

ZANICHELLI

Fabio Fanti

**Biologia,
microbiologia
e tecniche di
controllo sanitario**

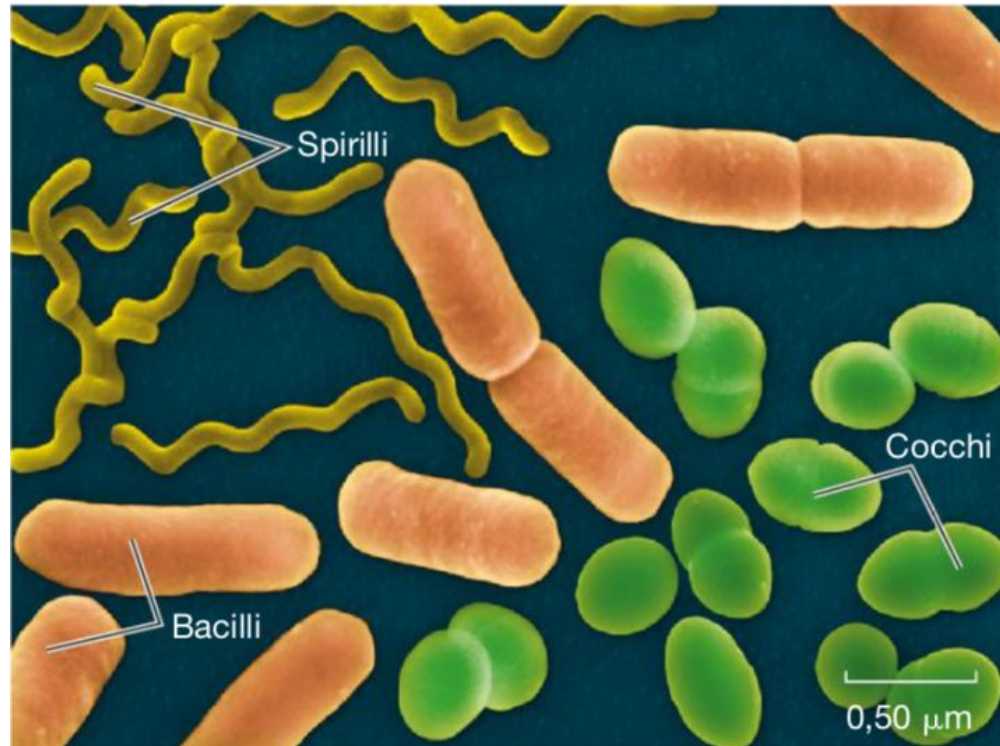
Capitolo 2

La cellula procariotica e la crescita microbica

1. Dimensioni, forma e aggregazioni dei batteri

Dimensioni

- diametro: 0,1 - 2 μm , lunghezza: 0,1 - 10 μm
- elevato rapporto superficie/volume (metabolismo veloce, elevata velocità di crescita)



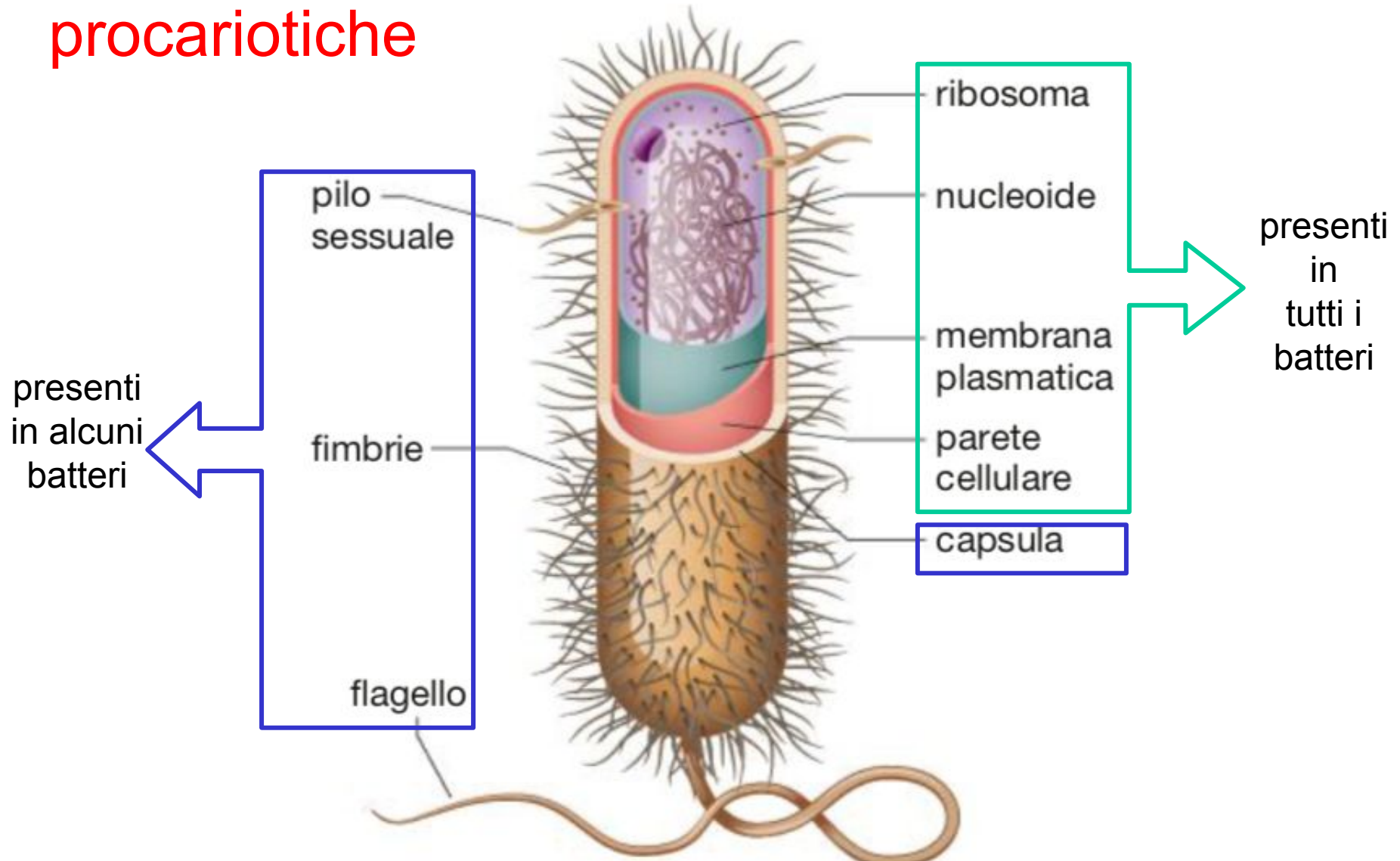
1. Dimensioni, forma e aggregazioni dei batteri

