

MICROBIOLOGIA

La microbiologia è una scienza essenziale all'interno delle scienze biologiche: infatti, considerando il batterio e i suoi meccanismi fondamentali, sarà possibile notare che, le differenze tra la descrizione in microbiologia e quella in biologia o in biochimica, comporterà l'introduzione di alcune differenze che possono essere considerate collaterali. Questo perché, nella descrizione di un batterio, si fa sempre riferimento alla presenza di DNA, RNA, ribosomi e alla sintesi proteica; questo perché, la scienza ha dettagliato che i meccanismi fondamentali di una cellula valgono sia per un essere vivente semplicissimo, sia per cellule più complesse.

OBIETTIVO DELLA MICROBIOLOGIA: studiare i modelli fondamentali, per capire l'organismo umano, poter prevenire le malattie infettive e poterle curare.

Lo studio dei batteri avviene per messaggi dell'utilizzo della piastra di Petri, all'interno della quale le colonie batteriche si differenziano, assumendo colorazioni diverse.

Esistono batteri che vivono dentro l'organismo e creano un rapporto di commensalismo con l'essere umano aiutando anche il corretto funzionamento dell'organismo, ma esistono anche batteri che causano la morte immediata: fortunatamente, contro numerosi batteri patogeni, sono state prese misure di contenimento, come ad esempio i vaccini.

Lo studio dei microrganismi ha dimostrato che alcuni di essi, sono dei veri e propri agenti di malattia. Lo scopo della microbiologia è quello di comprendere la biologia dei microrganismi, così da aumentare i loro effetti benefici e la possibilità di utilizzo, a anche di ridurre gli effetti dannosi.

I virus possono essere considerati parallelamente ai batteri: si definisce virus un parassita cellulare obbligato, che non ha sistemi autonomi di replicazione, ma ha la necessità di parassitare qualcosa per riprodursi. Infatti, a differenza dei "comuni" batteri, i virus non seguono i parametri fondamentali propri degli organismi, semplici o complessi, che essi siano.

Dal punto di vista strutturale, i virus possono essere definiti come organismi semplici: essi, infatti, risultano essere costituiti da RNA, che ne rappresenta il materiale genetico, avvolto in un involucro proteico. Nonostante siano privi di qualsiasi complicazione interna, i virus possono essere molto dannosi per la vita, perché, fagocitando, sono in grado di penetrare nelle cellule di organismi superiori per parassitare. I virus, interamente contengono quelle che possono essere definite le "loro istruzioni" che, in questo caso è dato dall'RNA. Nonostante la struttura semplice, un virus è capace di causare la morte dell'organismo, se trova il modo di parassitare, qualunque siano le condizioni di salute dell'organismo stesso.

TIPI DI MICRORGANISMI

Gli organismi possono essere di diverso tipo:

1. Funghi: cellule eucariotiche presenti negli organismi pluricellulari che, con particolari condizioni, possono causare malattie;
2. Batteri procarioti: organismi unicellulari privi di nucleo,
3. Alghe: organismi multicellulari fotosintetici;
4. Virus: entità acellulari, definiti come parassiti obbligati privi di vita;
5. Parassiti animali cellulari.

EZIOLOGIA DELLE MALATTIE E RUOLO DEI MICRORGANISMI

- La nascita della microbiologia può essere fatta risalire a poche centinaia di anni fa; anche se, Sun dagli aristotelici si immaginava l'esistenza di un mondo sub-ottico, che era la causa di una serie di malattie.
- Nel diciassettesimo secolo, Robert Hooke fu il primo scienziato che riuscì ad osservare delle cellule, in particolare appartenenti a delle muffe.
- Sempre nel diciassettesimo secolo, vengono introdotti i primi strumenti di microscopia ottica, ma molto rudimentali.
- Antony van Leeuwenhoek effettuò le prime osservazioni di animalcules (batteri): bisogna tenere in considerazione, però, il fatto che le sue osservazioni non rientrano in un campo medico scientifico, ma si limitavano esclusivamente ad affermare l'esistenza di questo mondo. Quello che è certo è che, a lui può essere attribuita la prima osservazione accurata dei microrganismi. Antony van Leeuwenhoek mette appunto un sistema microscopico e riesce a vedere, per la prima volta degli organismi. Il sistema microscopico da lui creato può essere definito "banale" ma, grazie ad esso, riusciva a riprodurre i microrganismi grazie alle sue rappresentazioni grafiche.
- 300 ingrandimenti.
- Dibattito sulla generazione spontanea Redi e Spallanzani: questo dibattito era ancora attivo durante le prime osservazioni di Leeuwenhoek, perché le idee sul mondo microbico non si erano ancora sviluppate. La teoria sulla generazione spontanea affermava che la crescita di organismi si sviluppasse a partire da materiale non vivente a seguito di reazioni chimiche; in alternativa si supposeva che l'origine dei microrganismi derivasse da semi o germi presenti nell'aria e in tutte le sostanze.
- Nel diciannovesimo secolo viene introdotta la teoria della biogenesi da Pasteur, il quale mette in relazione la materia organica, con la presenza dei microrganismi nell'atmosfera. A metà di questo secolo, grazie ai primi strumenti di osservazione ottica, è possibile osservare i batteri, ma anche creare i primi terreni di coltura. Pasteur stabilisce che la materia organica non genera microrganismi in maniera autonoma, ma essi sono già presenti nell'atmosfera e portano ad una degradazione della materia organica. Le considerazioni fatte da Pasteur risultano essere un punto di svolta per lo sviluppo della microbiologia: infatti, proprio dalle osservazioni effettuate da lui, riesce a mettere in dubbio la precedente teoria della generazione spontanea. Questo risulta essere fondamentale perché può essere fatto un parallelismo: così come alcuni batteri portavano alla degradazione della materia organica, allo stesso modo potevano portare allo sviluppo di malattie nell'organismo umano. Le prove di Pasteur seguirono quelle del Redi e dello Spallanzani: dalla sua preparazione come perito agrario, osservando la degradazione del mosto, studia l'effetto dei microrganismi e si rende conto della presenza dei microrganismi nell'aria, dimostrando come essi si generassero in seguito a contaminazione dei materiali che venivano utilizzati. Rintraccio nell'aria microrganismi che erano simili, se non identici a quelli rintracciati nel materiale in putrefazione: da qui, si rese conto che trattando gli alimenti con il calore, era possibile distruggere ogni microrganismo vivo, rendendolo sterile, in modo tale da impedirgli di

