

Obiectul microbiologiei

Şef lucrări Dr. Delia Berceanu

Microbiologia este știința care se ocupă cu studiul organismelor microscopice.

Ramuri: microbiologia medicală, farmaceutică, industrială, alimentară, a mediului, a solului, a plantelor etc.

Studiază:

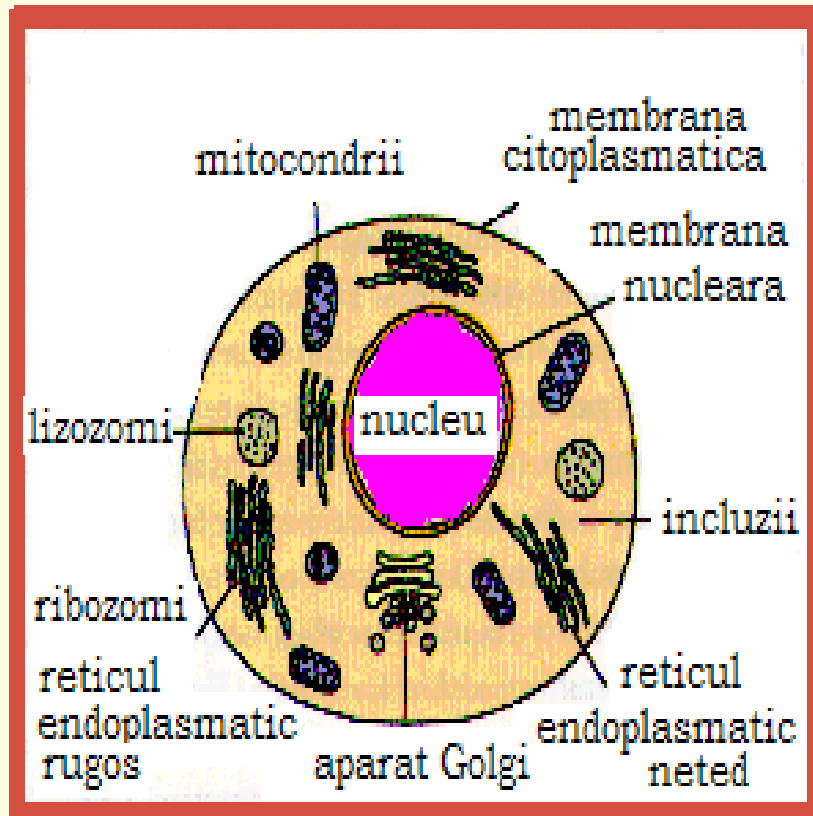
- Biologia agenților infecțioși
- Relațiile dintre acești agenți și organismul uman
- Diagnosticul etiologic al infecțiilor
- Bazele terapiei antiinfecțioase
- Bazele profilaxiei infecțiilor

LOCUL AGENȚILOR INFECȚIOȘI ÎN SISTEMATICA MICROORGANISMELOR

Microorganismele diferă în mod fundamental unele de altele, fiind încadrate în **3 regnuri**:

- **1. protista,**
- **2. procariotae,**
- **3. vira.**

1. Regnul Protista - microorganisme a căror celule sunt evolute, de tip **eucariot**, cu nucleu și organite celulare nespecifice: reticul endoplasmatic, ergastoplasma, mitocondrii etc.



- ✓ are toate caracterele celulelor evolute
- ✓ nucleu
- ✓ organite celulare comune
- ✓ nu are perete celular
- ✓ se divide direct sau prin mitoză

Celula de tip **eucariot**

1. Regnul Protista

- **Algele** - microorganisme acvatic, fotosintetizante, de dimensiuni microscopice până la forme gigante, pluricelulare, filamentoase.

Nu prezintă interes medical propriu-zis, cu excepția **agar-agarului** din care se obține agarul, polizaharid care servește la prepararea mediilor de cultură solide.

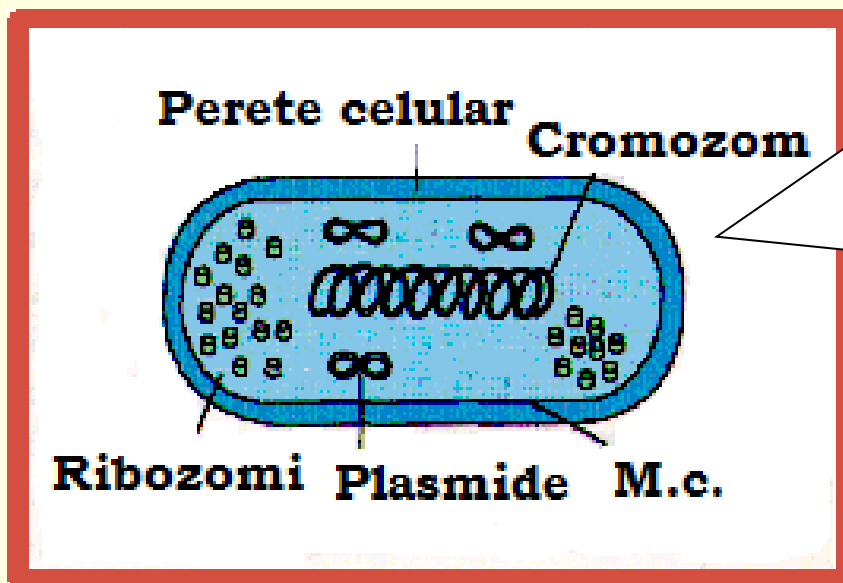
- **Mycetele (ciupercile microscopice)** - grupate în 4 clase.
 - 12.000 de specii, din care 100 sunt de interes medical.

- **Protozoarele** - microorganisme unicelulare eucariote, evaluate structural și în general mobile, asemănându-se cu celulele animale. Cele de interes medical se încadrează în **4 clase: flagelata, rhizopoda, sporozoa și ciliata.**

2. Regnul Procariotae

- cuprinde microorganisme a căror celule sunt primitive, de tip procariot, lipsite de nucleu adevărat și de organele celulare nespecifice, dar cu un înveliș suplimentar numit **perete celular**.