Forme

- cocchi
 - bacilli
 - coccobacilli
 - vibrioni
 - spirilli
 - spirochete
- **diplococchi** (a coppie)
 - **streptococchi** (in catene)
 - **stafilococchi** (a grappolo)
 - **tetradi** (a gruppi di quattro)
 - **sarcine** (a cubi)
- **diplobacilli** (a coppie)
 - **streptobacilli** (in catene)



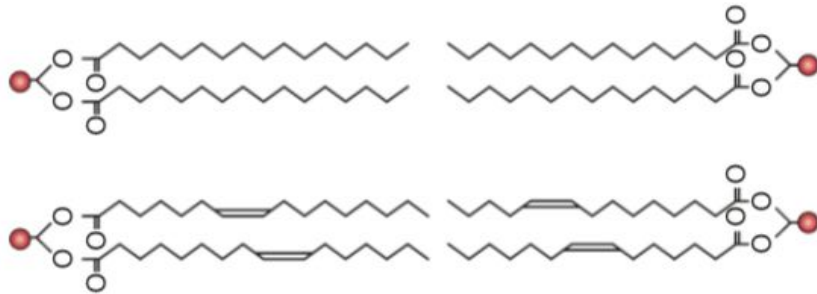
2. La struttura generale delle cellule procariotiche



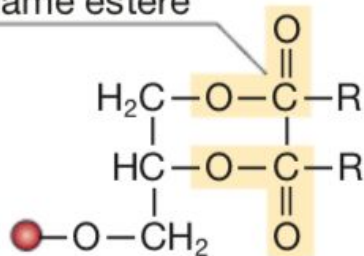
3. La membrana cellulare dei procarioti

Struttura di *Bacteria*

- doppio strato di fosfolipidi
- legame estere tra acidi grassi e glicerolo
- SENZA colesterolo (sostituito da *opanoidi*, a struttura pentaciclica)

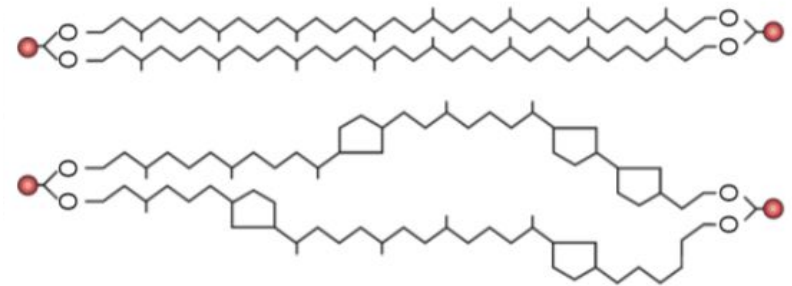


Legame estere

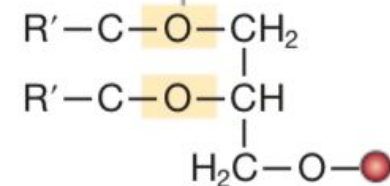


Struttura di *Archaea*

- singolo strato di fosfolipidi
- legame etere tra acidi grassi e glicerolo
- catene alifatiche *isoprenoidi* al posto degli acidi grassi



Legame etere



3. La membrana cellulare dei procarioti

Funzioni aggiuntive

(rispetto alle membrane di cellule eucariotiche)

- sede dei processi di formazione dell'energia
- presenti pigmenti e trasportatori di elettroni per la fotosintesi
- sintesi del peptidoglicano (fasi finali)
- sede del complesso enzimatico per la replicazione del cromosoma batterico
- ripartizione delle due molecole di DNA alle cellule figlie
- regolazione del flusso di acqua (in batteri alofili)
- comunicazione con altre cellule batteriche vicine

4. Funzione e struttura della parete cellulare nei procarioti

Caratteristiche

- involucro rigido ma permeabile presente in tutte le cellule batteriche (eccetto micoplasmi e alcuni archeobatteri).
- porosa, elastica, resistente alla pressione osmotica.
- costituita da *peptidoglicano*

Funzioni

- protezione da lisi
- definizione della forma
- determina caratteri antigenici e sensibilità verso agenti esterni
- bersaglio di alcuni antibiotici e batteriofagi

4. Funzione e struttura della parete cellulare nei procarioti

Struttura

unità ripetute, alternate e legate in lunghe file affiancate le une alle altre, costituite da:

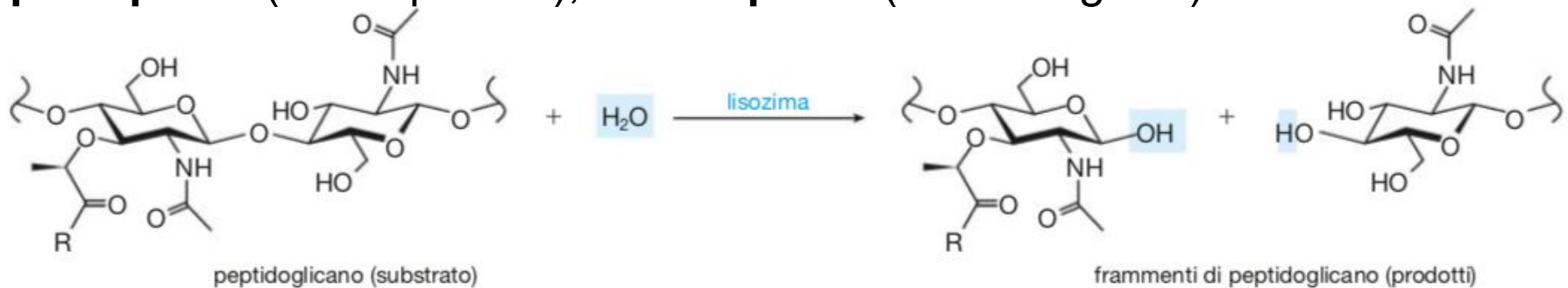
- *acido N-acetilmuramico* (NAM)
- *N-acetilglucosamina* (NAG)
- catene peptidiche in cui tetrapeptidi sono legati ai NAM e disposti parallelamente (legami “crociati”),
 - con modalità diverse in Gram negativi e positivi.
 - in numero variabile