riprodursi, così da poter evitare la putrefazione. Pasteur, quindi, utilizzò il calore per eliminare i microrganismi, assieme ad un'ampolla con il collo ad "S" che impediva l'ingresso dei microrganismi nel fluido. L'esperimento prevedeva, dopo l'inserimento all'interno dell'ampolla di un liquido non sterile, che il collo dell'ampolla doveva essere stirato dalla fiamma, così da fargli assumere una forma ad "S". Dopodiché, per mezzo di una fiamma, il liquido veniva riscaldato e, così facendo, l'aria veniva espulsa all'estremità aperta; successivamente, il liquido veniva fatto raffreddare. Dal raffreddamento fu possibile notare che le polveri e i microrganismi si andavano a depositare nel tratto curvo dell'ampolla, rimanendo lì intrappolati. A questo punto l'esperimento poteva svilupparsi in due modi:

1. Se l'ampolla non veniva toccata, anche dopo lunghi intervalli di tempo, il liquido continuava a rimanere sterile;
2. Se invece, l'ampolla viene inclinata creando un contatto tra il liquido e le polveri, nel liquido iniziavano a svilupparsi microrganismi. Da questo esperimento, la conclusione è chiara: se nell'ambiente ci sono microrganismi che portano alla degradazione della materia organica, le malattie infettive, dunque, sono causate dall'inhalazione di microrganismi patogeni.

- **Biogenesi e generazione spontanea:** successivamente agli studi effettuati da Pasteur, un altro scienziato, Tyndall, per mezzo del suo esperimento, svela la possibilità dell'esistenza di batteri in forme resistenti anche al calore (dette anche spore) che potevano essere distrutti soltanto per mezzo di cicli di trattamenti termici discontinui, che portavano le spore a passare nella forma batterica, così da poter essere distrutti (ad una temperatura di circa 70°C).
- **Età d'oro:** l'idea che si ricavò dalle numerose sperimentazioni che furono effettuate fu che i cambiamenti organici della materia dipendevano dalla presenza di microrganismi e non il contrario, che veniva affermato nella teoria della generazione spontanea. Di questo periodo, definito età d'oro, fondamentali furono le osservazioni di Koch e Pasteur che hanno permesso alla microbiologia di fare grandi passi in avanti: mentre Pasteur stabilisce il collegamento tra la materia organica e i batteri, Koch, per mezzo di una serie di postulati, mette a punto delle strategie difensive migliori (farmaci e disinfettanti) e delle reazioni che l'organismo era in grado di avviare contro l'agente infettivo. I postulati sono stati introdotti per capire se l'agente può essere ritenuto causa della malattia. Essi sono:

1. Essere presente in tutti i casi di quella malattia;
2. Non essere presente in altre malattie, né in individui sani;
3. Essere isolato in coltura pura, dai tessuti colpiti;
4. Riprodurre quella malattia se inoculato sperimentalmente ad un ospite recettivo.

Questi postulati vennero estrapolati sulla base di una serie di esperimenti: partendo dalla considerazione che le malattie infettive fossero generate dai microrganismi, si faceva riferimento a tutti gli animali morti in seguito ad una particolare malattia e, da lì, veniva analizzato il tessuto raccogliendo gli agenti patogeni, per poi farli crescere in un terreno di coltura, e infine, inserirli in un esemplare sano. Successivamente, era

possibile notare che anche l'esemplare inizialmente sano, avrebbe contratto la malattia e sarebbe morto.

È proprio a partire dalle considerazioni di Koch che si arriva alla teoria microbica delle malattie.

- Teoria batterica delle malattie, basata sulla correlazione tra cambiamenti della materia e ruolo dei lieviti, ma anche sul parallelismo che si veniva a creare con l'azione dei microrganismi su piante ed animali.

