



SPORA BATTERICA



Prof.ssa Vivian Tussio



SPORA BATTERICA



Alcune specie batteriche producono speciali strutture all'interno delle loro cellule chiamate ENDOSPORE durante il processo di sporulazione

SPORE = cellule peculiari per attributi morfologici e funzionali;



sopravvivenza in uno stato di quiescenza

dotate di notevole resistenza ad agenti chimici e fisici

vantaggio ecologico per il batterio, per l'uomo problematiche gravi



SPORA BATTERICA

Scopo = sopravvivenza in ambiente con scarsa umidità e nutrienti → condizioni SFAVOREVOLI

I batteri che formano endospora si trovano nel suolo

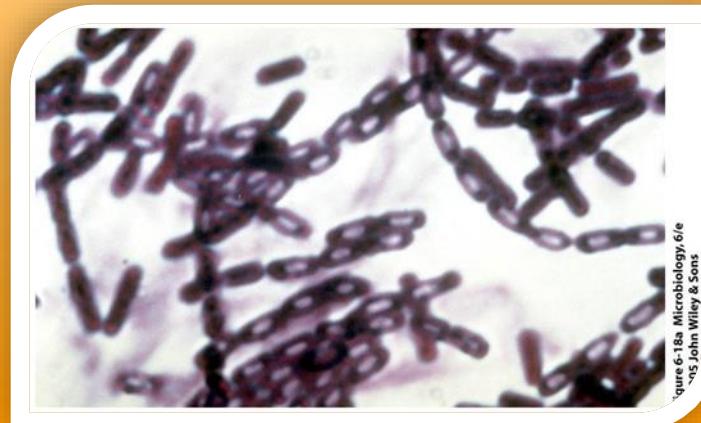
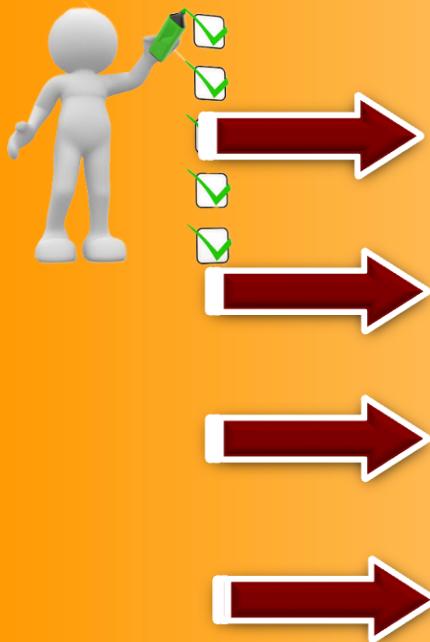
bacilli (carbonchio)

clostridi (tetano, botulismo, gangrena gassosa)

Solo batteri GRAM +, mai GRAM -

SPORA BATTERICA

BATTERI SPORIGENI



SPORA BATTERICA

Alterazioni della cellula causate dalla spora



BATTRIDIO = nessuna deformazione strutturale (es. *Bacillus anthracis* -carbonchio)

CLOSTRIDIO = rigonfiamento equatoriale (es. *Clostridium botulinum*)

PLECTRIDIO = bacchetta di tamburo (es. *Clostridium tetani*)

BATTRIDIO



CLOSTRIDIO



PLECTRIDIO



SPORA BATTERICA

La sporulazione:



processo di differenziamento cellulare
(reale)

non costituisce uno stadio obbligato

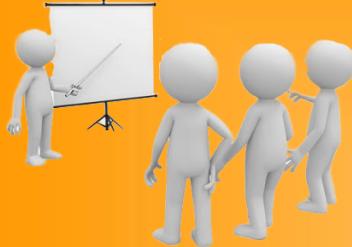
si verifica nella fase post-logaritmica di crescita

si completa in 6-8 ore.

rappresenta il risultato dell'espressione di **informazioni genetiche** che, alternativamente espresse, possono consentire la formazione di due tipi cellulari diversi tra loro:

- **la spora**
- **la forma vegetativa**

SPORA BATTERICA

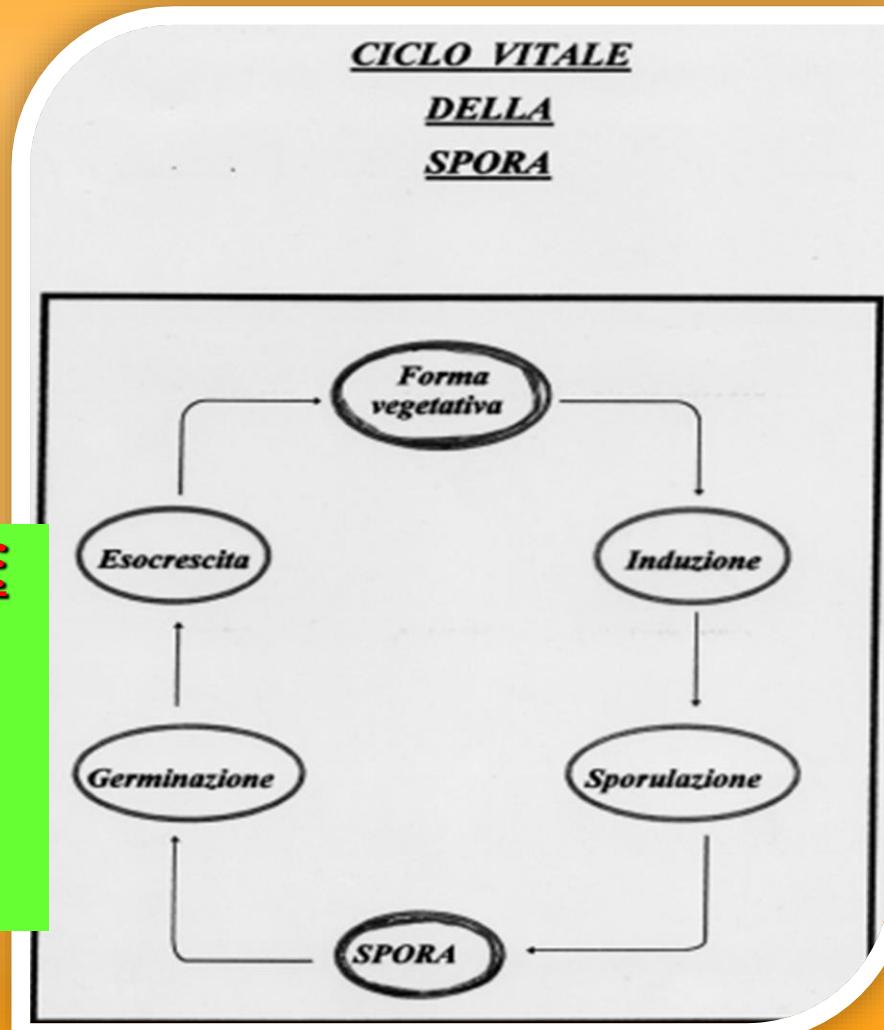


GERMINAZIONE

→ processo inverso, ritorno alla forma vegetativa.

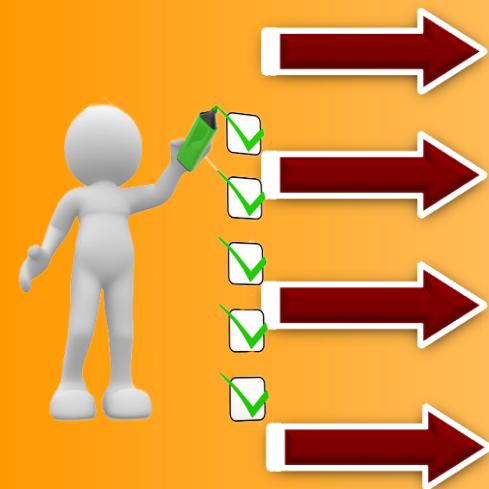
SPORULAZIONE

→ processo di formazione della spora (6-8 ore).