4. Funzione e struttura della parete cellulare nei procarioti

Effetti degli antibiotici

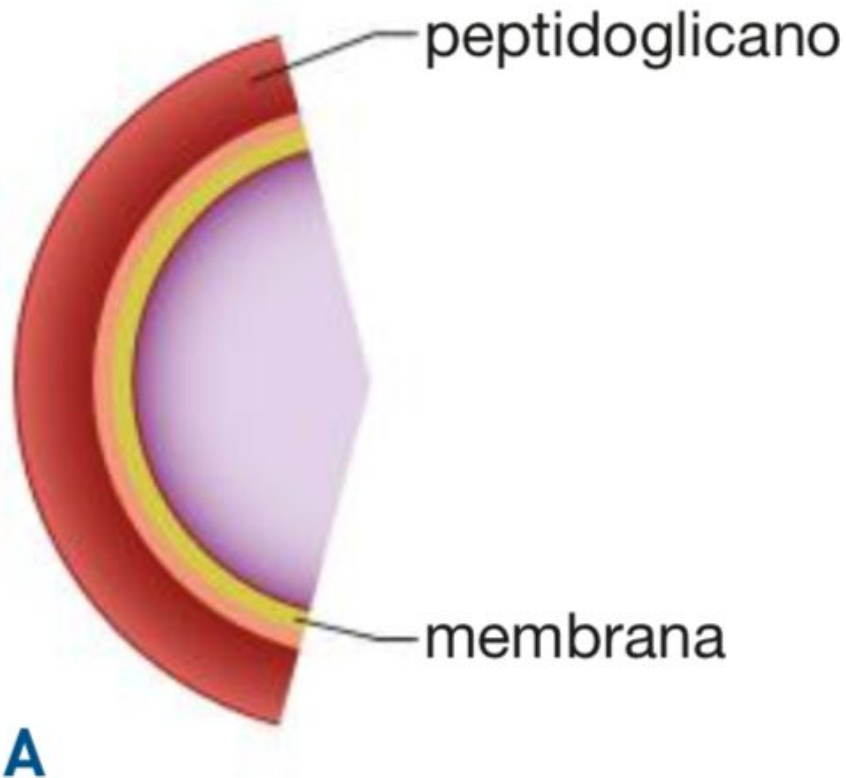
PENICILLINA: Interferisce con la formazione dei legami tra catene peptidiche trasversali ed è più efficace nei Gram positivi

LISOZIMA: Scinde il legame tra NAM e NAG (non è efficace negli *Archaea*). Trattandole con lisozima in una soluzione isotonica, le cellule batteriche non lisano, diventando cellule di forma sferoidale chiamate **protoplasti** (Gram positivi), o **sferoplasti** (Gram negativi)