Nel 1849 la mortalità in sala operatoria era elevatissima, a causa della sepsi post-operatoria (febbre puerperale ed infezioni e contaminazione delle ferite) che dipendeva dalla scarsa igiene applicata dai medici e dagli studenti. Semmelweis, partendo dalle sperimentazioni di Pasteur, suggerì una corretta igiene delle mani e anche della biancheria: così facendo, i decessi per setticemia diminuirono all'1%.

Parallelamente a Semmelweis, anche Lister introdusse delle strategie e dei metodi per diminuire significativamente le percentuali di infezioni post-operatorie, basandosi sempre sulle considerazioni di Pasteur, fatte nel campo delle fermentazioni: Lister, propose l'impiego del fenolo, da utilizzare come agente disinfettante sia per il trattamento delle ferite chirurgiche, ma anche per la disinfezione degli strumenti utilizzati in chirurgia. Con la riduzione delle infezioni post-operatorie, si arrivò alla conclusione che le malattie infettive possiedono una relazione con la moltiplicazione dei microrganismi batterici nei tessuti dell'organismo.

Gli esperimenti di Koch e le osservazioni che ne derivano, vennero estesi anche ad animali di taglia più grande, che potevano essere sempre più associabili all'organismo umano; questo può essere considerato come il punto di partenza per tutte le scoperte che prenderanno parte alla moderna chemioterapia, introdotta a metà del diciannovesimo secolo, dove sarà possibile razionalizzare e documentare l'insorgenza delle malattie infettive.

Di elevata importanza, sarà sicuramente l'introduzione dei sulfamidici, ossia farmaci sintetici, cioè gli antibatterici, a cura di Paul Erlich, che vennero usati per la cura della sifilide.

È importante ricordare anche l'introduzione della penicillina, la quale viene definita come primo antibiotico e, grazie a questa, si inizia a parlare anche di resistenza batterica.

Dal confronto tra una cellula batterica e una cellula eucariotica, è possibile notare le multiple differenze che esistono tra di esse; è quindi possibile affermare che i due tipi di cellule "parlino lo stesso linguaggio", basta su elementi fondamentali come il genoma, la trasfusione dell'RNA, la traduzione...

Anche se dal punto di vista dei meccanismi è possibile trovare delle differenze, dal punto di vista morfologico sono evidenti le differenze tra batteri ed eucarioti: la principale differenza tra questi due tipi di cellule è la presenza di organelli di membrana interna e di sistemi complessi per la produzione di energia, che vedono la partecipazione dei mitocondri, visibili solo negli eucarioti. Al contrario, la cellula batterica produce l'energia per mezzo degli enzimi prodotti durante la fosforilazione ossidativa.

Un'altra caratteristica che sancisce una differenza tra batteri e eucarioti è l'assenza di un nucleo che non è presente all'interno dei batteri: essi risultano essere costituiti da

un'area dispersa che prende il nome di nucleoide, all'interno del quale è presente un singolo cromosoma di forma circolare che contiene circa 3000 geni.

Tutti i batteri hanno una struttura molto semplice e hanno vita autonoma: infatti, i batteri assorbono materiale nutritivo dall'esterno e lo convertono in energia che sfrutteranno per il movimento e per la riproduzione. In alcuni casi, i batteri possiedono una piccola appendice che permetterà ai batteri di muoversi. Il movimento è reso possibile grazie alla presenza di flagelli e pili, fondamentali nei fenomeni di adesione (aspetto essenziale che interviene nella creazione di rapporti con l'ambiente) assieme a strutture macroscopiche e a proteine e carboidrati, che possono assicurare la formazione del legame, utile anche e soprattutto nei rapporti di commensalismo.

MALATTIE INFETTIVE

All'interno e all'esterno del nostro organismo sono presenti microrganismi che non originano una malattia e questo dipende dalla capacità dell'organismo di stare in equilibrio con essi ed evitare le malattie infettive. Un processo infettivo si instaura quando un organismo suscettibile non è in grado di respingere un attacco da parte dei microrganismi di varia origine.

Nell'ospite il patogeno svolge parte del suo ciclo biologico causando la comparsa della malattia.

MICROBIOLOGIA INDUSTRIALE ED ECOLOGIA MICROBICA

Luis Pasteur sviluppò e perfezionò metodi relativi alla microbiologia industriale, indirizzando i suoi studi ai metodi di fermentazione alcolica. Superò la precedente convinzione che la conversione dello zucchero ad alcool escludesse l'intervento di microrganismi: infatti, i suoi studi fecero chiarezza su numerosi meccanismi di fermentazione dai quali emerse che l'alterazione di uno di questi meccanismi fosse dovuto alla presenza di un altro organismo. Questo intervento fu decisivo per evitare la perdita di produzione di etanolo da barbabietole da zucchero. La produzione era stata completamente ridotta ad acido lattico.

Altri microbiologi studiarono specie batteriche con differenti capacità di sopravvivenza, tra cui i mesofili, batteri che sopravvivono sintetizzando la clorofilla con capacità di fotosintesi e di vivere in assenza di ossigeno.

CONTROLLO DELLE ATTIVITÀ NOCIVE MEDIANTE TRATTAMENTO TERMICO

Per mantenere bassa e sotto controllo la carica batterica possono essere applicate diverse metodologie e tra di esse, è possibile vedere come alcune di esse, tra cui l'utilizzo di candeggina o dei raggi UV provenienti dal sole, possano far parte della quotidianità degli esseri viventi.

