

CELLULA BATTERICA DIMENSIONI, FORMA E AGGRUPPAMENTO

La cellula batterica è una cellula procariotica, di piccole dimensioni, la cui forma può essere la sfera o il cilindro. I batteri di forma sferica prendono il nome di **cocchi**, quelli di forma cilindrica prendono il nome di **bacilli**. I batteri di forma cilindrica, se sono particolarmente corti sono detti **cocco-bacilli**, se presentano le estremità assottigliate sono detti **bacilli fusiformi**, quando abbiamo una o più curvature lungo l'asse maggiore sono detti **vibrioni o spirilli**. Spesso le singole cellule che si producono mantengono, uno stretto rapporto di continuità dando origine a caratteristici aggruppamenti. Tra i **cocchi**, gli aggruppamenti più frequenti sono quelli dei **diplococchi** quando i batteri sono per lo più riuniti a due a due, a **stafilococco**, quando danno luogo ad ammassi irregolari, a **streptococco** quando si dispongono in catenelle. Tra i **bacilli**, in cui la divisione cellulare avviene sempre lungo l'asse minore della cellula, gli aggruppamenti possibili sono quelli a **diplo-bacillo** o **streptobacillo**.

Colorazione di gram

Poiché, le cellule batteriche hanno dimensioni modeste, con l'osservazione al microscopio ottico, il tipo di informazione che si può ottenere è generico. Normalmente l'osservazione microscopica viene condotta nei confronti di batteri colorati con varie metodiche, allo scopo di aumentare il contrasto (nella colorazione batteriologica è possibile usare solo coloranti basici). Le colorazioni utilizzate si differenziano in **semplici e differenziali**. Le semplici sono quelle che si eseguono mettendo a contatto, in un solo tempo, un unico colorante con il preparato contenente i batteri da colorare ed hanno, solo lo scopo di agevolare rilevazioni morfologiche. Esempi di coloranti usati sono: **crystalvioletto e blu di metilene**. Le colorazioni differenziali presuppongono invece l'impiego di più coloranti, usati in tempi successivi, e consentono di evidenziare differenze di colorazione tra specie diverse, o individuare particolari strutture intracellulari. Il più importante metodo di colorazione differenziale è **il metodo gram**. La colorazione si esegue in questo modo: il preparato viene trattato con una soluzione di **crystalvioletto** per 2-3min, si allontana il colorante e si mordenzia la colorazione (ossia usare sostanze che rendono più stabile l'unione del colorante) mediante un trattamento per 1min con una soluzione di **iodio e ioduro di potassio in acqua**, a questo punto il preparato è trattato per 1-2 min con un **decolorante** e infine per altri 1-2 min con un secondo colorante (**fuxina,safranina**) di colore differenziabile (rosso) da quello del primo colorante usato(violetto). Al termine, alcuni batteri appaiono colorati di violetto (il decolorante non riesce a portare via il violetto) e sono detti **Gram-positivi**, altri batteri che invece assumono il colore rosso sono detti **Gram-negativi**. Il diverso comportamento dei batteri al colorante è riconducibile ad una diversa permeabilità degli involucri cellulari, che è maggiore nei G-N e minore nei G-P. Questa differenza quindi si accompagna ad una diversa architettura molecolare che si riflette anche nel meccanismo dell'azione patogena.

ARCHITETTURA DELLA CELLULA PROCARIOTICA

Piccole dimensioni, assenza di compartimenti cellulari separati da membrana. Fondamentalmente essa è costituita da una struttura cromosomica immersa nel citoplasma. Il citoplasma è limitato verso l'esterno da una membrana citoplasmatica dalla quale si dipartono, verso l'interno del citoplasma, una serie di invaginazioni che formano il sistema dei **mesosomi**. In alcune specie batteriche, la cellula è provvista di **flagelli**, che sono lo strumento di locomozione, e **dai pili o peli**.