5. La parete cellulare dei batteri Gram positivi

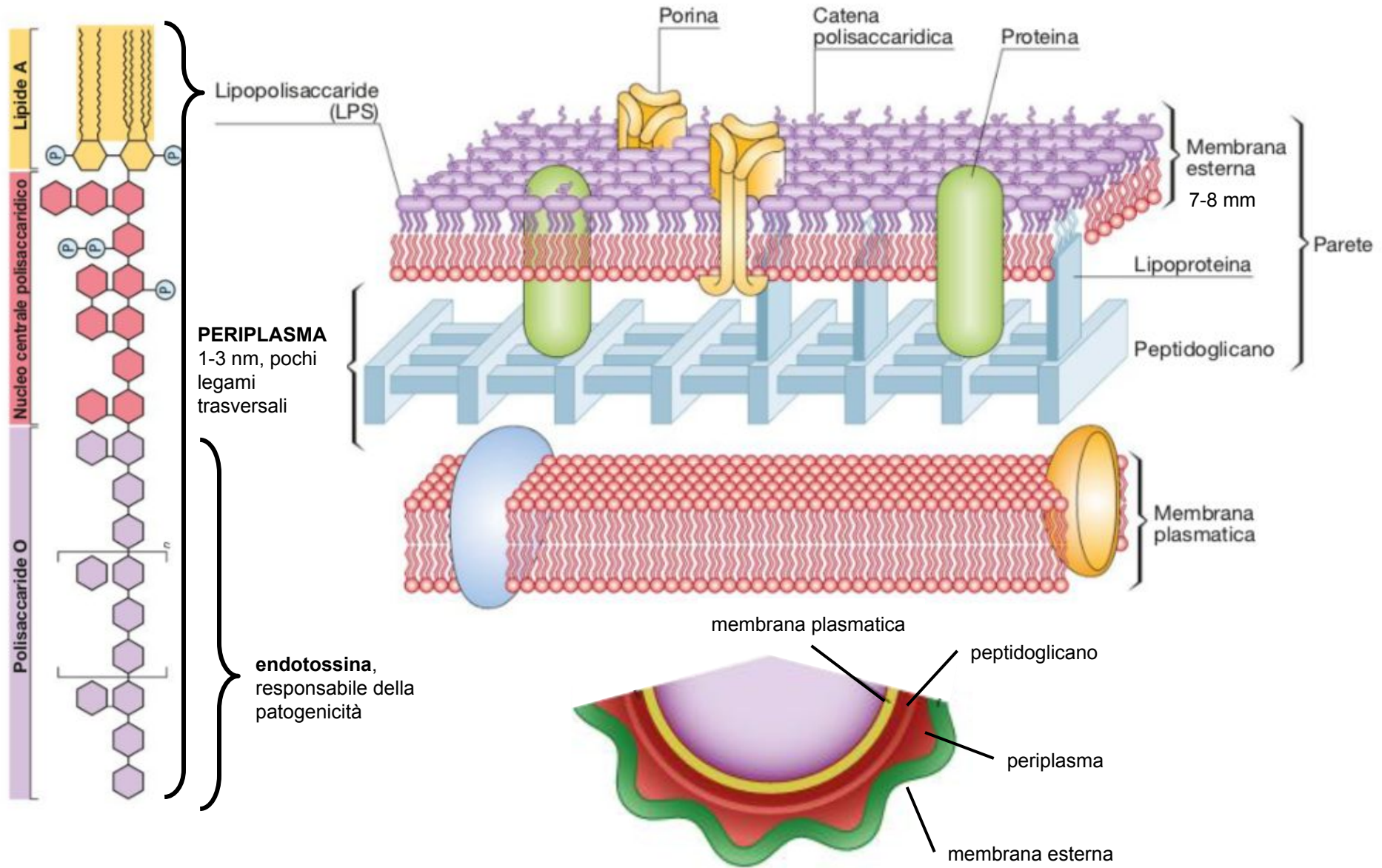
Gram positivi



Struttura rigida e spessa (15-80 nm), resistente e stabile, ma elastica e porosa per la presenza di **acidi teicoici di parete** e **acidi lipoteicoici**.

Gli acidi teicoici sono responsabili della specificità antigenica, utile per l'identificazione dei batteri.

6. La parete cellulare dei batteri Gram negativi



7. Le strutture esterne alla parete cellulare

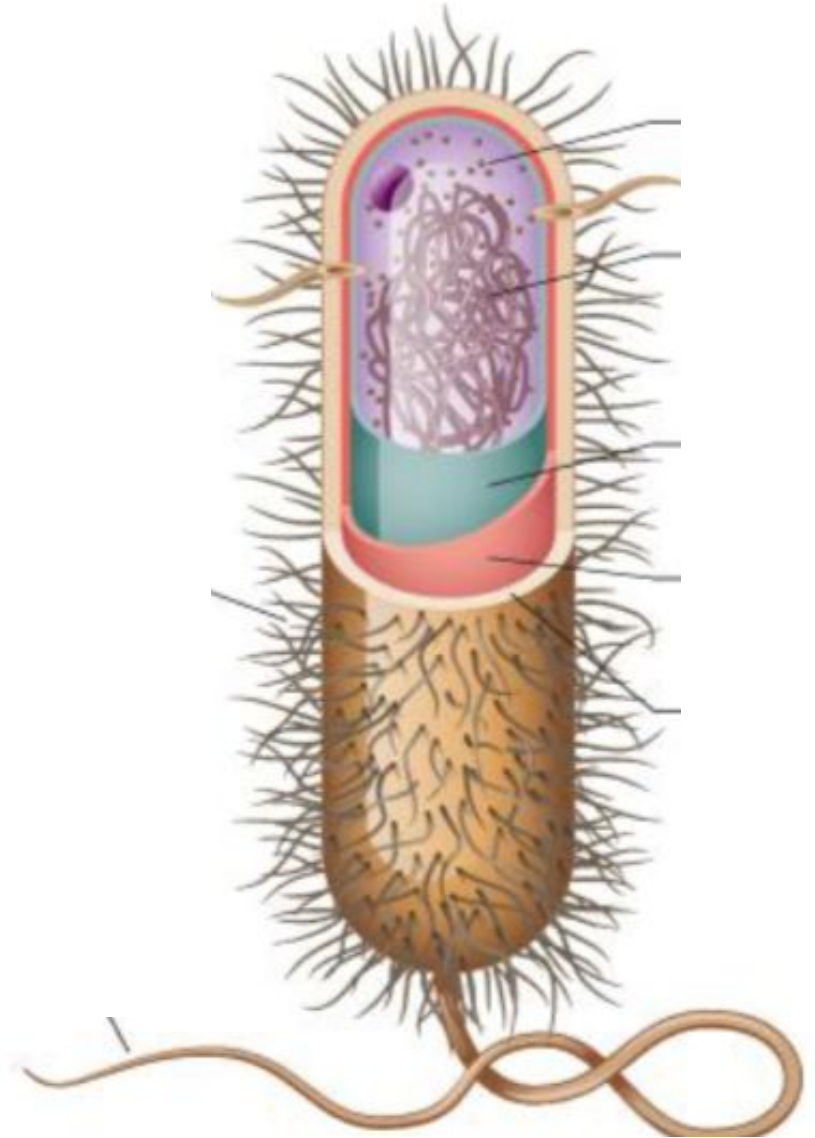
GLICOCALICE

STRATO S

FILAMENTI ASSIALI

PILI e FIMBRIE

FLAGELLI



7. Le strutture esterne alla parete cellulare

GLICOCALICE

Rivestimento glucidico che ricopre la superficie di molti procarioti. Può essere di due tipi:

- **capsula**, con struttura organizzata, trama consistente, aderente alla parete.
- **strato mucoso**, con consistenza meno densa e adesione inferiore alla parete.

Proprietà conferite dalla presenza di capsula:

- resistenza alla fagocitosi
- virulenza
- resistenza alla disidratazione
- adesione batterica a substrati (*biofilm*)

7. Le strutture esterne alla parete cellulare

STRATO S

Rivestimento di proteine o glicoproteine esterno alla parete.