- nu au nucleu adevărat - cromozom haploid format dintr-o moleculă circulară de ADN
- lipsite de organele celulare comune, cu excepția ribozomilor
- au un perete celular rigid
- se divid direct



- ✓ nu au nucleu adevărat – au un cromozom haploid format dintr-o moleculă circulară de ADN
- ✓ au perete celular rigid
- ✓ se divid direct
- ✓ lipsite de organite celulare comune, cu excepția ribozomilor

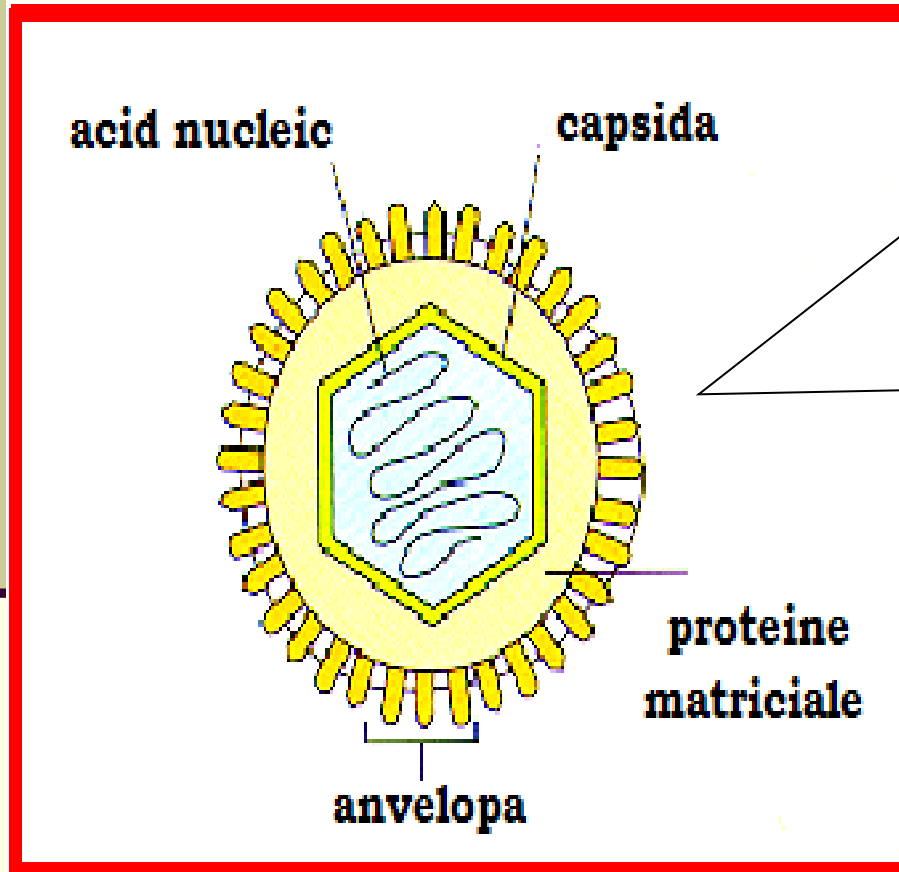
Celula de tip **procariot**

3. Regnul **Vira** - entități infecțioase de natură subcelulară (acelulară): **virusurile** și **viroizii**.

Virusurile se deosebesc fundamental de formele celulare de viață:

- sunt formate dintr-un singur acid nucleic (ADN sau ARN), învelit de o capsidă proteică (nucleocapsida); unele prezintă un înveliș suplimentar – anvelopa (peplosul);
- prezintă parazitism intracelular obligatoriu;
- sunt particule inerte în stare extracelulară, dar după ce pătrund într-o celulă vie, deviază metabolismul acesteia în scopul propriei replicări.

Structura virusurilor



- ✓ entități infecțioase
acelulare, cu parazitism
intracelular obligatoriu
- ✓ un singur acid nucleic
(ADN sau ARN)
- ✓ inerte în afara celulei gazdă
- ✓ parazitează celula la nivel
genetic, deviază metabolismul
acesteia în scopul propriei
replicări

-
- **Viroizii** - structură și mai simplă, fiind alcătuiți doar dintr-un **acid nucleic** cu GM mică. Unii produc boli transmisibile la plante.

Virusurile și viroizii alcătuiesc împreună **regnul VIRA.**

- **Prionii** - entități infecțioase de dimensiuni foarte mici (5 nm), de **natură proteică.**

Se presupune că stau la baza unor boli degenerative ale SNC: boala Jacob-Creutzfeld, Kuru, scrapia oilor etc.

Caractere diferențiale între bacterii și virusuri

| Caracter | Bacterii | Virusuri |
|-----------------------------------|---|---|
| Dimensiuni | 1–10 μ MO | 20–300 nm ME |
| Structură | Celulară – tip procariot | Subcelulară (acelulară) |
| Conținutul în ac. nucleici | ADN <u>și</u> ARN | ADN <u>sau</u> ARN |
| Multiplicare / cultivare | Diviziune directă / pe m. de cultură inerte | Replicate de către cel. gazdă / anim. de lab., CC, OE |
| Prezența enz. metabolice | Da | Nu |
| Sens la A. uzuale | Da | Nu |

- La agenții infecțioși microscopici se adaugă **paraziții multicelulari**, cum sunt **helminții și artropodele**, cu structură complexă și cu studiul cărora se ocupă **parazitologia**.



MORFOLOGIA ȘI STRUCTURA BACTERIILOR

MORFOLOGIA ȘI STRUCTURA BACTERIILOR

- **Dimensiunea** bacteriilor: 1-10 μ ($1\mu=10^{-3}$ mm),
- Dimensiunea, forma și așezarea bacteriilor se apreciază prin MO, iar detaliile morfologice și structurale prin ME.
- **Forma bacteriilor stă la baza clasificării lor.**
- **Formă și așezare.** În raport cu forma lor deosebim 4 categorii de bacterii:
 - rotunde (cocii),
 - alungite (bacili),
 - încurbate (spirili, spirochete, vibrioni) și
 - filamentoase (actinomycete).

diametrul eritrocitului

Bacillus anthracis

Clostridium perfringens

Escherichia coli

Borrelia recurrentis

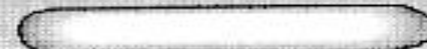
Treponema pallidum

Staphylococcus aureus

Streptococcus pneumoniae

Chlamydia trachomatis

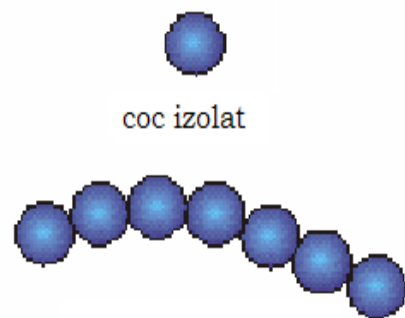
Mycoplasma pneumoniae



dimensiunile bacteriilor în micrometri

-
- **cocii** - bacterii rotunde, așezate în grămezi (genul *Staphylococcus*),
 - ovalare, așezate în lanțuri (genul *Streptococcus*), lanceolate,
 - în diplo ca două flăcări de lumânare (specia *Streptococcus pneumoniae*)
 - reniforme, dispuse ca două boabe de cafea ce se privesc față în față (genul *Neisseria*),
 - **bacilii** - bacterii cu formă alungită de bastonaș,
 - **cocobacilii** - forme intermediare între coci și bacili (*Yersinia pestis*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*);