Il cromosoma (nucleoide) batterico

il nucleo è, quella zona della cellula in cui è localizzato il **DNA**. nella cellula batterica è possibile identificare, all'interno del citoplasma, una o più aree, formate da un materiale filamentoso, immerso direttamente nel citoplasma dal quale non è separato da alcune strutture o membrane visibili. Il materiale filamentoso è costituito da **DNA** ed è denominato **nucleoide**. Il DNA appare costituito da un unico lunghissimo filamento con struttura circolare. Quindi tale struttura può essere considerata l'equivalente di un cromosoma (**cromosoma batterico**). Il DNA nei batteri non è legato ad **istoni** ed è complessato bassamente ad alcune proteine acide da cui è facilmente dissociabile. Molto spesso una cellula batterica contiene più di un cromosoma, ed una caratteristica abbastanza peculiare è data dal fatto che il cromosoma è collegato alla membrana batterica, in corrispondenza di zone caratteristiche. Oltre al cromosoma, la maggior parte dei batteri possiede, un certo numero di molecole di **DNA**, sempre a struttura circolare e di dimensioni minori rispetto al cromosoma denominate **plasmidi** dotate di una relativa autonomia replicativa.

Il citoplasma e le inclusioni citoplasmatiche. I ribosomi batterici.

Nel citoplasma batterico, in genere povero di dettagli morfologici, occasionalmente sono presenti granulazioni citoplasmatiche che hanno di norma il significato di accumuli di materiale nutritivo di riserva. Più frequentemente si tratta di accumuli di **glicogeno**, di un polimero di **beta-idrossibutirrico**, di **polisaccaridi** o di **polifosfati**. Nel citoplasma sono presenti i **ribosomi** per la sintesi proteica. I ribosomi procariotici, presentano alcune fondamentali differenze da quelli eucariotici, sono formati da **RNA** (60%) e proteine (40%) e sono costituiti da due subunità asimmetriche che hanno una costante di sedimentazione di **30 S** e di **50 S**. La **30 S** è formata da **21 proteine** e da una molecola di **RNA 16 S**, mentre la **50 S** è formata da **34 proteine** e da 2 specie di **RNA (5S e 23 S)**.

La membrana citoplasmatica

La membrana citoplasmatica della cellula batterica ripete fondamentalmente l'organizzazione delle membrane cellulari eucariotiche e come questa è formata da lipidi, proteine e piccole quantità di carboidrati, ha uno spessore di circa **80 Å** ed è formata da un tipico doppio strato fosfolipidico nel quale sono inserite diverse proteine. Tuttavia si differenzia da quella delle cellule eucariotiche per la **composizione lipidica** relativamente semplice, in cui gli **acidi grassi poliinsaturi** si trovano raramente invece sono frequenti gli **acidi grassi ramificati** e derivati del **ciclopropano**, mentre gli **steroli** sono assenti. D'altro canto, una classe di composti policiclici denominati **opani**, sono largamente presenti nelle membrane citoplasmatiche batteriche ed è possibile che essi abbiano la stessa funzione di stabilizzazione svolta dagli steroli. Le proteine presenti sono di norma non **glicosilate**. La quota di carboidrati presenti è data esclusivamente da quella legata alla componente lipidica di **glicolipidi** e **glicosfingolipidi**. La membrana citoplasmatica batterica è inoltre sede di alcuni **processi biosintetici** e, nei batteri in grado di produrre **ATP** attraverso un processo di respirazione, la membrana è la sede degli enzimi e dei vettori della catena respiratoria, deputati ai processi di **fosforilazione ossidativa**.

Mesosomi

La membrana citoplasmatica presenta delle invaginazioni che si approfondano nel citoplasma. A queste strutture, denominate **mesosomi**, sono state attribuite funzioni in rapporto alla divisione cellulare, alla secrezione di coenzimi ed ai processi di fosforilazione ossidativa.