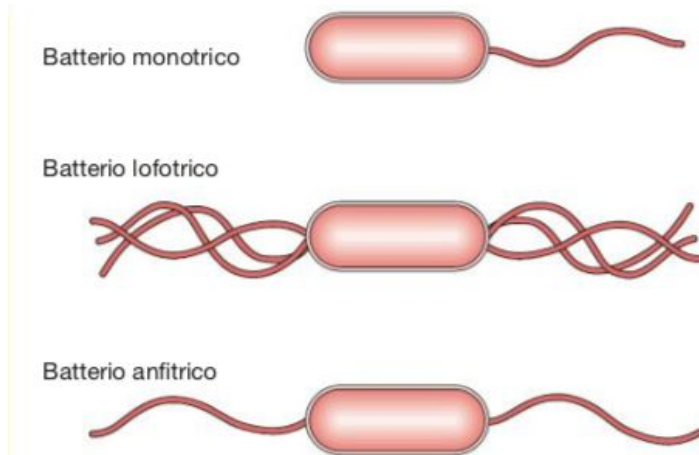
Negli *Archaea* costituiscono spesso l'unico involucro esterno alla membrana cellulare.

Conferiscono resistenza ad agenti chimici o stress meccanici

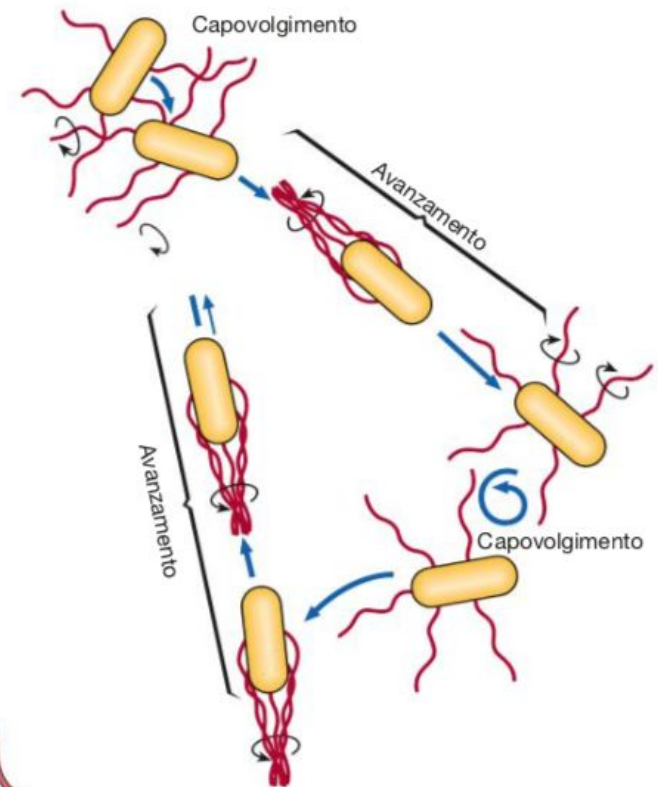
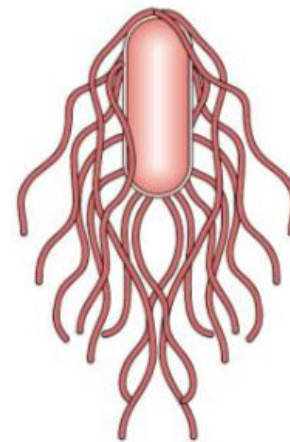
7. Le strutture esterne alla parete cellulare

FLAGELLI

Appendici filamentose, lunghe 3-12 μm e con diametro di 12-30 nm.
Movimenti da e verso stimoli luminosi (fototassi) o chimici (chemiotassi)



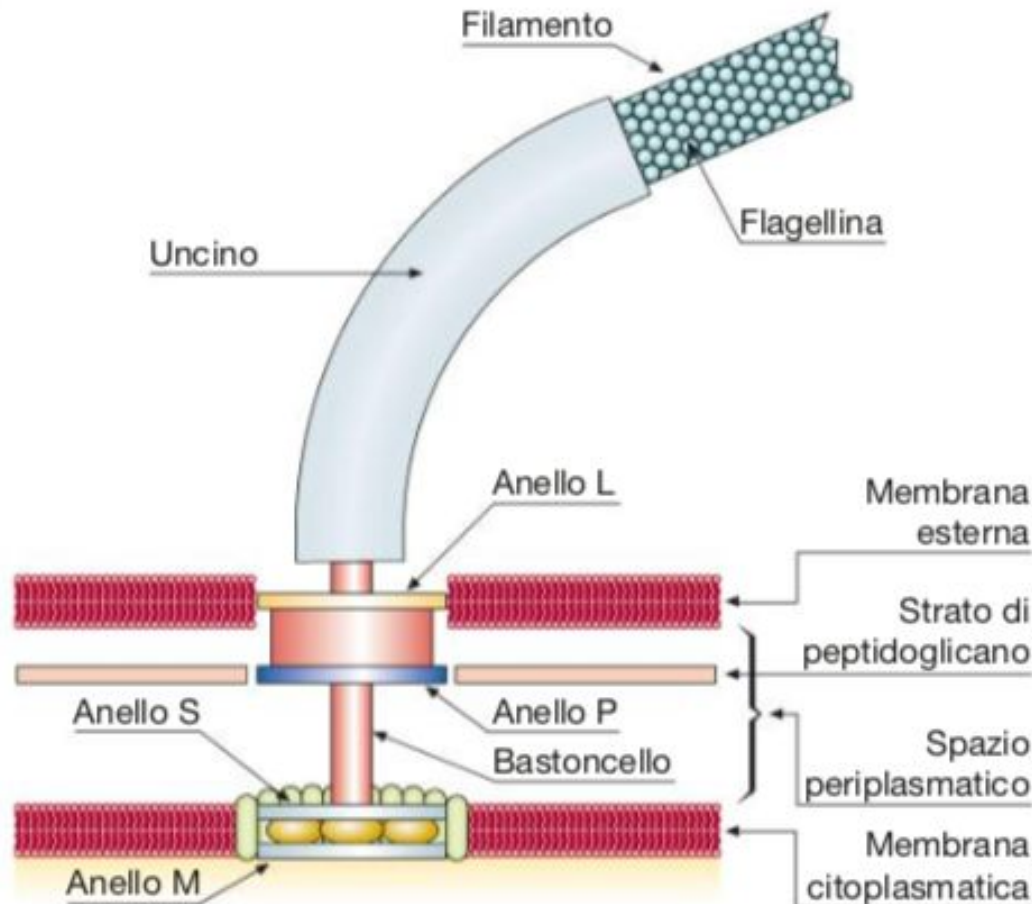
Batterio peritrico



7. Le strutture esterne alla parete cellulare

FLAGELLI

La composizione della flagellina è diversa da batterio a batterio
(antigene H)