SPORA BATTERICA

STRUTTURA DELLA SPORA

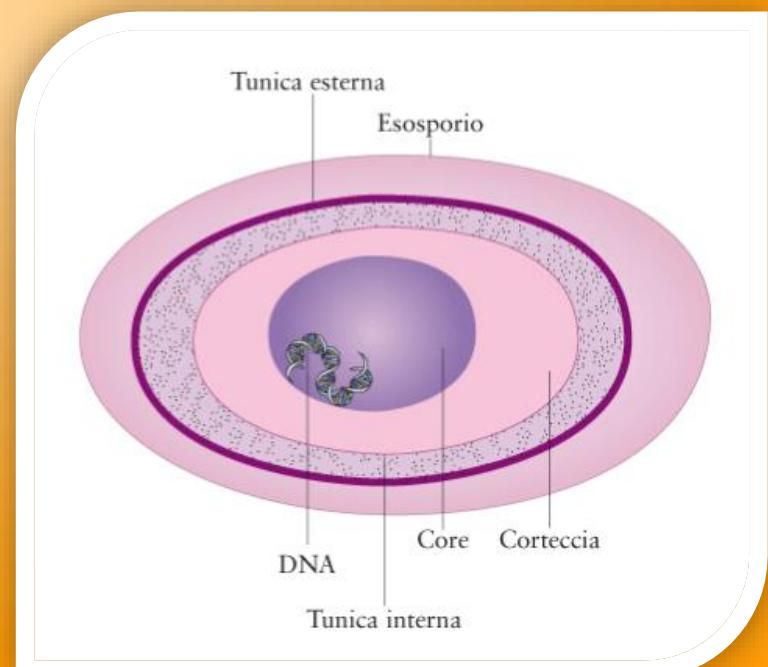


PARTE CENTRALE (core) (protoplasto) →
m.citoplasmatica + cromosoma

CORTEX

TUNICHE che rivestono la spora

ESOSPORIUM



SPORA BATTERICA

Sono presenti:

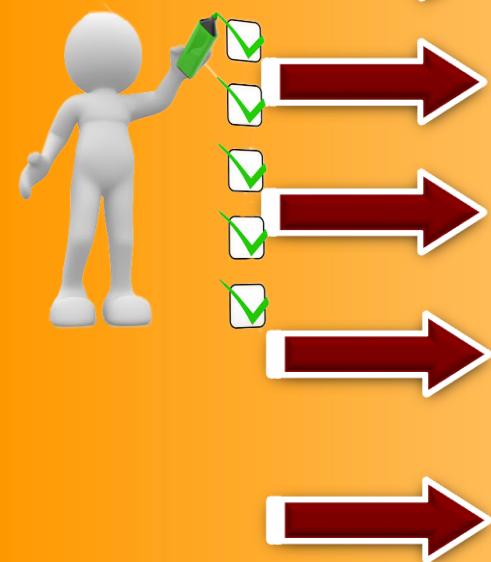
proteine (enzimatiche, strutturali e funzionali, proteine di riserva)

tutti i componenti della sintesi proteica (20% in meno);

pochi enzimi per la sintesi degli aminoacidi e degli ac. nucleici;

sistemi per il trasporto degli elettroni (citocromi in poca quantità)

acido dipicolinico (DPA), poliamine e ioni Calcio;



SPORA BATTERICA



a. CORE

In assenza di acqua libera (disidratazione), il **DPA** e gli ioni **Ca⁺⁺** interagiscono \Rightarrow formazione di un gel denso e viscoso il cui **componente principale** è il **DIPICOLINATO DI CALCIO.** (elevata rifrangenza)



SPORA BATTERICA



b. CORTEX

Peptidoglicano diverso dalla forma vegetativa ⇒
struttura molto compatta, numerosi legami crociati
e acido diaminopimelico (al posto della lisina)
conferisce, all'intera struttura, maggiore
FLESSIBILITÀ E ELASTICITÀ.