Il sacco o parete cellulare

Una caratteristica della cellula batterica è quella di essere racchiusa in un contenitore rigido che ne condiziona la forma, chiamato, **sacco o parete cellulare**. La parete è piuttosto complessa e con profonde differenze tra batteri **G-P** e **G-N**. I **G-P** presentano la membrana citoplasmatica, con la tipica sezione trilaminare delle membrane biologiche, circondata all'esterno da uno strato denso di elettroliti, apparentemente omogeneo. Nei **G-N** gli involucri esterni sono formati da 3 strati diversi che procedendo dall'interno verso l'esterno, sono costituiti da: la membrana come nei **G-P**, uno strato di materiale apparentemente omogeneo e denso molto più sottile che nei **G-P**, un'ulteriore struttura a sezione trilaminare che avvolge all'esterno la cellula batterica. Nell'uno e nell'altro gruppo, infine, la superficie esterna è di norma circondata da uno strato di materiale mucoso di spessore variabile che prende il nome di **strato mucoso o capsula**. Il componente fondamentale della parete cellulare è rappresentato dal **peptidoglicano**. L'unità strutturale del peptidoglicano è formata da 2 carboidrati azotati di cui uno **N-acetilglucosamina**, e l'altro, **l'acido muramico**. Questi 2 sono legati tra loro mediante un legame **beta 1-6**. al gruppo carbossilico dell'acido muramico è legato un **tetrapeptide** i cui aa sono più frequentemente rappresentati da: **L-analina, acido D-glutamico, L-lisina**. Nel peptidoglicano, l'acido muramico di un'unità strutturale è legato all' N-acetilglucosamina dell'unità successiva, portando alla formazione di lunghe macromolecole lineari. I diversi polimeri lineari sono poi collegati tra di loro trasversalmente in corrispondenza del tetrapeptide, mediante legami peptidici, forma così una rigida struttura che avvolge interamente la cellula batterica.

Gli involucri esterni dei batteri G-P.

Nei **G-P** la membrana citoplasmatica è protetta da una parete cellulare molto **spessa (200-800Å)** che circonda e racchiude completamente il batterio, formata da numerosi strati di peptidoglicano con intersecare minori quantità di altri polimeri, **acidi teicoici**. Questi acidi sono polimeri di **alcoli polivalenti esterificati con acido fosforico**, cui possono legarsi a loro volta numerosi monosaccaridi e/o aa, gli **acidi teicoici** sono altamente **antigenici** e presentano una notevole diversità di composizione nelle diverse specie di **G-P**. la funzione si pensi sia ricondotta ad ancorare la parete cellulare alla membrana citoplasmatica sottostante. La spessa parete dei **G-P** è altamente **polare**, e quindi si oppone al passaggio delle **molecole idrofobiche**, è in grado di legare grandi quantità di cationi che probabilmente hanno il compito di garantire un ambiente ionico adeguato al funzionamento degli enzimi presenti nella membrana citoplasmatica. La proprietà di fissare i cationi da ai **G-P** la capacità di tollerare concentrazioni saline molto elevate rispetto a quelle dei **G-N**. la parete consente a questi batteri di sopravvivere in ambiente **ipotonico**, impedendo l'assunzione di acqua.

Parete cellulare e colorazione gram.

La presenza della parete nei **G-P** è alla base della caratteristica della gram-positività. Infatti il cristalvioletto e lo iodio veicolati sono idrofili e attraversano la parete, ma all'interno assumono caratteristiche idrofobiche che non lo fa riuscire anche in presenza di solventi.

Gli involucri esterni dei micobatteri

La cellula **micobatterica**, presenta all'esterno uno strato di **peptidoglicano**, che a sua volta è ricoperto, verso la superficie cellulare esterna, da una complessa struttura particolarmente ricca di carboidrati e lipidi che legano al peptidoglicano una serie di particolari acidi grassi, denominati **acidi micolici**, cui sono ulteriormente legate (a formare strutture del tipo delle cere) una serie di molecole di **glicolipidi fenolici**. Ciò rende i **micobatteri** protetti da una vasta serie di sostanze

potenzialmente dannose. Tali batteri sono difficilmente penetrabili dai coloranti usati in batteriofagia, ma una volta colorati, resistono alla decolorazione. Poi c'è un sensibile rallentamento negli scambi selettivi di nutrienti ed altre molecole con l'ambiente e nel lungo periodo di duplicazione cellulare.