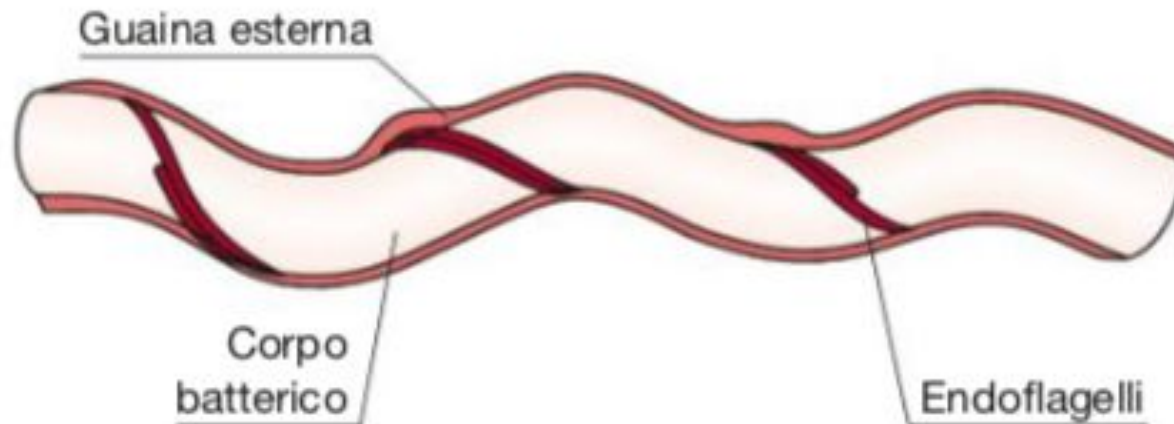
7. Le strutture esterne alla parete cellulare

FILAMENTI ASSIALI

Presenti in spirochete e batteri elicoidali.

Formati da fibre ripiegate sul corpo cellulare che uniscono le estremità della cellula.

Il filamento è avvolto da una struttura membranosa flessibile avvolta a spirale attorno alla cellula



7. Le strutture esterne alla parete cellulare

PILI e FIMBRIE

Strutture tipiche dei Gram negativi, lunghe circa 1 μm e con diametro di 3-5 nm. Simili ai flagelli, ma:

- più corti
- più rigidi
- distribuiti uniformemente sulla superficie

Funzioni:

- comunicazione (*coniugazione batterica*)
- adesione agli epiteli e alle mucose
- NON hanno funzioni di movimento

8. Il citoplasma, il cromosoma batterico e i plasmidi

Il **citoplasma** contiene acqua (80%), proteine, carboidrati, lipidi, sostanze inorganiche, ...

È presente un **cromosoma batterico circolare**.

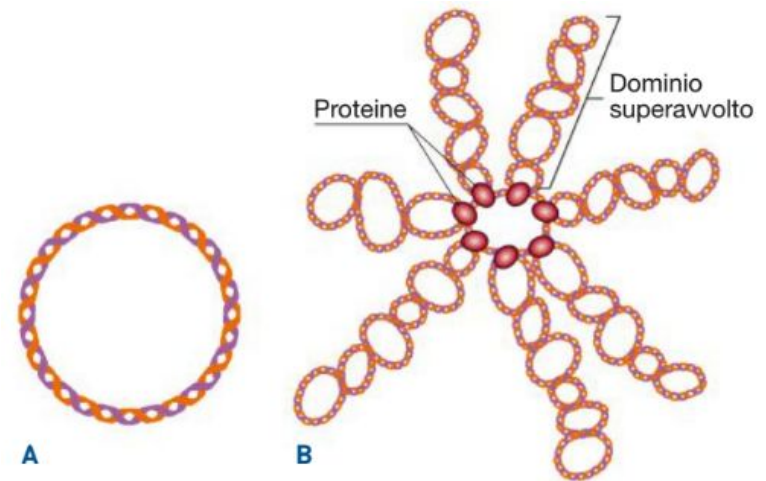


Figura 2.10 Possibili forme del DNA batterico: (A) circolare e rilassata, (B) superavvolta.

Plasmidi: frammenti di DNA extracromosomiale.

Proprietà:

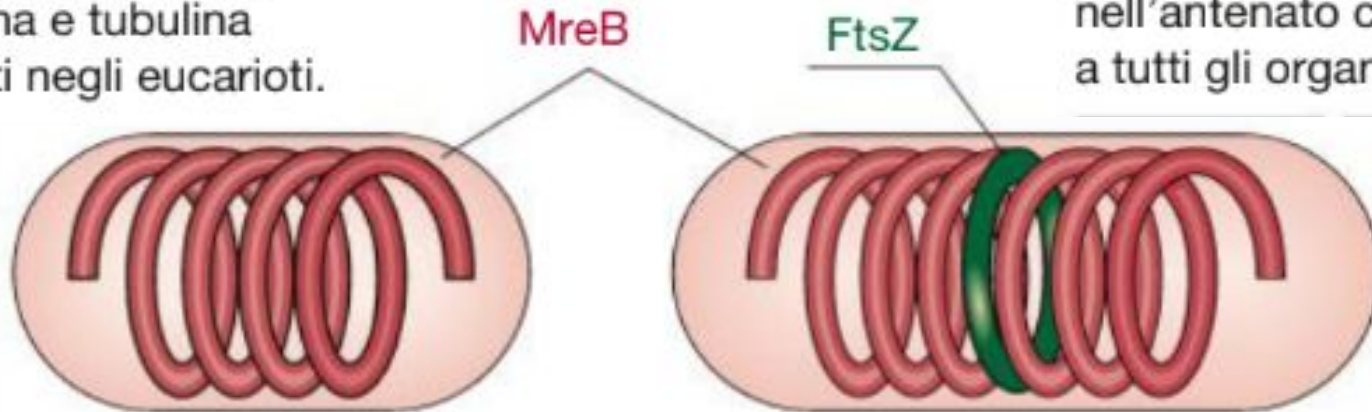
- autoreplicazione;
- forniscono caratteristiche particolari (es.: resistenza agli antibiotici, produzione di tossine, fattori F);
- possono essere trasferiti da una cellula all'altra.