Il controllo della proliferazione dei microrganismi avviene per gli alimenti secondo modalità diversificate, tra queste il calore è quello maggiormente usato, il cui impiego, però, è limitato dal mantenimento del profilo organolettico del prodotto; infatti, non è possibile l'impiego di temperature estreme, che modificherebbero il prodotto.

I metodi utilizzati sono:

1. Pastorizzazione: comporta la distruzione dei patogeni, degli enzimi e delle forme vegetative.

2. Sterilizzazione UHT: vede l'utilizzo di temperature elevate che preservano le qualità organolettiche garantendo comunque la sterilità del prodotto.

MICROSCOPIA

BATTERIOLOGIA DI BASE

Quando si parla di batteri, è opportuno considerare la vasta diversità che risiede in questa classe, sia dal punto di vista della morfologia e dalla dimensione, ma anche dalla funzione che essi svolgono.

Per batteri, si intendono organismi unicellulari che rappresentano gli organismi più piccoli in grado di autoduplicarsi. Nella cellula batterica, la relazione struttura-funzione è molto stretta, in quanto essa costituisce un organismo autonomo che deve essere in grado di provvedere a tutte le proprie necessità, nel minimo spazio possibile. Le dimensioni delle cellule batteriche sono piuttosto ridotte, ma variano da specie a specie:

- la larghezza può variare da 0.2nm a 2nm;
- la lunghezza può variare da 2nm a 6nm.

fra i batteri più piccoli è possibile trovare le clamidie o bedsonie, organismi che risultano essere patogeni per l'uomo. Una forma coccoide, possiede un diametro non superiore a 0.5nm. Differentemente, una cellula di candida, risulta avere dimensioni che si aggirano attorno ai 30-40nm.

Proprio in base alla struttura degli organismi, è possibile effettuare una prima e generale classificazione di essi in eucarioti, procarioti e virus. Gli eucarioti sono organismi con nucleo e membrana cellulare, la cui architettura è simile a quella degli organismi pluricellulari. In essi si distinguono protozoi (organismi unicellulari e eucarioti), miceti (organismi eucarioti che appartengono al regno funghi) e funghi. I procarioti sono organismi nei quali il materiale genetico non è racchiuso da membrana nucleare. Di questa classe fanno parte i batteri, organismi unicellulari di varie forme.

I virus sono organismi privi di qualsiasi struttura cellulare. Sono visibili esclusivamente al microscopio elettronico e la loro struttura è molto semplice; la loro prerogativa è quella di potersi riprodurre solo all'intero di una cellula. Sono formati esclusivamente da acido nucleico e proteine.

Sono definiti come endoparassiti cellulari obbligati. Questi organismi non hanno un'altissima capacità di sopravvivenza all'ambiente esterno, infatti, possono essere anche distrutti attraverso raggi UV.

In base alla forma, i batteri si possono suddividere in:

1. Cocchi: batteri di forma sferica;
2. Bacilli: batteri dalla forma cilindrica e con le estremità che possono presentarsi ad angolo retto, arrotondate o affusolate;
3. Coccobacilli: con una forma variabile da tonda ad ovalare ad allungata;
4. Vibrioni: bastoncini ricurvi su un solo piano, a forma di virgola;
5. Spirilli o spirochete: batteri ricurvi su più piani.

I batteri, però, non si differenziano esclusivamente in base alla dimensione o alla forma; infatti, i batteri che presentano la stessa morfologia possono aggregarsi a formare strutture più complesse ed è il caso dei diplococchi e streptococchi. Un altro

esempio risultano essere gli stafilococchi. Anche le forme bacillari possono disporsi a catenella: è il caso di streptobacilli e diplobacilli.

CARATTERISTICHE GENERALI DELLA CELLULA BATTERICA

I batteri presentano delle strutture obbligatorie e strutture facoltative.

AREA NUCLEOIDE: area del batterio in cui vengono raccolti gli acidi nucleici. I batteri non hanno un nucleo; perciò, il nucleoide presenta un DNA circolare unico a doppia elica (corredo cromosomico aploide; invece, di avere due copie di ogni cromosoma, la cellula aploide possiede una sola copia di ogni cromosoma presente in un organismo). Il cromosoma batterico può essere osservato esclusivamente durante la divisione cellulare, dove il materiale si replicherà e si sposterà verso i poli opposti del batterio.

CITOPLASMA: è una massa granulare in cui non sono presenti le strutture reticolari osservabili nella cellula eucariotica, ma vi è:

- glicogeno e lipidi utilizzati come materiale di riserva;
- polisaccaridi come amidi e amilopectine;
- inclusioni con membrana, strutture essenzialmente di natura lipidica, come i carbossisomi che fungono da deposito per componenti di riserva, alimentazione e anche per la divisione;
- inclusioni sprovviste di membrana, granuli di polifosfati e granuli di zolfo;
- enzimi localizzati a contatto con la parte interna della membrana citoplasmatica, qui la fosforilazione ossidativa, il ciclo di Krebs avvengono sulla faccia interna della membrana, il quale compito è quello di svolgere le funzioni metaboliche.

