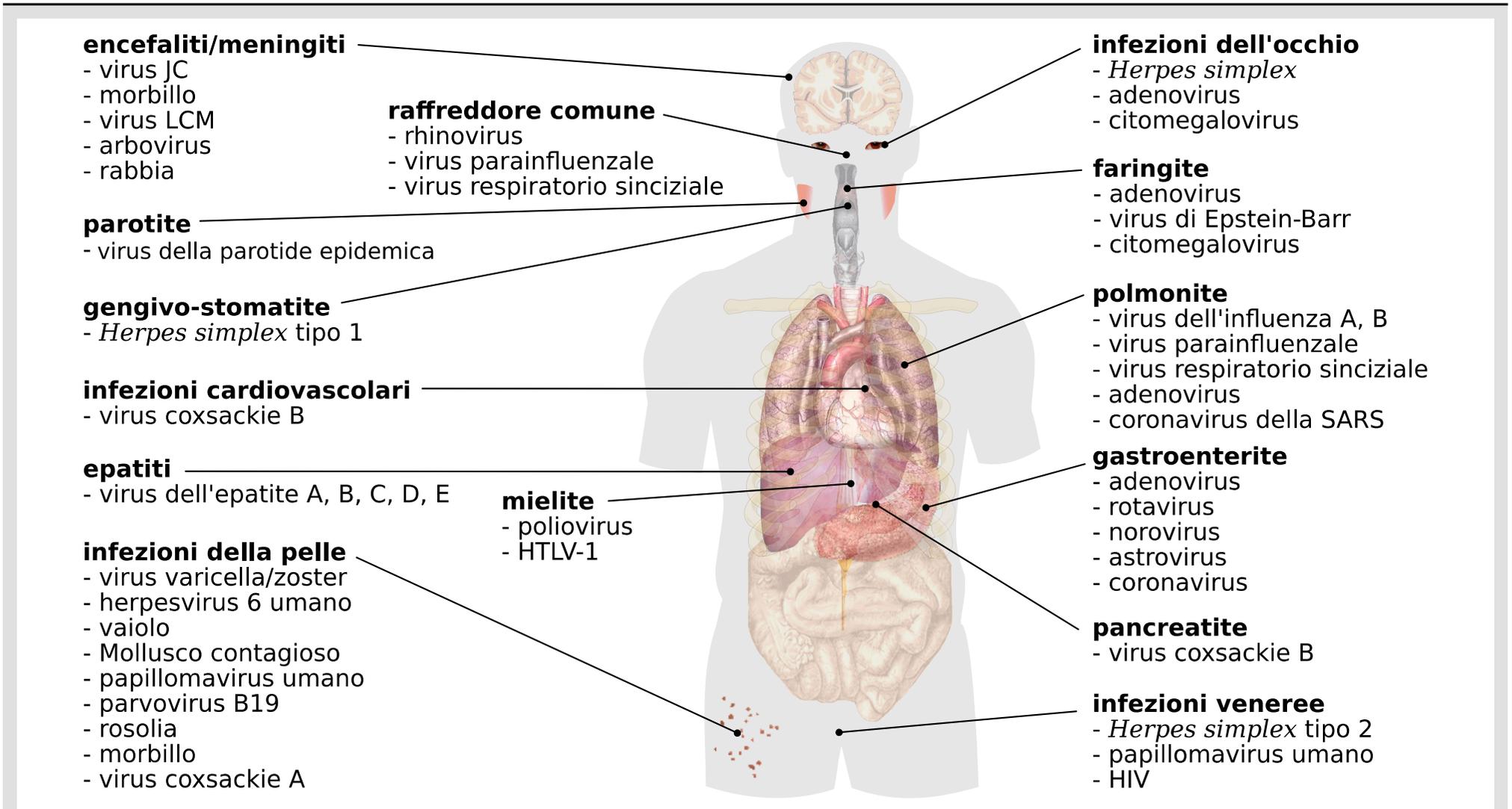


Figura 47.38. Riassunto dei principali tipi di infezioni virali e delle specie di virus responsabili. Liberamente tratto da una immagine public domain di Häggström, M. (2009) da commons.wikimedia.org/wiki/File:Viral_infections_and_involved_species.svg