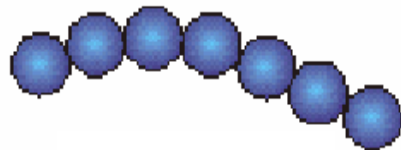
-
- **vibrionii** - bacterii încurbate, în formă de virgulă (*Vibrio cholerae*);
 - **spirilii** - bacterii spiralate cu 1-2 spire rigide (*Spirillum volutans*);
 - **spirochetele** - bacterii spiralate cu corpul flexibil și 12-20 de spire (*Treponema pallidum*), foarte multe spire strânse (*Leptospira*) sau 2-3 spire (*Borrelia*);
 - **actinomicetele** - bacterii foarte asemănătoare fungilor, formează filamente sau hife lungi și ramificate care se rup, rezultând forme bacilare (*Actinomyces*).



coc izolat



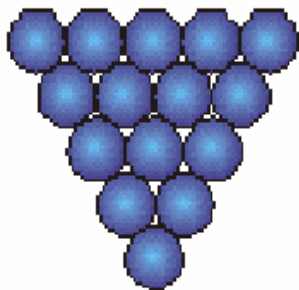
diplococi



streptococi



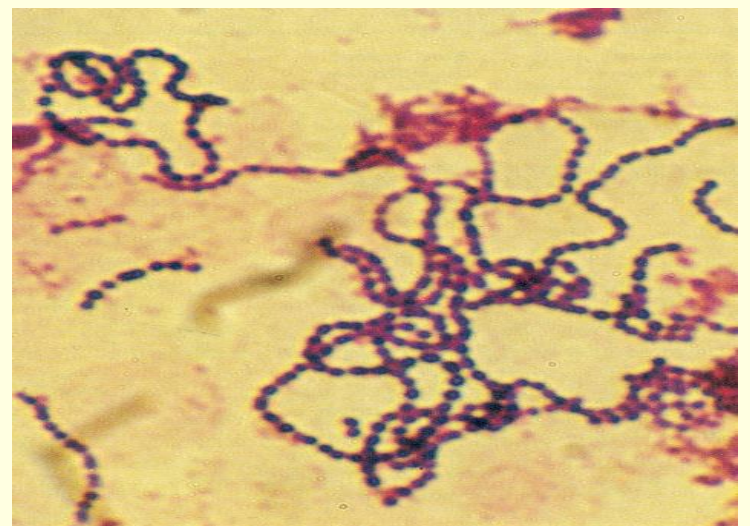
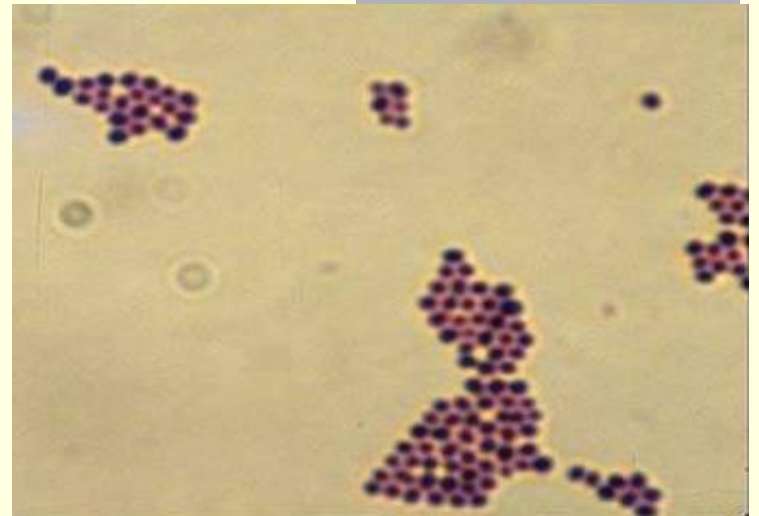
tetrade