Queste entità non sono fisse all'interno della cellula batterica, a differenza dell'area nucleoide e dei **ribosomi**. Questi ultimi, a causa dell'assenza del reticolo endoplasmatico, tendono ad addossarsi alla membrana citoplasmatica, perché a livello della stessa, sono presenti tutti gli enzimi respiratori e le fonti energetiche. Sono costituiti per il 60% da RNA e il 40% di proteine.

Sono ribosomi che risultano essere perennemente dissociati, se non mentre svolgono il loro compito. Anche nei batteri, i ribosomi svolgono la sintesi proteica, il cui processo è analogo a quello della cellula eucariotica.

Vi sono poi anche i **plasmidi**, dei frammenti di DNA extracromosomico liberi nel citoplasma. Si tratta di anelli di DNA e possono essere sia liberi nel citoplasma, che essere intrappolati all'interno del cromosoma. Anche i plasmidi trasportano caratteristiche decisive che hanno a che fare con la capacità di sintesi di determinate tossine o di resistenza agli antibiotici. Questo avviene perché una prerogativa dei plasmidi è quella di poter essere trasferiti da una cellula batterica all'altra; questo vuol dire che caratteristiche di patogenicità possono essere acquisite e proprio per questi eventi, i batteri non possono essere definiti come delle forme fisse.

MEMBRANA CITOPLASMATICA: la sua funzione è quella di separare il materiale citoplasmatico dall'ambiente esterno. Simile alla membrana degli eucarioti, è fondamentale costituita da un doppio strato fosfolipidico dello spessore di circa 75 Å, nel quale sono immerse proteine aventi diverse funzioni. È considerato il primo involucro attorno al citoplasma batterico.

Le componenti lipidiche sono date da: fosfolipidi, aminoacidi esterificati con glicogeno e acidi grassi a catena ramificata e derivati del ciclopropano. La componente proteica

vede la presenza di proteine che possono essere integrali, cioè attraversano lo strato lipidico da entrambe le parti, oppure periferiche e non sono mai glicosilate.

La membrana citoplasmatica svolge diverse funzioni, molte delle quali analoghe a quelle che vengono svolte dalla membrana degli eucarioti:

1. Ritenzione del contenuto cellulare;
2. Barriera osmotica e selettiva;
3. Processi biosintetici;
4. Trasporto di metaboliti: trasporto passivo, attivo con carrier senza dispendio di energia e trasporto attivo con dispendio di energia;
5. Secrezione di enzimi extracellulari e altre proteine;
6. Fosforilazione ossidativa e conseguente produzione di energia;
7. Supporto di molecole trasportatrici.

Sulla superficie esterna della membrana citoplasmatica sono presenti dei recettori di origine proteica che legano le molecole in grado di attivare funzioni specifiche: le Penicilling Binding Protein. Rivestono un ruolo fondamentale per il mantenimento fisiologico della cellula e della sua integrità strutturale; esse sovrintendono l'allungamento del peptidoglicano, ossia la componente fondamentale della parete cellulare.

Molto spesso, quando si parla della membrana plasmatica, si distingue la regione idrofobica da quella idrofila: la zona idrofobica è quella più interna, in corrispondenza della quale sono presenti le strutture filamentose.

È importante citare la presenza di particolari proteine che risultano essere importanti perché possono assumere strutture complesse che determinano il passaggio di sostanze. La loro posizione all'interno della membrana può essere variabile, in quanto alcune attraversano completamente la membrana, mentre altre sono più periferiche.

L'organizzazione delle proteine costituisce un "sistema di galleggiamento" vero e proprio: questa struttura non deve essere considerata fissa, ma le proteine possono muoversi nello spazio perché la funzione primaria della membrana è proprio il permettere l'uscita o l'ingresso delle sostanze. I rapporti sono regolati sia dalla carica della proteina, che dall'ingombro sterico di essa.

Ci sono anche altre strutture di natura diversa, come gli opanoidi, ossia catene particolari di natura aromatica e lipidica, che fungono da componenti strutturali della membrana stessa. La membrana ha un rapporto diretto con la parete cellulare ed è coinvolta nella stabilizzazione della parete stessa: esse risultano essere perfettamente integrate.

Una delle differenze tra la membrana plasmatica di un batterio e quella di un microrganismo eucariotico, è l'assenza degli steroli, che rende la membrana più flessibile. La membrana risulta essere polarizzata perché esistono delle pompe ioniche che permettono il passaggio di ioni all'esterno e all'interno della membrana stessa.

MESOSMI: sono delle invaginazioni della membrana citoplasmatica, compaiono all'atto della divisione della cellula batterica. Nei Gram positivi i mesosomi sono più accentuati perché essi presentano un complesso genomico il cui DNA risulta essere più compatto. Possono comparire in tempi diversi all'interno dei batteri: essi si formano sia nella replicazione cellulare, ma hanno anche un ruolo fondamentale nella formazione del cross-wall (setto trasverso; si riferisce a una struttura che separa le cellule figlie in organismi procarioti, come nei batteri. Questo setto è una parete cellulare che si forma

durante la divisione cellulare, tipicamente attraverso un processo chiamato **fissione binaria**. Nel caso specifico dei batteri, il setto trasverso si forma all'interno della cellula madre durante la **citocinesi** e separa le due cellule figlie che si stanno formando): i due capi laterali si uniscono, con un'attiva sintesi della parete cellulare. Alla fine, i due lembi si uniscono e c'è la divisione della cellula batterica. Questo tipo di divisione si chiama scissione binaria ed è, per certi versi, simile ad una mitosi. La formazione del setto può coincidere anche alla formazione di una spora: essa è circondata da una parete grazie alla quale può sopravvivere.