Gli involucri esterni dei gram-negativi

I **G-N** possiedono una parete cellulare formata esclusivamente da **peptidoglicano**, più sottile di quella **dei G-P**. In genere la parete non è in grado di contrastare a sufficienza il transito di molecole idrofobiche. I **G-N** hanno una seconda membrana cellulare esterna che avvolge la cellula al di fuori della parete cellulare. Questa è profondamente diversa nella sua composizione dalle usuali membrane biologiche. Essa ha sì una struttura **bilaminare**, ma con un'organizzazione asimmetrica. Mentre il foglietto interno è formato da **fosfolipidi**, quello esterno anziché di fosfolipidi è formato dal **lipopolisaccaride batterico (LPS)**. La molecola di **LPS** è formata da 3 porzioni:

- **una porzione lipidica**, denominata **lipide A**, che rappresenta l'**endotossina**, rappresentata da un glicolipide formato da un disaccaride **fosforilato**, esterificato con una serie di acidi saturi da 12 a 16 C, al lipide A è ancorata la porzione polisaccaridica composta da 2 parti
- **una corta catena di zuccheri**, che forma la parte centrale (**core**), con una struttura costante formata dalla presenza di 2 zuccheri peculiari: **acido chetodeossioctonico ed un eptoso**.
- **una lunga catena polisaccaridica** con spiccate proprietà antigeniche (**antigene O**), formata dalla ripetizione di subunità **di tri-tetra-pentasaccaridi**, che comprendono zuccheri diversi, nelle diverse specie batteriche cui conferiscono quindi una peculiare e specifica configurazione antigenica. Le varie catene polisaccaridiche sono strutture polari in grado di legare cationi bivalenti che formano dei ponti tra le diverse catene polisaccaridiche, fornendo al rivestimento una certa compattezza. La polarità delle catene polisaccaridiche e dei cationi contribuisce all'esclusione di composti idrofobici, e consente a causa anche della sua natura lipidica gli scambi selettivi tra citoplasma e ambiente esterno. La membrana esterna è dotata di canali specifici che consentono la diffusione passiva di numerose molecole idrofile come zuccheri, aa e alcuni ioni minerali. Questi canali consistono di particolari molecole proteiche denominate **porine**, che in coppia o trimeri attraversano la membrana esterna. I canali di **porine** consentono la diffusione passiva di composti idrofili con dimensioni minori di **600-700 dalton**. Per l'ingresso di molecole più grandi è necessario la presenza di **carrier**. La membrana esterna è collegata alla sottile parete cellulare contigua al foglietto fosfolipidico interno, attraverso una serie **di lipoproteine**, un terzo delle quali sono collegate covalentemente al peptidoglicano sottostante, anche le porine contribuiscono al legame attraverso interazioni non covalenti.

Periplasma o spazio periplasmatico

Il doppio sistema di membrane che avvolge i batteri **G-N**, comporta la delimitazione di un compartimento ben definito, all'esterno della membrana citoplasmatica che prende il nome di **spazio periplasmatico o periplasma**. Questo compartimento contiene oltre alla struttura del peptidoglicano, una sorta di gel di proteine con varie funzioni: **proteine** in grado di legare molecole idrofile di basso p.m. **enzimi** in grado di degradare le grosse molecole introdotte in modo da ridurle a dimensioni compatibili al passaggio attraverso i sistemi di trasporto della membrana citoplasmatica, **enzimi detossificanti** in grado di inattivare alcuni **farmaci antibatterici**. La funzione dello spazio periplasmatico, quindi, è soprattutto quella di racchiudere e contenere in uno spazio delimitato intorno al citoplasma, una serie di molecole con varie funzioni che garantiscono una serie di funzioni fisiologiche.

Strato superficiale cristallino

Un grande numero di specie batteriche presenta inoltre un'ulteriore struttura protettiva esterna. Lo **starti cristallino o strato S** che è formato da una serie di subunità proteiche. Il più spesso identiche tra loro e talora legate a carboidrati, che sono disposti a formare un involucro , che avvolge la cellula.