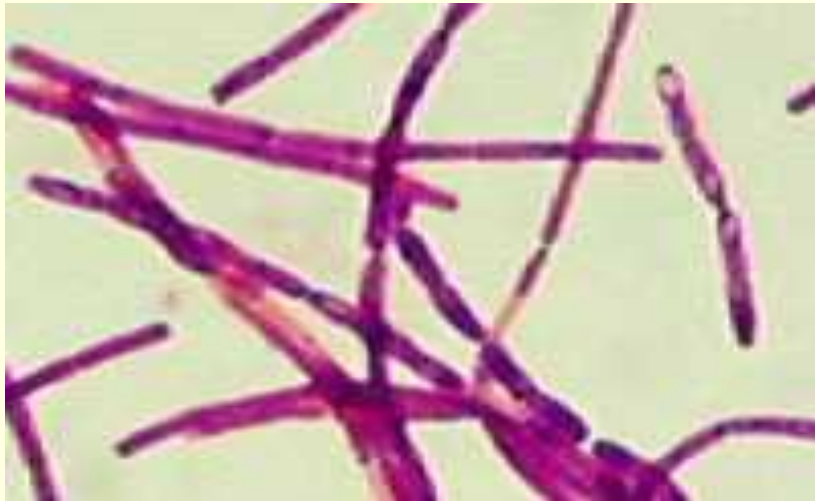


stafilococi

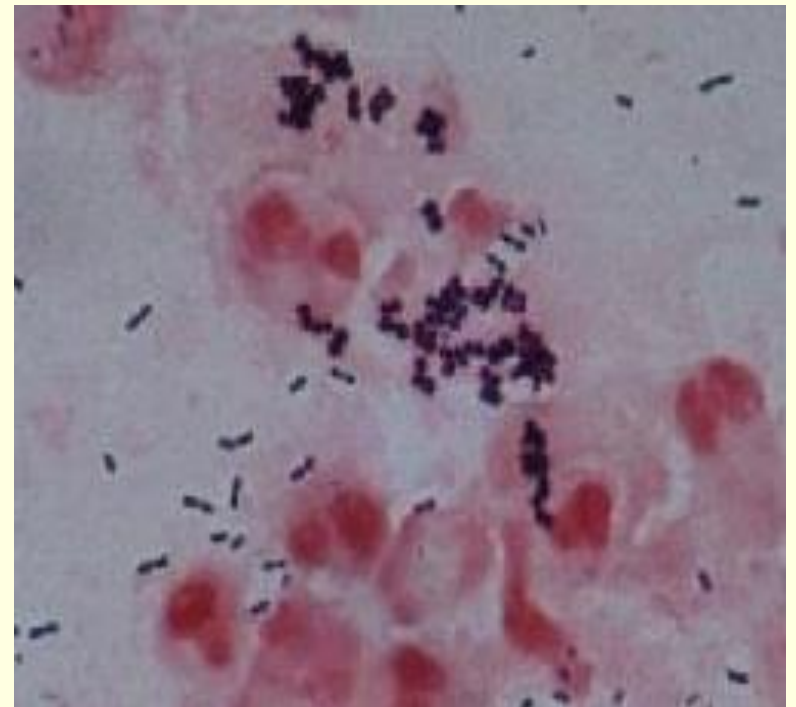


sarcina





Frotiu colorat gram



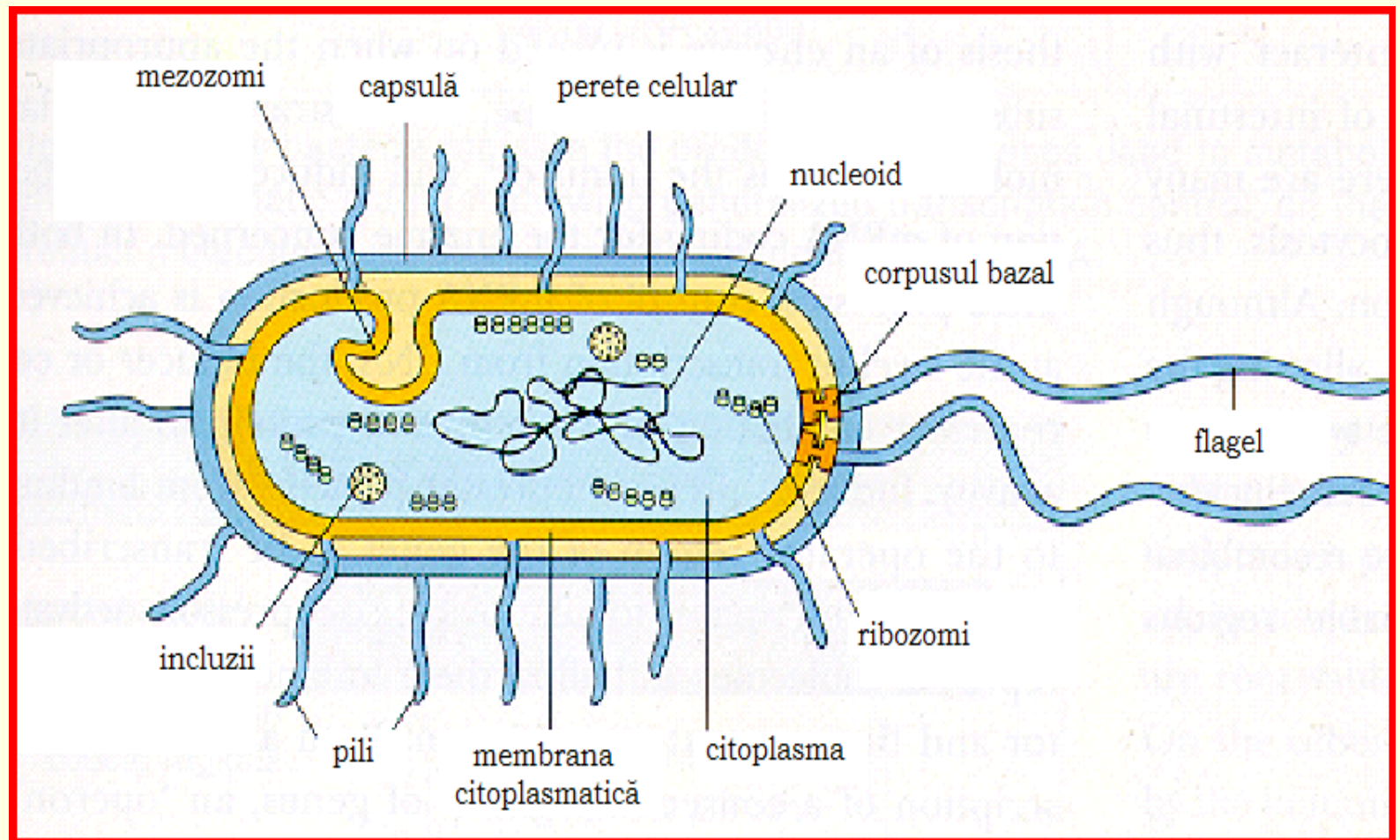
STRUCTURA CELULEI BACTERIENE

■ Componente obligatorii:

1. peretele celular
2. membrana citoplasmatică
3. materialul nuclear
4. citoplasma

■ Componente neobligatorii:

1. capsula
2. cili sau flagelii
3. pili bacterieni
4. sporii

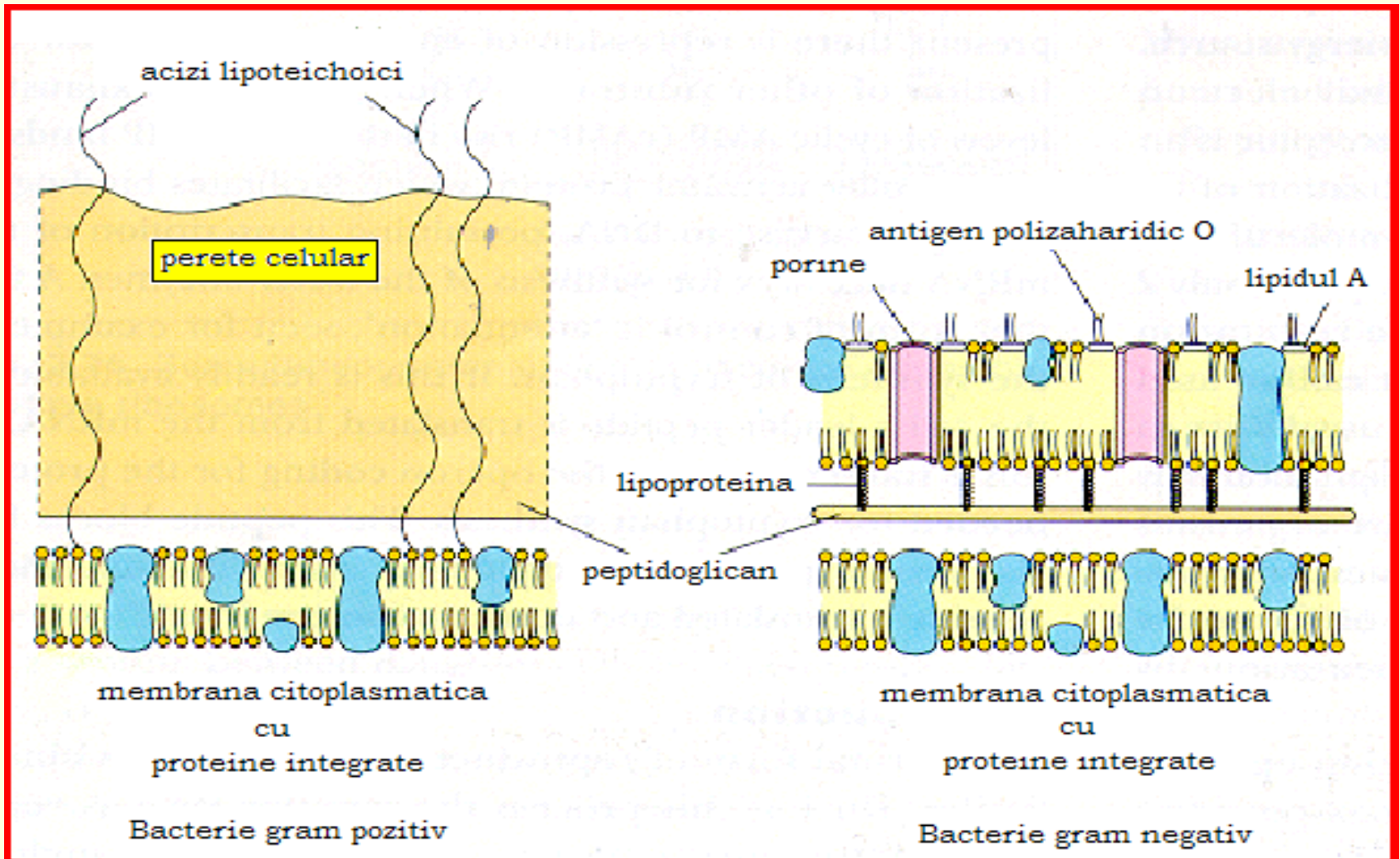


Structuri celulare obligatorii

1. **peretele celular**
2. membrana citoplasmatică
3. materialul nuclear
4. citoplasma

Structuri celulare obligatorii

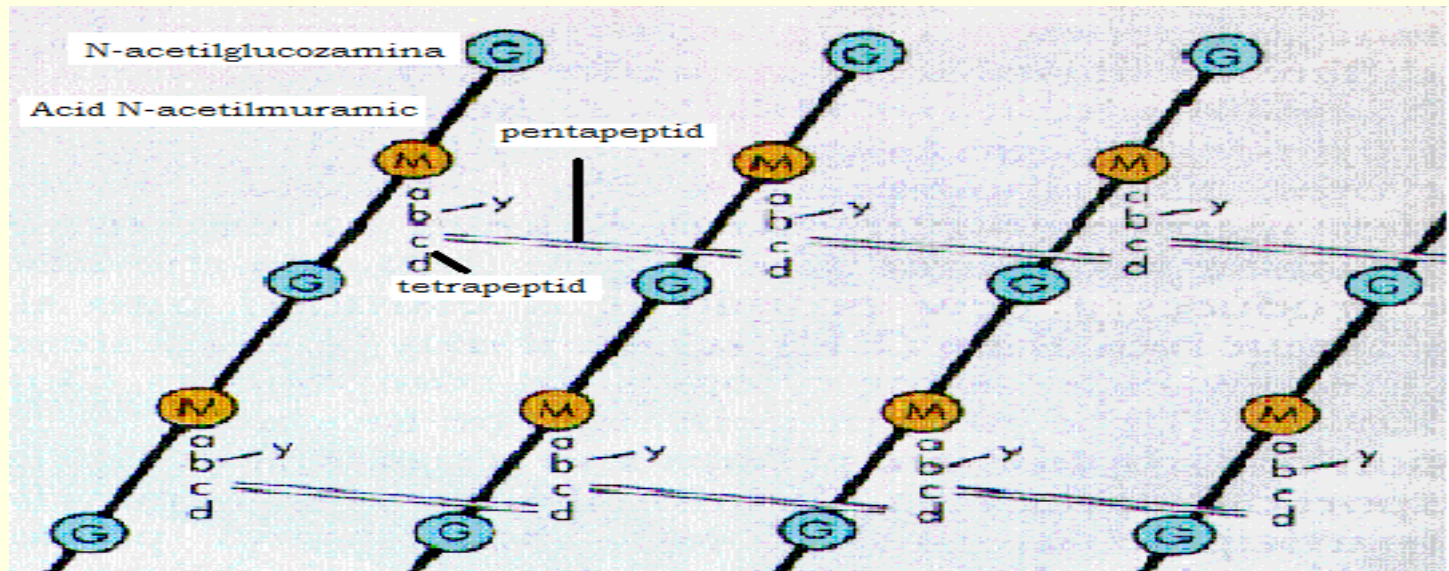
1. Peretele celular



Peretele celular

- Înconjoară membrana citoplasmatică, este o structură rigidă, specifică bacteriilor.
- format: - un **strat bazal sau peptidoglican (mureina)**, asemănător la toate bacteriile și
 - un **strat al structurilor superficiale**, foarte diferențiat, în funcție de care bacteriile manifestă caractere tinctoriale diferite:
 - bacterii gram-pozitive,
 - gram-negative și
 - acido-alcoolo-rezistente.

- **Peptidoglicanul sau mureina** - asigură forma, rigiditatea și rezistența mecanică a bacteriei.
- Prezent la toate bacteriile, el constă dintr-un schelet, format din molecule lungi paralele polizaharidice de N-acetil-glucozamină și acid N-acetil-muramic. Moleculele de acid N-acetil-muramic din lanțurile vecine sunt legate între ele prin punți polipeptidice, transversale.



-
- La **bacteriile gram-pozitive**, peptidoglicanul este mai gros (15-30 nm).

Stratul structurilor speciale este redus și alcătuit din polimeri hidrosolubili - acizii teicoici. Ei reprezintă antigenele de suprafață ale bacteriilor gram-pozitive.