SPORA BATTERICA

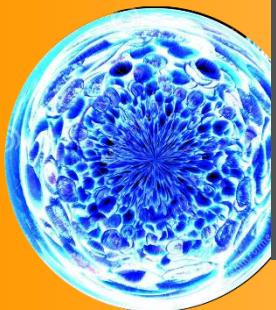


c. TUNICHE

Sono nettamente separate dal **cortex** e sono costituite da **due doppi strati proteici, compatti, densi, rigidi e sovrapposti**.

Rappresentano il 50% della spora

Le proteine che le costituiscono sono ricche di **cisteina e metionina** → responsabili dei legami **S-S** che conferiscono rigidità alla struttura



SPORA BATTERICA



d. ESOSPORIUM

Non sempre presente, esterno alle tuniche

Struttura membranosa, ricca in lipidi, proteine e
polisaccaridi.

Funzione non nota.





SPORA BATTERICA

PROPRIETÀ DELLA SPORA

Le spore mancano di metabolismo endogeno → sono quiescenti

1 Grazie alle **TUNICHE** sono almeno 10 volte più resistenti
dei batteri all'azione dei solventi, detergenti,
disinfettanti, alle radiazioni e ad elevate condizioni di
pressione atmosferica (grazie anche al cortex).



SPORA BATTERICA

PROPRIETÀ DELLA SPORA

Le spore mancano di metabolismo endogeno → sono quiescenti

Sono TERMORESISTENTI → rappresentano un grosso problema sia dal punto di vista medico che industriale: industria alimentare e farmaceutica ⇒ bisogna ricorrere a particolari tecniche di disinfezione e sterilizzazione

2

La termoresistenza è dovuta a:

- **Estrema disidratazione della spora**
- **Presenza di dipicolinato di Ca^{++}**
- **Accumulo di ioni Ca^{++} , Mg^{++} e K^{+} che determinano MINERALIZZAZIONE della spora.**



SPORA BATTERICA

PROPRIETÀ DELLA SPORA

Le spore mancano di metabolismo endogeno → sono quiescenti

3 *Sono un'estrema resistenza alla pressione, alle sollecitazioni meccaniche ed alla permeabilità.
grazie a cortex e due tuniche*

4 *elevato fattore di rifrazione a causa dell'assenza di acqua libera.
Permette di individuare la presenza di spore con una certa facilità*