47.16.1. EPIDEMIOLOGIA VIRALE

 L'epidemiologia virale è la branca della scienza medica che si occupa della trasmissione e del controllo delle malattie virali nell'uomo

La trasmissione dei virus può essere

- verticale: da madre a figlio
- orizzontale: da persona a persona

L'insorgenza e quindi la velocità di diffusione di una epidemia dipendono principalmente da:

- densità della popolazione
- numero di soggetti suscettibili
- qualità dell'assistenza sanitaria
- condizioni atmosferiche

 La maggior parte delle infezioni virali ha un periodo di incubazione durante il quale l'infezione non dà segni o sintomi

Il periodo di incubazione varia da giorni a settimane

Segue, ma spesso si sovrappone in parte, il periodo di **contagiosità**: il virus può essere trasmesso ad altri individui

Quanto più i due periodi si sovrappongono tanto più è difficile fermare la trasmissione del virus

 Quando l'infezione si propaga ad una intera comunità ma si limita ad una regione geografica ben precisa si parla di **epidemia**

Quando l'infezione si propaga a tutto il mondo si parla di **pandemia**

47.16.2. EPIDEMIE E PANDEMIE

👉 Le popolazioni native americane furono devastate da malattie contagiose portate dagli europei verso cui non si erano selezionate, in particolare il vaiolo. Si calcola che circa il 70% della popolazione morì a seguito di queste epidemie importate, favorendo il genocidio perpetrato ai loro danni dai coloni

La pandemia di influenza del 1918 che durò sino a tutto il 1919, potrebbe aver ucciso secondo le più recenti stime più di 100 milioni di persone, circa il 5% dell'intera popolazione mondiale

Sino ad oggi si calcola che la pandemia di AIDS (ancora in atto) abbia ucciso più di 35 milioni di persone



Figura 47.40. Virus di Marburg

Immagine public domain di Palmer, E., Regnery, R. (Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library) da en.wikipedia.org/wiki/File:Marburg_virus.jpg

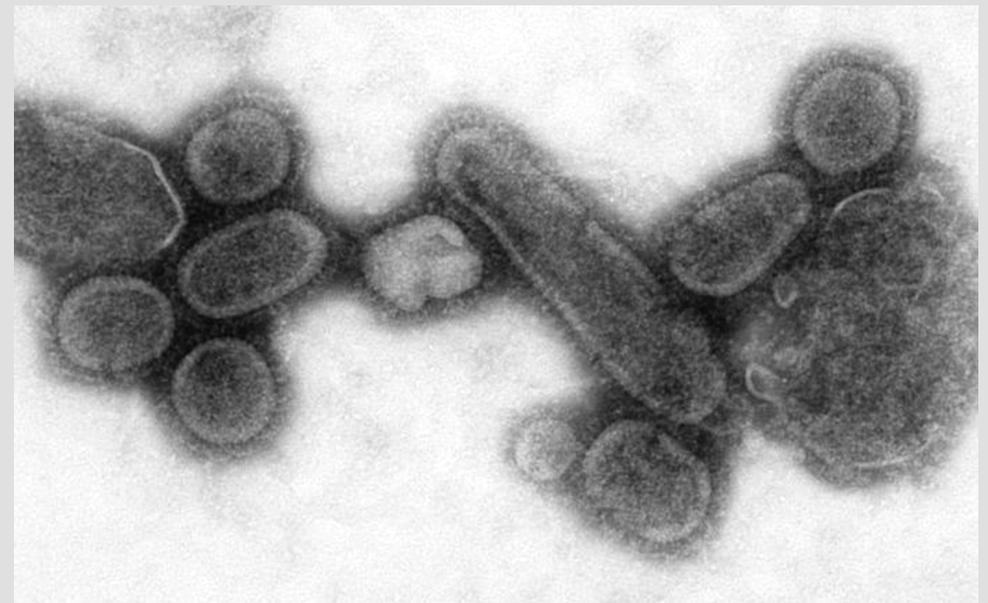


Figura 47.39. immagine al microscopio elettronico a trasmissione di virus dell'influenza 1918 ("spagnola") ricostituito