Peretele celular al bacteriilor gram-pozitive este sensibil la acțiunea *lizozimului*, care rupe legăturile dintre acidul N-acetil-muramic și N-acetil-glucozamină.

- La **bacteriile gram-negative**, peptidoglicanul este mai subțire (4-5 nm).

Stratul superficial este însă mult mai complex decât la bacteriile gram-pozitive fiind alcătuit din:

- *Membrana externă* - formată dintr-un strat dublu fosfolipoproteic.
- Deasupra membranei externe a bacililor gram-negativi se află **lipopolizaharidul de perete (LPZ)** sau **endotoxina** bacililor gram-negativi.

Lipopolizaharidul de perete (LPZ) sau endotoxina bacililor gram-negativi este alcătuit din:

- **lipidul A** – partea activă,
 - **miezul** sau “**core**”, numit și **antigen R**, comun tuturor bacteriilor gram–negative,
 - **unități monozaharidice repetitive** (15-40) - specifice de specie și tip, care constituie **antigenul O** al bacteriilor gram-negative.
- ***Spațiul periplasmic*** - se întinde de la membrana celulară până la membrana externă. El conține peptidoglicanul. Aici sunt prezente enzimele de inactivare ale unor antibiotice (beta-lactamazele și cefalosporinazele).

- **Bacteriile acido-alcool-rezistente** de interes medical sunt **bacilul tuberculos și bacilul leprei**.

Peretele celular se aseamănă cu cel al bacteriilor gram-pozitive, dar structurile speciale conțin acid micolic și o ceară, ce conferă acestor bacterii caractere tinctoriale deosebite și rezistență crescută la factorii de mediu.

Ele se colorează la cald prin tehnica **Ziehl-Neelsen**.

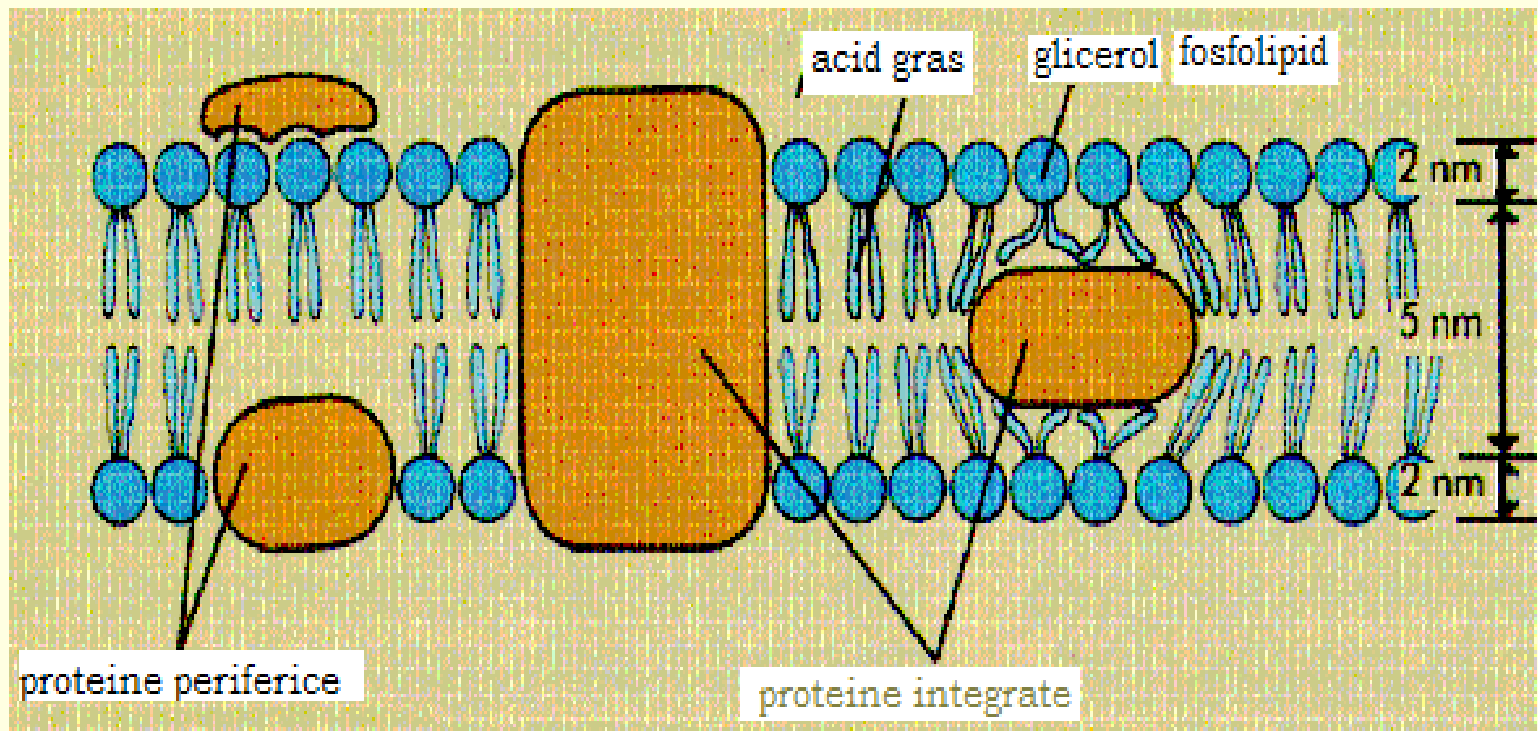
Funcțiile peretelui celular:

- asigură forma, rezistența mecanică și osmotică a bacteriei;
- reglează traficul molecular de perete în ambele sensuri;
- sediul antigenelor de suprafață;
- sediul unor factori de patogenitate;
- rol în diviziunea bacteriană și în procesul de sporulare.

Structuri celulare obligatorii

1. peretele celular
2. membrana citoplasmatică
3. materialul nuclear
4. citoplasma

2. Membrana citoplasmatică



Membrana citoplasmatică

- Membrană fină (6,5-7nm), elastică, lipsită de rezistență mecanică.
- Structură trilaminată - fosfolipoproteică.
- **Mezozomii** - structuri membranare care se formează prin invaginarea membranei citoplasmatică sub formă de buzunar, prezente la bacteriile gram-pozitive și ocazional la cele gram-negative.
- Ei sunt în contact direct cu materialul nuclear fiind implicați în diviziunea cromozomului.