Sono invaginazioni della membrana citoplasmatica, che assumono configurazioni diverse. Si trovano solo nei batteri Gram positivi poiché questi ultimi hanno un nucleotide più compatto rispetto ai Gram negativi per cui al momento della replicazione del DNA, quando c'è bisogno di energia, trovandosi più lontano dalla membrana, esso non è in grado, senza aiuto, di attuare la duplicazione. Per questo motivo, nei Gram positivi, è la membrana che forma dei prolungamenti, detti mesosomi, apportando direttamente energia al nucleotide.

La forma più usuale del mesosoma è di tipo vescicolare. Rispetto alla membrana citoplasmatica, la struttura varia: sono meno ricchi di enzimi e le percentuali di proteine e fosfolipidi non sono le stesse.

PARETE CELLULARE

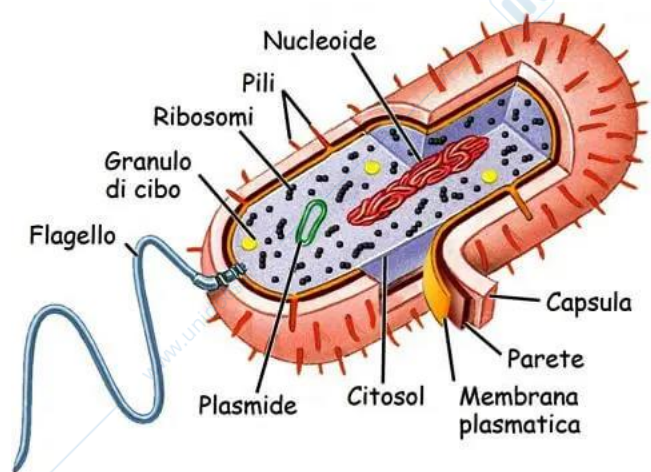
Sezione cellula batterica: è possibile notare la presenza dell'area nucleotide che viene identificata dal filamento di DNA complessato alle proteine.

È possibile notare, lateralmente, il plasmide, di forma circolare modificabile. Inoltre, si nota la stratificazione verso l'ambiente esterno, dovuta alla presenza della parete cellulare: al di sotto di essa vi è la membrana cellulare.

Vi è un ulteriore rivestimento esterno, che è dato dalla capsula: essa, però, non è prerogativa di tutti i batteri. Ne sono forniti solo alcune specie ma, in genere, non è detto ne sia presente. La parete e la membrana sono strettamente connesse, ma lo stesso ragionamento non può essere fatto per la capsula.

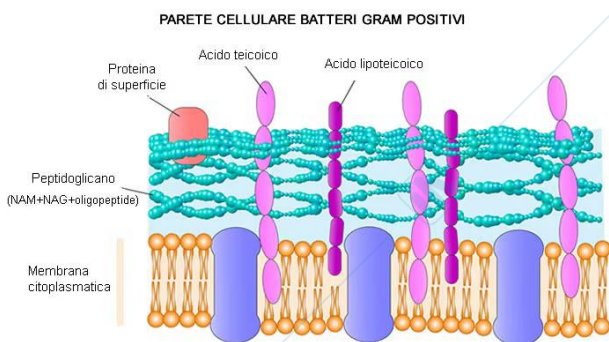
La parete cellulare possiede diverse funzioni:

- Protezione meccanica: anche nel caso dei microrganismi si può parlare di compressione e schiacciamento perché anche la parete batterica offre resistenza.
- Protezione chimica: sostanze nocive per il microrganismo vengono fermate dalla parete.
- Protezione osmotica: la parete cellulare offre anche un controllo delle concentrazioni tra l'ambiente esterno e l'ambiente interno al microrganismo, in quanto, a causa di un eccessivo assorbimento di acqua ci potrebbe essere un'esplosione del batterio.



- Forma.
- Trasporto: la parte cellulare non può essere considerata come una barriera insuperabile, come la membrana.
- Funzione antigenica e immunitaria: sulla superficie della parete sono presenti delle molecole di riconoscimento specifico da parte dell'ospite e immunoregolatrici.
- Virulenza: se la parete cellulare offre resistenza alle sostanze, è possibile che essa impedisca l'ingresso agli antibiotici.
- Ancoraggio: capacità adesiva, attraverso determinate sostanze, ai tessuti delle cellule dell'organismo.
- Metabolismo: rapporti che il batterio possiede e crea con l'ambiente esterno. Il batterio non può essere considerato nocivo ed estraneo, perché in alcuni casi possono essere il contrario.
- Colorazione: proprio grazie alle diverse caratteristiche della parete batterica, i batteri possono reagire diversamente alle colorazioni e possono essere classificati in Gram positivi e negativi.