8. Il citoplasma, il cromosoma batterico e i plasmidi

Altri elementi presenti nel citoplasma:

- **ribosomi**
- **inclusi** (sostanze di riserva)
- **microfilamenti** (strutture elicoidali proteiche che conferiscono forma ai bacilli)

MreB e FtsZ sono proteine molto simili ad actina e tubulina presenti negli eucarioti.

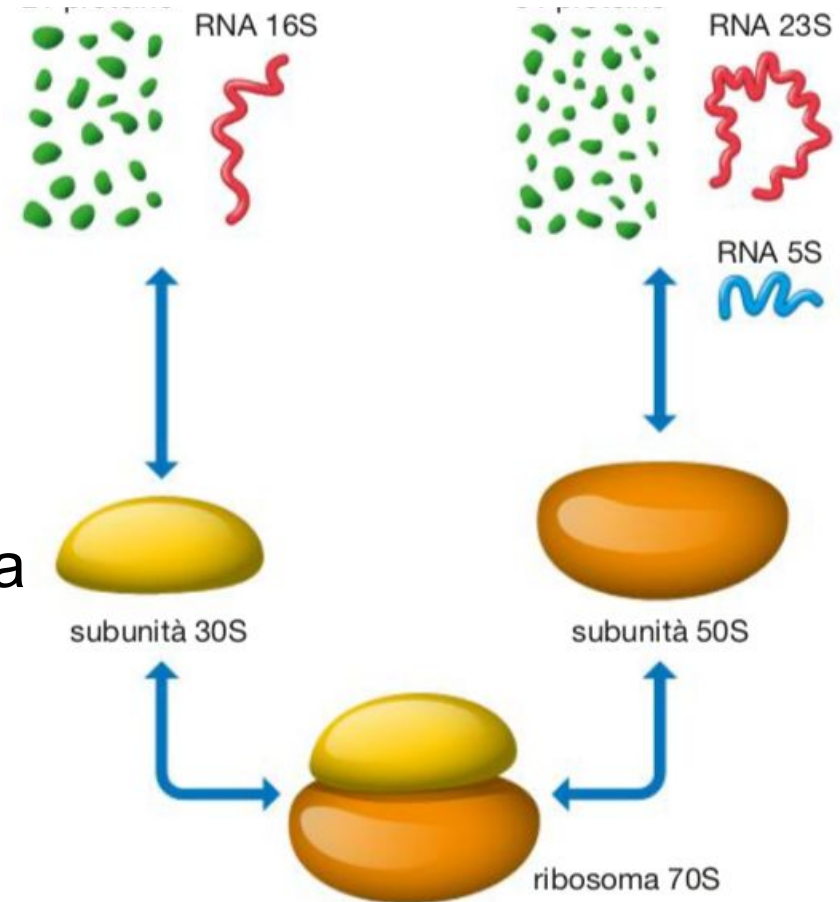


È stato ipotizzato che queste proteine derivino da una proteina presente nell'antenato comune a tutti gli organismi.

9. I ribosomi: struttura, funzione e ruolo nella filogenesi

Struttura

- unici organuli dei batteri
- Ribosomi 70S
- Gli *Archaea* hanno una composizione differente
- Alcuni antibiotici esercitano la loro azione su una delle subunità



La lettera S indica il **coefficiente di sedimentazione** in unità **Svedberg**, parametro che indica la velocità di sedimentazione nella centrifugazione a ultravelocità.

S dipende da: peso molecolare, grandezza, peso e forma

(per queste ragioni il coefficiente 70S non coincide con la somma matematica delle due frazioni)

9. I ribosomi: struttura, funzione e ruolo nella filogenesi

Funzione

Sintesi proteica

Ruolo nella filogenesi

I geni per l'rRNA sono molecole altamente conservate, e presentano solo piccole variazioni. Per questo motivo il loro sequenziamento permette di costruire con precisione la filogenesi dei batteri.