Capsula

Numerosi batteri, presentano un ulteriore involucro mucoso , **la capsula**, che è il risultato della secrezione di materiale , che rimangono adesi alla superficie esterna della cellula cui conferiscono peculiari proprietà di adesività a superfici particolari con la conseguente possibilità per il batterio di colonizzare particolari nicchie ecologiche. Di particolare rilievo per i batteri patogeni è la proprietà **antifagocitaria** posseduta dal materiale della capsula. Il **materiale capsulare batterico**, infine, è un efficace strumento per l'adesione alle superfici mucose o inerti , è il componente essenziale nella formazione del **biofilm** che favorisce grandemente la persistenza del processo infettivo. Quando il materiale capsulare è particolarmente abbondante, le molecole anioniche di **polisaccaride** di cui esso è costituito possono assorbire notevoli quantità di alcuni antibiotici, impedendone l'arrivo, in adeguate concentrazioni, sulla molecola bersaglio. La capsula è fatta da **polisaccaridi** , eccezion fatta per **Bacillus anthracis** che è costituita a **poli-D-glutamato**. La presenza della capsula si evidenzia per contrasto in **preparazioni colorate negativamente** con **inchiostro di china**. I batteri provvisti di capsula sono chiaramente evidenti per il loro alone chiaro.

I flagelli ed il movimento della cellula batterica

Alla superficie della cellula batterica esistono una serie di appendici rappresentate **dai flagelli e dalle fimbrie o pili**. Si tratta di strutture proteiche filamentose formate da numerosi identici monomeri proteici, eliminati all'esterno della cellula attraverso appositi sistemi secretori. Alcune specie batteriche posseggono la capacità di muoversi attivamente per mezzo di particolari organi propulsori rappresentati dai flagelli, la presenza **di flagelli**, tranne per rarissime eccezioni, è una caratteristica esclusiva dei batteri di forma cilindrica, i quali a secondo della zona di inserzione dei flagelli si distinguono in due gruppi: batteri con **flagelli polari** , quando siano presenti esclusivamente ad uno o a tutti e due i poli della cellula, e **batteri pericritici** quando la presenza dei flagelli interessa tutta la periferia cellulare. **I flagelli** sono strutture elicoidali che condizionano il movimento della cellula esclusivamente attraverso la loro rotazione. Un singolo flagello è composto da 3 parti:

- **lungo filamento elicoidale** che protrude dalla cellula per 5-10 μm
- **un gancio tubulare** connesso al
- **corpo basale** che ancora il flagello agli involucri cellulari e rappresenta il motore del movimento rotatorio del filamento.

Il filamento è formato dalla ripetizione di una serie di subunità proteiche di una peculiare proteina chiamata flagellino, che si autoassemblano in una struttura elicoidale. **Le flagelline** sono dotate di spiccate proprietà antigeniche e rappresentano **l'antigene H** dei batteri provvisti di motilità. Il movimento può avvenire in senso orario o antiorario. L'energia che provoca il movimento è generata dal potenziale di membrana durante il trasporto di elettroni nel corso della fosforilazione ossidativa o, nei **Batteri anaerobi**, per **idrolisi di ATP**.

Fimbrie o pili.

Le fimbrie o pili sono il secondo tipo di appendici proteiche che si proiettano al di fuori degli involucri cellulari. Sono formate dalla ripetizione di subunità, di una o 2 caratteristiche proteine

piline specifiche per le varie specie batteriche a formare rigide strutture cilindriche. Alcune proteine, sono presenti all'estremo libero delle fimbrie e conferiscono (**adesine**) alle fimbrie stesse una specifica capacità di legarsi a peculiari substrati. Le fimbrie infatti sono specifici organi di ancoraggio in grado di interagire con vari residui di carboidrati presenti nelle glicoproteina (**mannosio**) membrana di varie cellule animali e sono in grado, quindi, di condizionare, in molte circostanze, l'iniziale colonizzazione della superficie mucosa e l'avvio del processo infettivo.

Gli antigeni dei batteri

La superficie di una cellula batterica deve essere considerata un mosaico di **determinati antigeni**. Gli **acidi teicoici** nei **G-P**, e la componente **LPS** e le **porine** nei **G-N**.

I pigmenti dei batteri chemiosintetici

Numerosi batteri producono sostanze colorate (**pigmenti**). I pigmenti prodotti dai batteri chemiosintetici possono rimanere incorporati nel citoplasma batterico (**batteri cromofori**) o essere eliminati nel terreno (**batteri cromopari**), i pigmenti svolgono un ruolo di protezione nei confronti delle radiazioni, visibili o non , della luce solare.