Immagine public domain di Goldsmith, C. (Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library) da en.wikipedia.org/wiki/File:Marburg_virus.jpg

47.16.3. VIRUS E NEOPLASIE

☞ Virus sono la causa certa di alcune neoplasie sia animali che umane: sono detti **virus oncogeni** o onco-virus

Es.:

- virus del papilloma umano (cancro dell'esocervice uterina, verruca)
- virus dell'epatite B (epato-carcinoma)
- virus dell'epatite C (epato-carcinoma)
- virus di Epstein-Barr (carcinoma nasofaringeo)
- virus linfotropi (leucemie e linfomi)



Figura 47.41. Verruca a piccolo ingrandimento. Colorazione con ematossilina eosina

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di anonimo (2011) da en.wikipedia.org/wiki/File:Verruca_vulgaris_-_very_low_mag.jpg

47.16.4. MECCANISMI DI DIFESA DELL'OSPITE

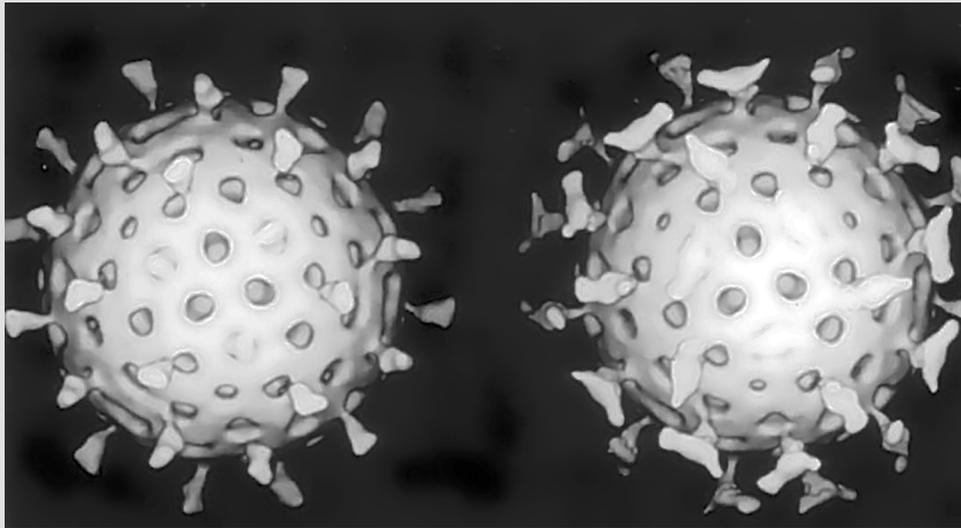


Figura 47.42. Due rotavirus: quello a dx. è ricoperto con anticorpi che ne impediscono l'attacco alla cellula e quindi l'infezione

Immagine con licenza Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported di Colm, G. (2008) da en.wikipedia.org/wiki/File:Rotavirus_with_antibody.jpg

☞ I meccanismi di difesa dell'ospite sono sia immunitari che specifici per i virus
In particolare:

- nelle fasi extra-cellulari (es.: nel lume intestinale o nelle vie aeree) funzionano gli anticorpi bloccanti (si legano al virus e ne impediscono l'attacco)
- nelle fasi intra-cellulari agiscono la risposta immunitaria cellulo-mediata (che porta alla distruzione della cellula ospite infetta prima che questa possa liberare nuova progenie infettante) gli interferoni che prodotti da una cellula infettata vanno a proteggere le cellule vicine dall'infezione, rallentando o facendo abortire l'infezione; meccanismi di interferenza con fasi di replicazione del genoma proprie di alcuni virus (distruzione attraverso un complesso proteico detto *dicer* di molecole di RNA a doppia catena)

47.16.5. PREVENZIONE E TRATTAMENTO

☞ Poiché i virus usano processi metabolici interni alla cellula per replicarsi sono molto difficili ad eliminarsi senza usare farmaci che non siano significativamente tossici per la cellula ospite

Perciò il sistema più efficace di lottare contro le malattie virali è quello della prevenzione attraverso i vaccini e solo secondariamente attraverso l'uso di farmaci antivirali