SPORA BATTERICA

Formazione della spora

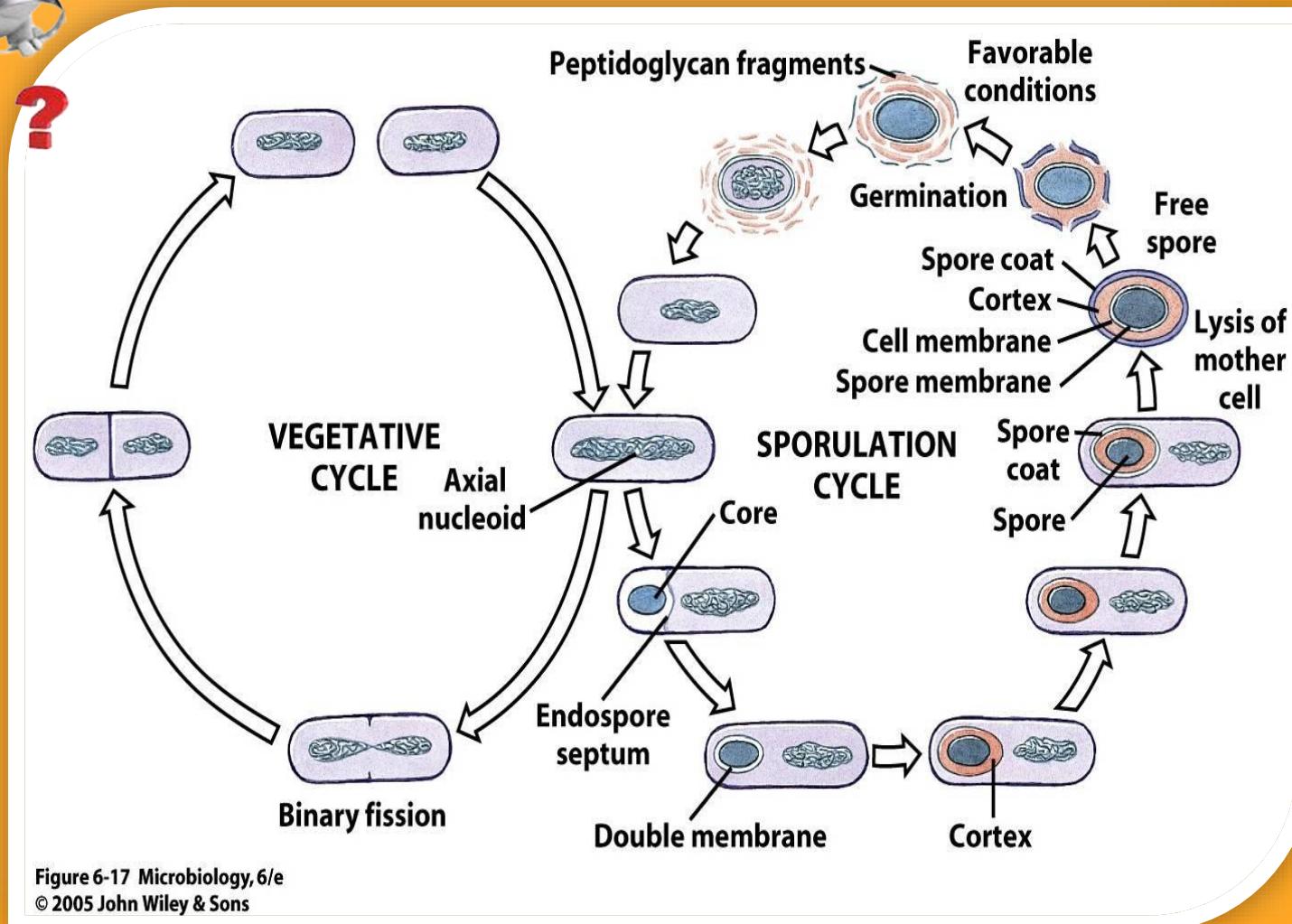


Figure 6-17 Microbiology, 6/e
© 2005 John Wiley & Sons



SPORA BATTERICA

FORMAZIONE DELLA SPORA

1

Il processo inizia come se fosse una divisione batterica. Il DNA si allunga a formare il filamento assiale e si ha una divisione asimmetrica cellulare.

2

Uno dei due cromosomi neoformati viene avvolto da una doppia membrana e si forma la prespora che viene avvolta dal cortex

3

Quando la spora è matura la cellula madre va in lisi e la spora viene liberata nell'ambiente. Se le condizioni ambientali diventano favorevoli la spora può germinare



SPORA BATTERICA

SPORA Matura

Diversa per composizione chimica ed organizzazione cellulare dal batterio che l'ha generata:

- ❖ termoresistente;
- ❖ disidratata;
- ❖ priva di evidente attività metabolica;
- ❖ resistente agli agenti fisici (UV, radiazioni ionizzanti, NIR) e chimici (antibiotici, enzimi).



SPORA GERMINATA = forma vegetativa

- ❖ termolabile;
- ❖ idratata;
- ❖ metabolicamente attiva (in presenza di nutrienti).



SPORA BATTERICA

GERMINAZIONE DELLA SPORA

Si attua attraverso tre fasi fondamentali:

1. ATTIVAZIONE
2. GERMINAZIONE VERA E PROPRIA
3. ESOCRESITA

In queste fasi le spore **assumono forma batterica** e perdono le loro caratteristiche di resistenza e rifrangenza.

Da una spora si forma un solo batterio.

GERMINAZIONE DELLA SPORA

ATTIVAZIONE

rende le spore pronte a germinare quando esposte alle condizioni di induzione

E' una fase reversibile che viene innescata a mezzo di:

- **Attivatori chimici**: agenti fortemente ossidanti, sostanze in grado di abbassare il pH del mezzo ambiente.
- **Agenti fisici**: calore sub-letale (60-100°C per 5-10 min).
- **Invecchiamento** in natura è il più importante fattore di attivazione.