PARETE BATTERICA DEI GRAM POSITIVI



La parete batterica dei Gram positivi contiene una quantità preponderante di un complesso glicoproteico, il peptidoglicano, al quale sono legati altri polimeri come acidi teicoici e lipoteicoici ed alcune molecole di zuccheri come mannosio e galattosio. Il peptidoglicano è altamente polare e fornisce al batterio una superficie idrofila. I filamenti verticali presenti nella membrana dei Gram positivi sono

rappresentati dal peptidoglicano, una molecola fondamentale. Nei Gram positivi si trova un pluristrato di peptidoglicano, che è decisivo per il loro riconoscimento. Al di sotto della parete cellulare, si osserva la membrana citoplasmatica. Tra le due strutture, è presente il cosiddetto spazio periplasmatico.

Il peptidoglicano è un polimero ed è rappresentato dalla successione di due amminozuccheri: l'*N*-acetilmuramico e *N*-acetilglucosammina. Queste due catene si alternano nella struttura del peptidoglicano e possono sovrapporsi tra di loro, formando un reticolo tridimensionale. I monomeri che costituiscono le catene sono costituiti da legami beta (1,4). Questi legami tengono insieme tutto il reticolo tridimensionale, rendendolo elastico e resistente. Il legame può essere rotto per mezzo di un enzima che prende il nome di lisozima.

Nei batteri Gram positivi, un corto peptide omopolimerico amplia il legame crociato e unisce la quarta *D*-alanina di una catena con l'ultimo amminoacido attaccato alla *L*-lisina della catena successiva. Il legame, detto transpeptidazione, avviene per mezzo di enzimi e l'energia necessaria alla formazione è fornita dal distacco dell'ultima *D*-alanina presente sul monomero. Questo legame prevede l'ingresso di un ponte amminoacidico che, nel caso dello stafilococco è formato da cinque glicine: per questo, il ponte viene detto ponte di pentaglicine.

Nei Gram negativi, invece, è presente un singolo strato di peptidoglicano e, N-acetilmuramico e N-acetilglucosammina sono legati direttamente.

Legati covalentemente al peptidoglicano, è possibile osservare gli acidi tecoici; mentre gli acidi lipoteicoici risultano essere ancorati alla membrana citoplasmatica mediante un acido grasso legato covalentemente.

Acidi tecoici e lipoteicoici sono componenti che si trovano esclusivamente nella struttura dei batteri Gram positivi: essi sono componenti essenziali per la struttura della parete stessa perché forniscono stabilità. Possono diventare componenti fondamentali per l'adesività del batterio sulle superfici, ossia la capacità del batterio di aderire e legarsi ad un substrato. Gli acidi tecoici e lipoteicoici, così come frammenti del peptidoglicano o esso stesso, possono fungere da antigeni (cioè di stimolare una risposta immunitaria nel corpo. Un antigene è generalmente una molecola che può essere riconosciuta come estranea dal sistema immunitario e che induce la produzione di anticorpi o attiva altre risposte immunitarie per difendere l'organismo).

Gli acidi tecoici possono essere considerati come dei polimeri di alcoli polivalenti esterificati con acido fosforico, monosaccaridi o amminoacidi, con funzione di protezione e adesione. Essi possono rilasciare monochine nel processo di infiammazione (componente antigenica).

La parete dei Gram positivi non deve essere considerata come una barriera, ma la presenza di proteine strutturali ed enzimatiche, in alcune specifiche condizioni, permettono il passaggio di sostanze.

PARETE BATTERICA DEI GRAM NEGATIVI

La barriera dei Gram negativi risulta essere ancorata alla membrana citoplasmatica, la quale presenta delle proteine trasportatrici che legano un singolo strato di peptidoglicano.

La parete di Gram negativi risulta essere più complessa rispetto a quella dei Gram positivi. Possiedono all'esterno dello strato del peptidoglicano una membrana esterna, che risulta essere ancorata al peptidoglicano. La membrana esterna ha una struttura biologicamente simile a quella citoplasmatica: la presenza di essa, comporta l'esistenza di un doppio foglietto lipoproteico, che fornisce un'ulteriore barriera di permeabilità per numerosi composti carichi elettricamente.

La membrana esterna contiene alcune strutture peculiari, a carattere lipoproteico che le conferiscono caratteristiche originali e importanti del punto di vista fisiologico e patologico. Queste strutture risultano essere collegate, per mezzo di catene costituite da atomi di carbonio, al peptidoglicano.

L'assenza di un groviglio di peptidoglicano non deve essere intesa come una semplicità o labilità maggiore della membrana: questo perché lo strato fosfolipidico della membrana esterna risulta essere, dal punto di vista chimico, molto complesso e impedisce un facile attraversamento delle sostanze.

Le strutture che caratterizzano la struttura della membrana esterna sono:

- Porine: complessi proteici che funzionano come canali preferenziali per il passaggio di piccole molecole cariche elettricamente. Molecole con un peso molecolare maggiore a questo possono entrare all'interno della cellula batterica per mezzo dell'endocitosi (processo cellulare attraverso il quale una cellula "ingloba" materiale esterno, racchiudendolo in una

vescicola che poi si stacca dalla membrana plasmatica e viene trasportato all'interno della cellula).