Vaccini

☞ La vaccinazione è una strategia efficace per prevenire infezioni da virus

Il vaiolo umano è stato eradicato con la vaccinazione massiva di tutta la popolazione umana

L'efficacia si basa su:

la specie specificità per l'uomo di molti virus patogeni (non ci sono serbatoi di infezioni in altre specie)

il fatto che, se si riduce la sensibilità all'infezione della popolazione, la probabilità di contagio può diminuire a tal punto da portare all'estinzione il virus o da impedire che una infezione occasionale dia origine ad una epidemia

- *Da qui l'**obbligatorietà** di molte vaccinazioni anti-virali: la vaccinazione infatti è pienamente efficace solo se l'intera popolazione è vaccinata*
 - *Rifiutando un vaccino obbligatorio non solo si mette a repentaglio la salute del soggetto, ma anche la salute della popolazione, commettendo quindi un reato molto grave*
-

Farmaci antivirali

 I farmaci antivirali sono spesso analoghi dei nucleotidi che vengono incorporati per errore nei genomi virali in replicazione

Il ciclo vitale del virus viene quindi bloccato perché il DNA virale è non funzionale

Es.:

- aciclovir per le infezioni da *Herpes simplex*
- lamivudine per le infezioni da HIV (*human immunodeficiency virus*, virus dell'immunodeficienza umano) e da virus dell'epatite B

 Altri farmaci sfruttano particolari step nel ciclo virale

Es.:

- il virus dell'AIDS (*acquired immuno-deficiency syndrome*, sindrome da immunodeficienza acquisita: patologia dovuta al HIV) necessita di specifica attività proteasica: sono stati quindi sviluppati farmaci efficaci anti-protesici
-

47.17. Applicazioni

47.17.1. BIOLOGIA E MEDICINA

-
-  ● I virus sono importanti nello studio della biologia molecolare e cellulare
 - I genetisti usano i virus come vettori per introdurre geni nelle cellule e studiarne le attività allo scopo di indurre una cellula a produrre sostanze (proteine o prodotti dell'attività enzimatica di queste ultime)
-
-  In terapia i virus quindi possono essere vettori di geni per:
- la terapia genica di sostituzione o introduzione di geni difettosi o mancanti
 - la terapia genica per la eliminazione di cloni cellulari non desiderati (cellule tumorali o immunitarie con attività autoimmune)
 - i fagi (virus dei batteri) sono in studio per un loro utilizzo in sostituzione degli antibiotici nei casi di antibiotico-resistenza
 - i virus possono essere un valido strumento per indurre la produzione da parte di cellule in vitro di proteine utili per la diagnosi o la terapia: anticorpi, farmaci
-

47.17.2. VIRUS SINTETICI

 La completa composizione fisico-chimica di parecchi virus è ormai conosciuta sia a livello di sequenze di amminoacidi e nucleotidi sia a livello strutturale tridimensionale

Queste conoscenze permettono di sintetizzare virus sintetici allo scopo di produrre

- vaccini
 - vettori per trasferimento di geni in cellule specifiche (terapia genica)
 - studio e misure di prevenzione per possibili pandemie con specie virali non ancora (o non più) diffuse (vaiolo, influenza “spagnola”)
 - guerra biologica/misure difensive contro la guerra biologica (comunque vengano “vendute” alla pubblica opinione)
-

47.17.3. SCIENZA DEI MATERIALI (NANOTECNOLOGIE)

 Dal punto di vista della scienza dei materiali i virus possono essere visti come nanoparticelle organiche

La dimensione e la forma nonché la natura e l'attività dei gruppi funzionali esposti alla loro superficie sono in svariati casi noti con precisione

I virus possono quindi essere utilizzati come base materiale altamente adattabile per nanostrutture, difficilmente ottenibili per sintesi chimico-fisica

47.18. Principali fonti utilizzate

Blum, A.S., Soto, C.M., Wilson, C.D. et al.. (2005) *An Engineered Virus as a Scaffold for Three-Dimensional Self-Assembly on the Nanoscale*. *Small* 7, 702-

Collier, L.; Balows, A.; Sussman, M. (1998) In: *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infection*. IX ed, Vol. 1, Virology. editors: Mahy, B. Collier, L. (eds.). Arnold. ISBN 0-340-66316-2

Dimmock, N.J; Easton, Andrew J; Leppard, Keith (2007) *Introduction to Modern Virology*. VI ed., Blackwell Publishing, ISBN 1-4051-3645-6.