SPORA BATTERICA

GERMINAZIONE DELLA SPORA

ATTIVAZIONE

Proposti diversi meccanismi:

- Cambiamento di permeabilità della spora ⇒ possibile passaggio dei precursori biochimici.
- Inattivazione degli inibitori intracellulari a mezzo del calore (sub-letale e prolungato).
- Cambiamento delle strutture terziarie delle proteine dei tegumenti (rottura dei ponti S-S).

Il calore rende i coats (tuniche) più facilmente permeabili agli induttori, perché modifica la conformazione delle strutture di superficie.

GERMINAZIONE DELLA SPORA

GERMINAZIONE VERA E PROPRIA

perdita di tutte le proprietà fisiologiche della spora quiescente

Processo irreversibile che evolve molto rapidamente (pochi minuti)
Comporta:

- Perdita termoresistenza
- Rilascio di DPA e ioni Ca^{++}
- Aumento della permeabilità ⇒ idratazione e perdita di rifrangenza.



SPORA BATTERICA

GERMINAZIONE DELLA SPORA

GERMINAZIONE VERA E PROPRIA

La germinazione della spora, consiste in una serie di reazioni di **degradazione** che PORTANO alla **depolimerizzazione del cortex** e di altri componenti ad opera di enzimi litici pre-esistenti.

Avviene in **presenza/assenza** di **ossigeno** a seconda della specie batterica (aerobia/anaerobia).



SPORA BATTERICA

GERMINAZIONE DELLA SPORA

ESOCRESCITA

Processo irreversibile.

Tutti gli eventi descritti in precedenza sono una preparazione a questa fase, attraverso la quale **si arriva alla FORMA VEGETATIVA** (vitale) del batterio anche **se la spora germinata non evolve verso la forma vegetativa se non in presenza di nutrienti utilizzabili.**



SPORA BATTERICA

GERMINAZIONE DELLA SPORA

ESOCRESCITA

La cellula, in questa fase, ripristina le normali funzioni metaboliche:
formazione di RNA

la sintesi di nuove proteine (senza duplicazione di DNA).

Sintesi parete

La cellula si sviluppa.

Dopo 2 ore dalla germinazione \Rightarrow prima replicazione del cromosoma.

PLEIOMORFISMO



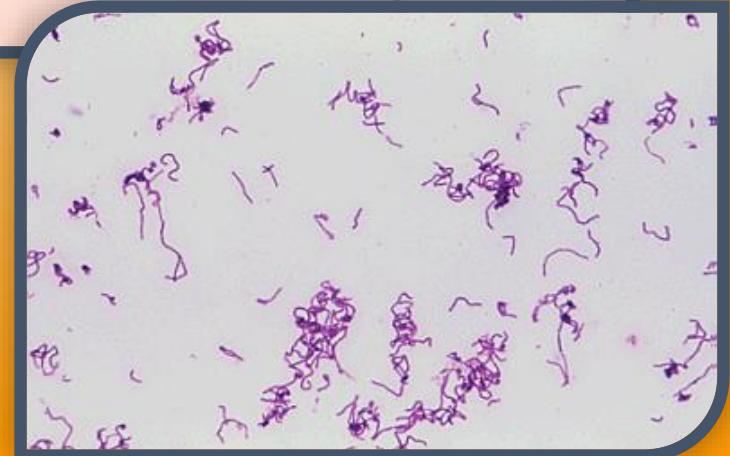
differenziamento reale

?

Cambiamento della forma usuale di un batterio

Es. Lattobacilli

Es. *Proteus* spp. Può presentare in una medesima popolazione di una stessa specie forme bacillari insieme con elementi coccoidi



DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO



E' un cambiamento indotto (dalla presenza di un substrato) e limitato nel tempo (quando il substrato si allontana il differenziamento termina)

DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO



ESEMPIO 1: β -galattosidasi *Escherichia coli*

- ❖ il batterio utilizza glucosio per il suo metabolismo, ma se questo non è presente e nell'ambiente c'è lattosio (galattosio+glucosio), il batterio produce l'enzima galattosidasi, che gli permette di scindere il lattosio e recuperare il glucosio e continua fino a quando il lattosio è presente.

DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO



ESEMPIO 1: β -galattosidasi *Escherichia coli*

- ❖ Normalmente possiede il gene che codifica la produzione della β -galattosidasi, ma in genere non produce questo enzima per la presenza di un repressore che ne inibisce la trascrizione. Se è presente lattosio e non glucosio in pochi minuti si producono mRNA ed enzima
- ❖ Non appena l'induttore (lattosio) è allontanato, si ha blocco dell'mRNA e l'enzima non viene più sintetizzato

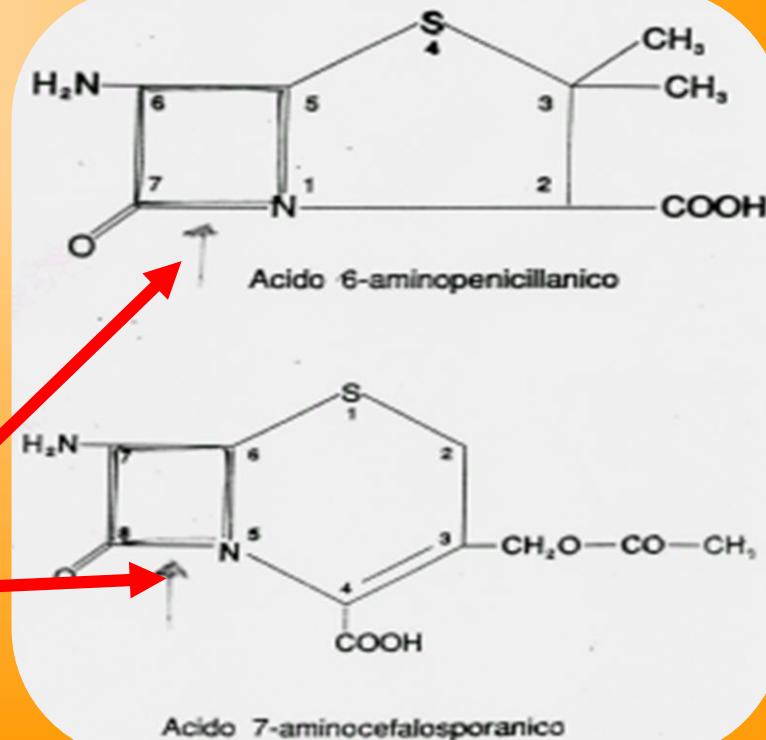
DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO



ESEMPIO 2: β -lattamasi

Gli antibiotici β -lattamici inducono, nei batteri Gram+, la produzione di β -lattamasi; la sintesi di questo enzima cessa quando l'antibiotico (induttore) non è più presente nel mezzo di coltura

Punto d'attacco delle β -lattamasi



DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO



ESEMPIO 2: β -lattamasi

Le beta-lattamasi sono enzimi che i batteri hanno iniziato a produrre con l'avvento dell'era antibiotica. I Gram+ producono qs enzimi solo se nel mezzo ambiente sono presenti antibiotici beta-lattamici (penicilline, cefalosporine, ecc.).

GRAM POSITIVI producono ESO-BETALATTAMASI (VENGONO PRODOTTE ED EMESSO ALL'ESTERNO DEL BATTERIO)

Sono enzimi INDUCIBILI (indotti dalla presenza dell'antibiotico Beta-lattamico)

DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO: quando l'atb non c'è non sono prodotte!!!!

DIFFERENZIAMENTO TEMPORANEO



ESEMPIO 2: β -lattamasi

I GRAM NEGATIVI producono ENDO-BETALATTAMASI (VENGONO PRODOTTE nella cellula e riversate ALL'INTERNO DEL BATTERIO, NELLO SPAZIO PERIPLASMICO)

Sono enzimi COSTITUTIVI (prodotte sempre anche se l'atb non c'è)

Non si tratta di differenziamento



*Per qualunque domanda o problema
puoi contattarmi al*

- Tel: **338 642 8032**
- e-mail: vivian.tullio@unito.it