Funcțiile membranei citoplasmatică:

- permeabilitate selectivă - barieră osmotică ce reglează schimburile celulei bacteriene.
- secretă enzime hidrolitice în mediul înconjurător,
- îndeplinește rolul mitocondriilor de la celulele eucariote, fiind centrul energogenezei celulare,
- este sediul sintezei acizilor grași, a fosfolipidelor,
- este implicată în sinteza peretelui celular, al polizaharidelor capsulare, participând activ la creșterea și diviziunea celulei bacteriene și la formarea sporului bacterian.

Structuri celulare obligatorii

1. peretele celular
2. membrana citoplasmatică
3. **materialul nuclear**
4. citoplasma

3. Materialul nuclear

- **nucleoid (echivalent nuclear)** - structură primitivă în comparație cu nucleul celulelor eucariote.
- format dintr-o **moleculă circulară de ADN**, organizată sub forma unui cromozom haploid care este în contact direct cu citoplasma datorită ***lipsei membrane nucleare***. Molecula de ADN dublu spiralat este la rândul ei suprahelicată în jurul unui miez de ARN, dispoziție necesară funcționalității materialului nuclear.
- ***Funcția nucleului*** bacterian constă în depozitarea informației genetice. ADN – suportul material al eredității.

- În afară de ADN-ul cromozomial, la unele bacterii sunt prezente în citoplasmă molecule circulare de ADN – **plasmide**, care se replică independent de cromozomul bacterian și care au **rol în rezistența bacteriilor la antibiotice.**

Structuri celulare obligatorii

1. peretele celular
2. membrana citoplasmatică
3. materialul nuclear
4. **citoplasma**

4. Citoplasma

- situată între materialul nuclear și fața internă a membranei citoplasmatică,
- sistem coloidal alcătuit din 80% apă, în care se găsește o cantitate mare de molecule organice, ioni anorganici, enzime, ARN, vacuole și incluzii,
- este lipsită de organele celulare prezente la celulele eucariote, cum sunt reticulul endoplasmatic, aparatul Golgi, mitocondriile, centrul celular, ergastoplasma.

■ **Ribozomii.** O celulă bacteriană are aprox. 20.000 de ribozomi ce conțin 80-90% din **ARN-ul** citoplasmatic.

Reprezintă sediul sintezelor proteice din celulă.

■ **Incluziile citoplasmaticice** - formațiuni structurale inerte, temporare, de diferite dimensiuni, variind în funcție de specia bacteriană și condițiile de mediu.

Reprezintă un material de rezervă care poate fi folosit ca sursă de energie.

Structuri celulare neobligatorii

1. **capsula**
2. cili sau flagelii
3. pili bacterieni
4. sporii

Structuri celulare neobligatorii

1. Capsula

Capsula - înveliș compact, care apare ca un halou clar ce înconjoară bacteria (***nu se colorează Gram***).

- Dpv. chimic, capsula bacteriilor de interes medical este de natură **polizaharidică** (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella* etc.), cu excepția capsulei bacilului cărbunos care este **polipeptidică**.
- **Asigură rezistența bacteriilor la fagocitoză**, fiind un **factor de virulență**. Variantele necapsulate ale aceluiași specii sunt nepatogene.
 - ex. *S. pneumoniae* capsulat produce la șoarecele de laborator o septicemie mortală, pe când varianta necapsulată nu este patogenă.
- Este sediul **antigenelor capsulare K** - permit diferențierea unor serotipuri în cadrul speciei.

Funcțiile capsulei:

- factor de aderență și colonizare a bacteriilor pe suprafețe;
- protejează bacteriile de diferiți agenți antibacterieni din mediu, cum sunt: bacteriofagii, colicinele, complementul, lizozimul sau alte enzime bacteriolitice;
- protejează bacteriile de acțiunea fagocitelor, fiind un factor de virulență;
- reprezintă sediul antigenelor capsulare K, importante în identificarea acestor bacterii.