Gunter, M. (2008). *Passing the North Carolina 8th grade end of grade test of science*. American Book Company, Inc. ISBN 978-1-59807-186-3

Iwanowski, D. (1892). *Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze*. *Bulletin Scientifique publié par l'Académie Impériale des Sciences de Saint-Petersbourg / Nouvelle Serie III (St. Petersburg)* 35, 67-70

Knipe, David M; Howley, Peter M; Griffin, Diane E; Lamb, Robert A; Martin, Malcolm A; Roizman, Bernard; Straus Stephen E. (2007) *Fields Virology*, Lippincott Williams & Wilkins. ISBN 0-7817-6060-7

Mahy, W.J., Van Regenmortel, M.H.V. (2009). *Desk Encyclopedia of General Virology*. Academic Press, Oxford

Patience, C., Takeuchi, Y., Weiss, R.A. (1997) *Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs*. *Nature Med.* 3, 282-286

Shors, Teri (2008). *Understanding Viruses*. Jones and Bartlett Publishers. ISBN 0-7637-2932-9

Tanaka S, Kerfeld CA, Sawaya MR et al. (2008). "Atomic-level models of the bacterial carboxysome shell". *Science* 319 (5866): 1083-1086

Siti web

| | | |
|--|------------------------|--------------------------------|
| cdc.gov/parasites/babesiosis/biology.html | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| commons.wikimedia.org/wiki/File:CollapsedtreeLabels-simplified.svg | visitato il 18/09/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| commons.wikimedia.org/wiki/File:Penicillium.jpg | visitato il 04/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| commons.wikimedia.org/wiki/File:Viral_infections_and_involved_species.svg | visitato il 06/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Bacterial_infections_and_involved_species.png | visitato il 05/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:CowpeaMosaicVirus3D.png | visitato il 12/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Gram_negative_cell_wall.svg | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Gram-positive_cellwall-schematic.png | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:HepC_replication.png | visitato il 06/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Hexon.svg | visitato il 12/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:HYPHAE.png | visitato il 08/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Icosahedral_Adenoviruses.jpg | visitato il 18/09/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Marburg_virus.jpg | visitato il 05/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Morelasci.jpg | visitato il 04/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Mycobacterial_cell_wall_diagram.png | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Phage_injecting_its_genome_into_bacteria.svg | visitato il 06/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Pulmonary_aspergillosis.jpg | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Rotavirus_with_antibody.jpg | visitato il 03/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:S_cerevisiae_under_DIC_microscopy.jpg | visitato il 05/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:S_cerevisiae_under_DIC_microscopy.jpg | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:SalmonellaNIAID.jpg | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:TMV_structure_simple.png | visitato il 18/09/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:Streptococcus_mutans_Gram.jpg | | |

dalla pagina precedente

| | | |
|--|------------------------|--------------------------------|
| en.wikipedia.org/wiki/File:Varicella_(Chickenpox)_Virus_PHIL_1878_lores.jpg | visitato il 06/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| en.wikipedia.org/wiki/File:VirusBaltimoreClassification.svg | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| gutenberg.org/etext/18929 | visitato il 09/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| home.comcast.net/~pholowko/OnLineShows/Soil/MicroBio/Beauveria_bassiana_16552.jpg | visitato il 05/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| pdbe.org/emsearch/comp_type:virus AND status1:RELEASED | visitato il 18/09/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| phil.cdc.gov/PHIL/Images/10231998/00019/05G0001_lores.jpg | visitato il 14/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| resnaturalis.blogspot.it/2011/04/kinetoplastida.html | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/79/Gram_Stain_Anthrax.jpg | visitato il 09/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |
| viralzone.expasy.org/ | visitato il 10/12/2012 | accessibile sino al 15/01/2014 |