- Lipopolisaccaride: è situato nel foglietto esterno della membrana esterna, di cui rappresenta quasi la metà delle molecole presenti, organizzando a costruire una barriera verso sostanze nocive per il batterio. L'LPS è formato da 3 sezioni:
 1. Lipide A: è la parte intrinseca al doppio strato fosfolipidi o della membrana esterna. Risulta essere una componente tossica, che viene anche chiamata endotossina e svolge un'importante azione nella patogenicità del batterio. È costituito da alcuni acidi grassi a 12-18 atomi di carbonio legati ad un dimero di glucosammina; la sua azione viene svolta principalmente dalle cellule fagocitarie, che inglobando e lisciviando il batterio, liberano e rendono attiva la tossina.
 2. Core polisaccaridi o: in posizione centrale. Esso ha una variabilità inferiore ed è meno importante dal punto di vista antigenico. Anch'esso è formato da zuccheri.
 3. Antigene O: la sua funzione ha carattere immunitario, che risulta essere specifico per ogni specie batterica. È costituito da zuccheri ripetuti variamente assortiti che risultano essere specifici. Questo vuol dire che, per ogni specie batterica ci sarà una sequenza di carboidrati specifica.

In alcuni casi è presente anche il cosiddetto antigene H.

Per quanto riguarda la sensibilità al succo gastrico: esso, nell'organismo umano non ha solo il compito di degradare il cibo da cui vengono assorbiti i nutrienti, ma ha anche la funzione di barriera antibatterica. Esso, però, agisce scarsamente nei confronti dei Gram negativi.

STRATO MUCOSO, CAPSULA, GLICOCALICE

All'interno dei batteji, ci sono strutture obbligatorie, ma anche strutture che sono proprie esclusivamente di alcune specie: lo strato mucoso, la capsula e il glicocalice. Essi sono rivestimenti formati da sostanze secrete dal batterio, presenti all'esterno della parete.

- Strato mucoso: rivestimento esterno di natura proteica o glucidica non organizzata, lassa e adesa alla parete cellulare.
- Capsula: in essa i polisaccaridi risultano essere organizzati in una vera e propria struttura compatta. Essa presenta una carica superficiale positiva, e risulta essere fortemente adesa alla parete della cellula batterica che, invece, presenta una carica negativa.

La capsula presenta un fattore di virulenza e ha una funzione protettiva perché isola il batterio dall'ambiente esterno. Il batterio patogeno capsulato viene comunque inglobato dal fagocita, ma grazie alla capsula è in grado di resistere alla sua distruzione riuscendo, in alcuni casi, ad uccidere il fagocita.

- **Glicocalice:** alcuni batteri, pur non possedendo una vera capsula, sono in grado di costruire una formazione reticolare di natura proteica o glucidica, che appare gelatinosa o viscosa e si posiziona esternamente rispetto alla membrana esterna nei Gram negativi. Il glicocalice permette di aderire tenacemente a cellule e anche strutture inanimate. I batteri che sono in grado di costruire il glicocalice risultano essere un grande problema in quanto sono capaci di formare un biofilm tenace e impenetrabile ai farmaci e spesso si deve ricorrere alla rimozione delle strutture inanimate.

BIOFILM

È formato da batteri adesi alla superficie mediante adesine ed è in contatto tra loro mediante esopolisaccaridi. È una struttura dinamica che permette il movimento dei batteri, il quale aumenta la sintesi di flagellina

ADESIONE E MOVIMENTO

L'adesione è un fenomeno imprescindibile nella vita dei batteri e si può realizzare attraverso gli acidi tecoici e lipotecoici nei Gram positivi e tramite l'antigene O nei Gram negativi: si tratta di vere e proprie molecole e, assieme ad esse, ci sono delle strutture macroscopiche, più articolate che adempiono alla stessa funzione.

PILI

Sono delle strutture facoltative le cui dimensioni risultano essere piuttosto variabili. Sono presenti in numero variabile: essi non conferiscono mobilità al batterio, ma permettono di aderire alle cellule. Si tratta di strutture di origine non citoplasmatica, ma di natura proteica e costituite principalmente da pilina.

Il pilo F permette il trasferimento genico da una cellula all'altra, una volta che i due batteri si sono uniti: in pratica funge da ponte per il passaggio del DNA e consente il fenomeno della coniugazione batterica.

FIMBRIE

Le fimbrie possono essere considerate simili ai pili: le differenze tra di essi risiedono nel fatto che le fimbrie risultano essere delle appendici filamentose presenti sulla superficie batterica, più esili dei pili e mai cave.

Hanno un ruolo fondamentale nel fenomeno di adesione in quanto presentano un contenuto proteico nettamente superiore a quello dei pili. Sono strutture osservabili esclusivamente nei Gram negativi e vengono sostituite, nei Gram positivi, dalle fibrille, nelle quali risiede una particolare proteina la cui funzione è analoga a quella delle adesine.

FLAGELLI

I flagelli sono delle strutture complesse esterne, lunghe e sottili costituite da tre fibrille elicoidali unite a formare un filamento di flagellina che permettono una velocità di moto decisamente superiore rispetto agli eucarioti. Risultano essere presenti in quasi tutte le forme bacillari batteriche e risultano essere molto simili tra di esse.

SPORA BATTERICA