Structuri celulare neobligatorii

1. capsula
2. **cilii sau flagelii**
3. pili bacterieni
4. sporii

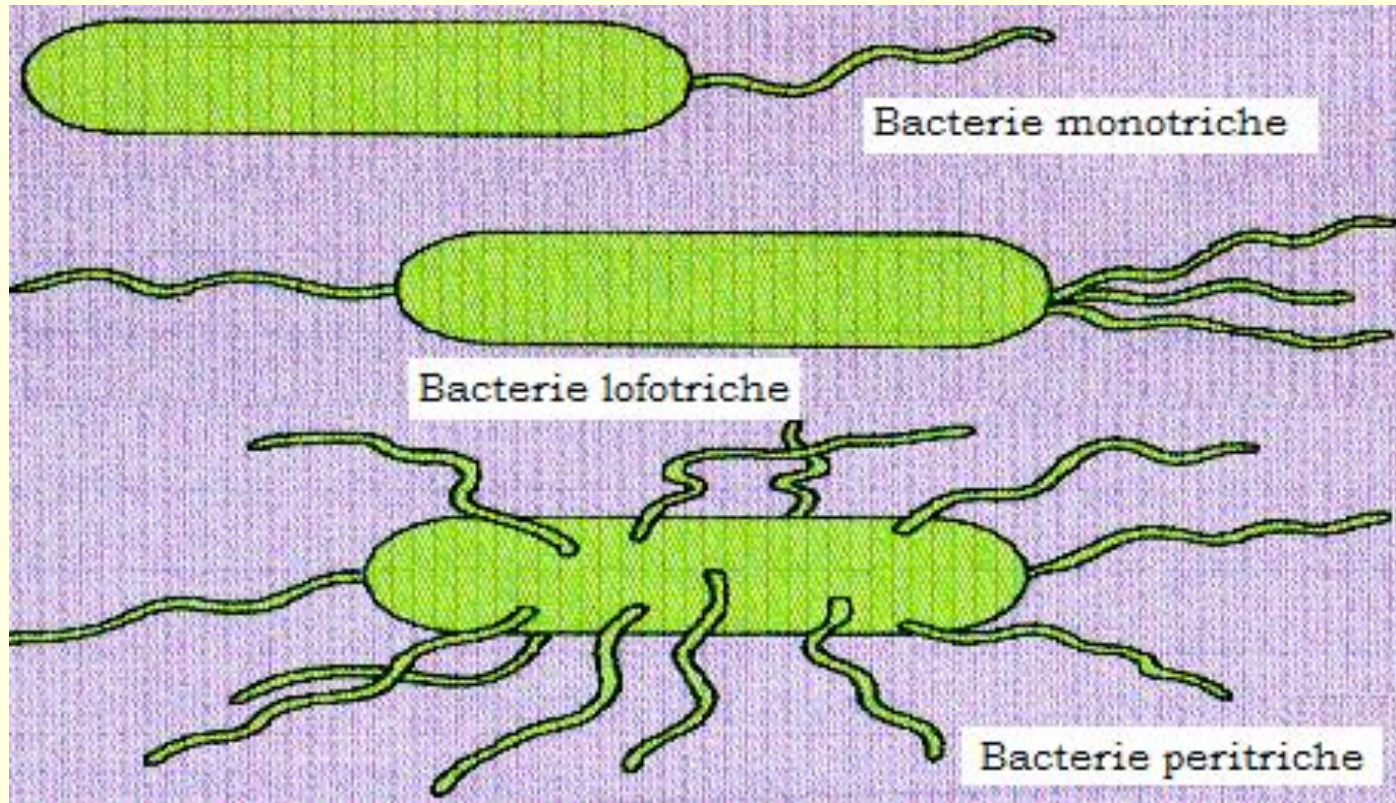
2. Cili sau flagelii bacterieni

- apendici filamentoși ai speciilor bacteriene mobile, ce servesc ca **organe de locomoție**. Ei sunt prezenți mai ales la bacili.
- dispoziția și numărul cililor sunt caracteristice speciei.

S-au descris bacterii:

- atriche (fără cili),
- monotriche - cu un cil polar (*Vibro cholerae*),
- lofotriche - cu un smoc de cili situat la unul din polii bacteriei (*Pseudomonas fluorescens*),
- amfitriche - cu cili situați la ambii poli ai bacteriei (genul *Spirillum*) și
- peritriche - cu cili dispuși pe întreaga suprafață a bacteriei (*Salmonella*, *E. coli*, *Proteus* etc.).

Cili bacterieni



-
- Cili / flagelii sunt sediul **antigenelor flagelare H**, importante în identificarea bacteriilor.

Structuri celulare neobligatorii

1. capsula
2. cili sau flagelii
3. **pilii bacterieni**
4. sporii

3. Pili bacterieni

- Se găsesc la suprafața unor **bacterii gram-negative**.
- Sunt apendici filamentoși, rigizi, mai scurți decât flagelii, în număr mare (100-500/celulă) și cu dispoziție în general peritrichă.
- Se evidențiază numai prin **ME**.

Din punct de vedere **funcțional**, se împart în:

- **sex pili** - rol în **transferul de material genetic** între bacterii.
- **pili comuni** sau **pili de aderență (fimbrii)** - servesc la **fixarea** fermă a bacteriilor pe mediul de cultură sau pe suprafața celulelor, constituind un **important factor de virulență**. În afară de aderență, pili comuni mai au și **proprietăți antifagocitare**.

Structuri celulare neobligatorii

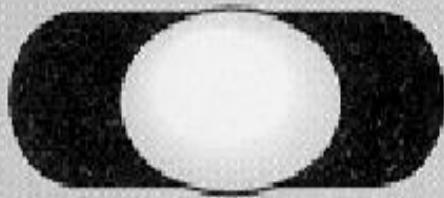
1. capsula
2. cili sau flagelii
3. pili bacterieni
4. **sporii**

4. Sporii

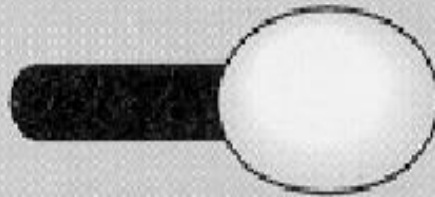
- Unele bacterii se transformă în **spori**, care sunt **forme de rezistență la factorii de mediu** și care apar endocelular în condiții nefavorabile de viață.
- Au un înveliș rezistent, format din mai multe straturi datorită căruia rezistă în mediul extern zeci de ani.
- Sporogeneza se întâlnește numai la **2 genuri** de bacterii gram-pozitive de interes medical: ***Clostridium* și *Bacillus***.

Poziția sporului bacterian constituie un caracter taxonomic.

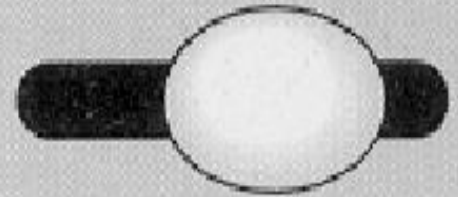
Poate fi: centrală, terminală și subterminală.



Central



Terminal

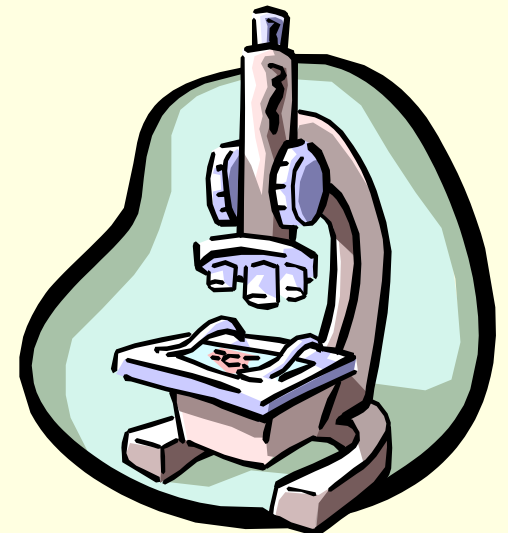


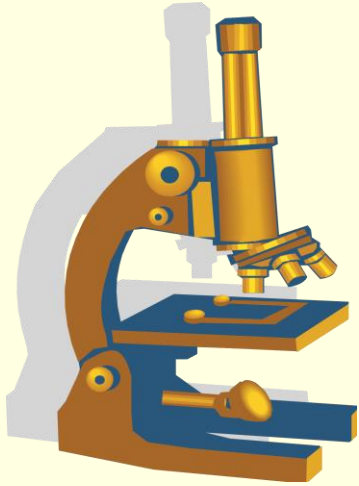
Subterminal

STUDIUL MORFOLOGIC AL BACTERIILOR

- **Examinarea microscopică** este frecvent primul pas în identificarea unor bacterii. Caracterele morfologice și tinctoriale încadrează bacteriile în unul din grupurile majore, stabilind conduita diagnosticului bacteriologic.
- Elementele morfologice importante în identificarea unei bacterii sunt: **dimensiunea, forma, așezarea**, prezența unor structuri speciale ca, de pildă, endospori, flageli, capsulă sau incluzii intracelulare.

- **Microscopul cu câmp luminos**
- **Microscopul cu fond întunecat**
- **Microscopul cu contrast de fază**
- **Microscopul cu raze UV (imunofluorescență)**
- **Microscopul electronic**





VĂ MULȚUMESC !!!