10. Inclusioni citoplasmatiche: struttura e funzioni

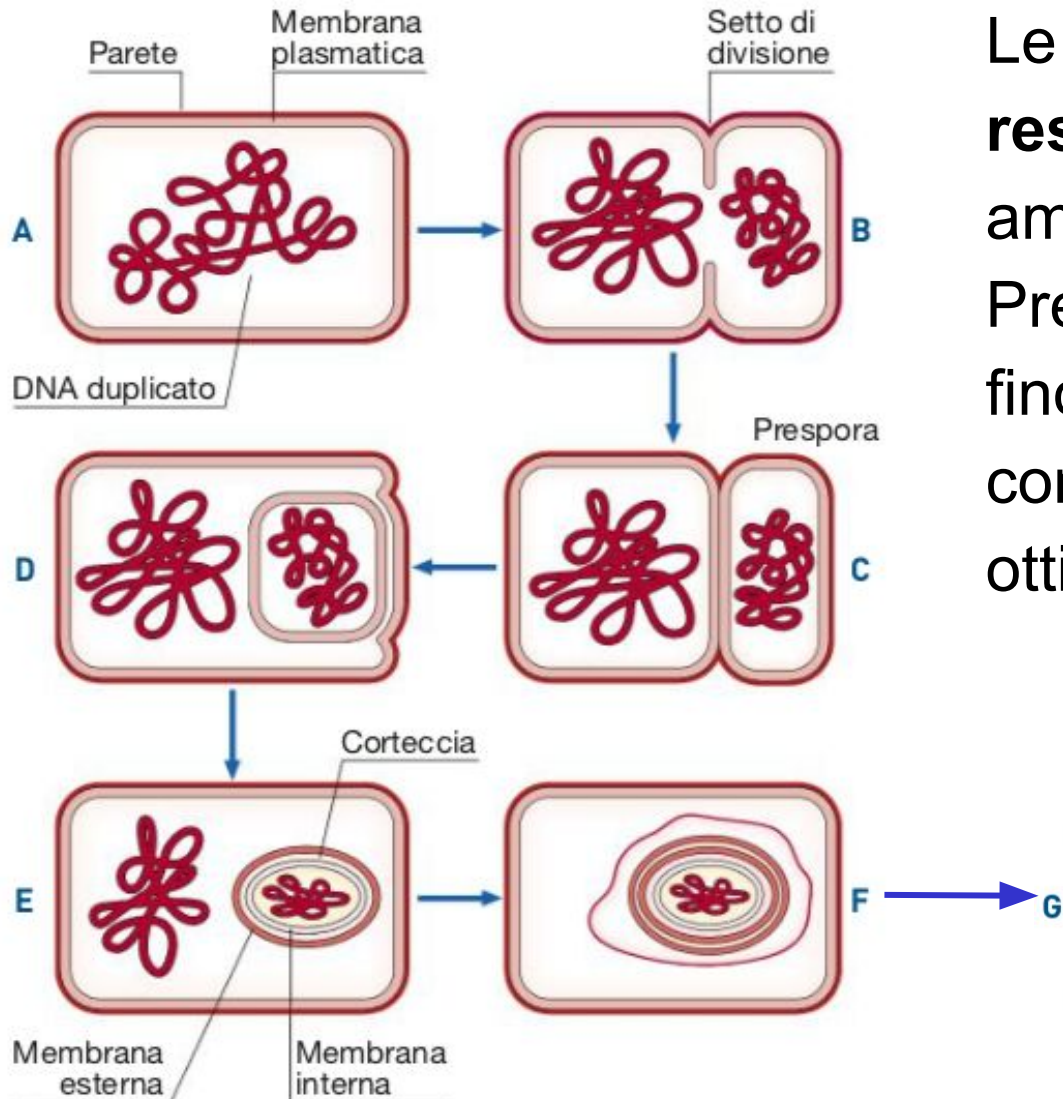
Principali inclusioni citoplasmatiche

Tipi di inclusioni	Funzione
Non delimitate da membrana	
Polifosfati	Riserva di fosforo
Poliglucosidi (amido, glicogeno ecc.)	Fonte di carbonio e di energia
Ficobilosomi	Assorbimento dell'energia luminosa
Delimitate da una membrana semplice	
Vescicole gassose	Galleggiamento
Carbossisomi	Sito di fissazione del CO ₂
Clorosomi	Centro di assorbimento dell'energia luminosa
Globuli di zolfo	Riserva energetica

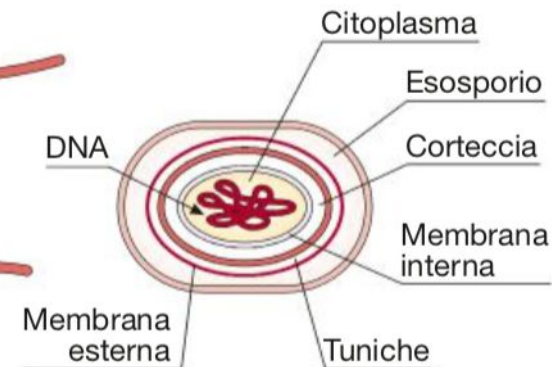
Altre inclusioni

- inclusioni lipidiche di riserva
- magnetosomi

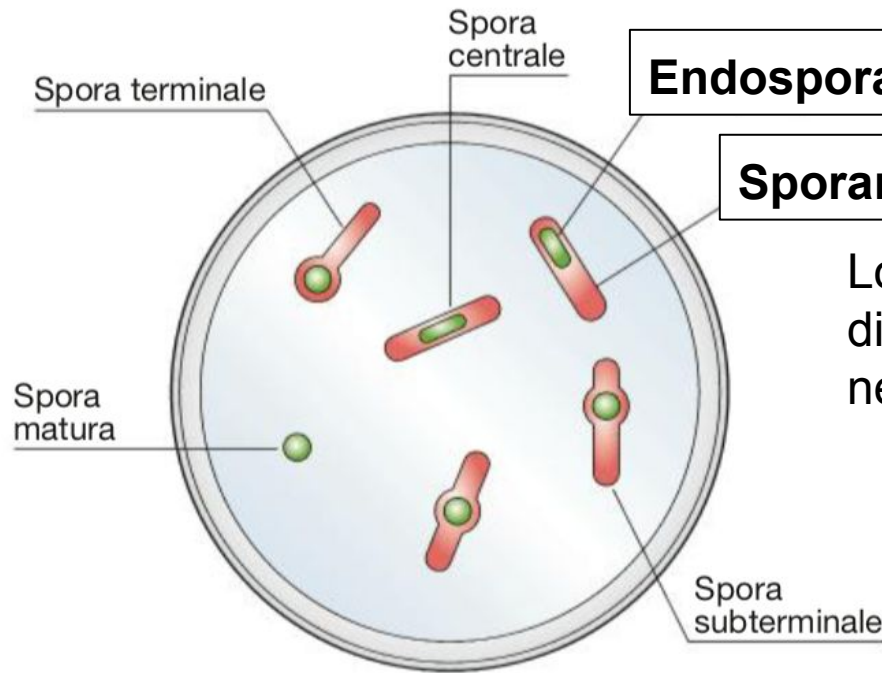
11. Caratteristiche e funzioni delle spore batteriche



Le spore sono forme di **resistenza** a condizioni ambientali sfavorevoli. Preservano il DNA batterico fino al ripristino delle condizioni di crescita ottimale (**germinazione**)



11. Caratteristiche e funzioni delle spore batteriche



Endospora: prodotta all'interno della cellula

Sporangio: cellula che produce endospore

Lo sporangio può andare incontro a disgregazione e liberare la spora nell'ambiente.

Problemi sanitari

- gravi patologie trasmissibili (tetano, botulismo, carbonchio,...)
- elevata termoresistenza

Applicazioni tecnologiche

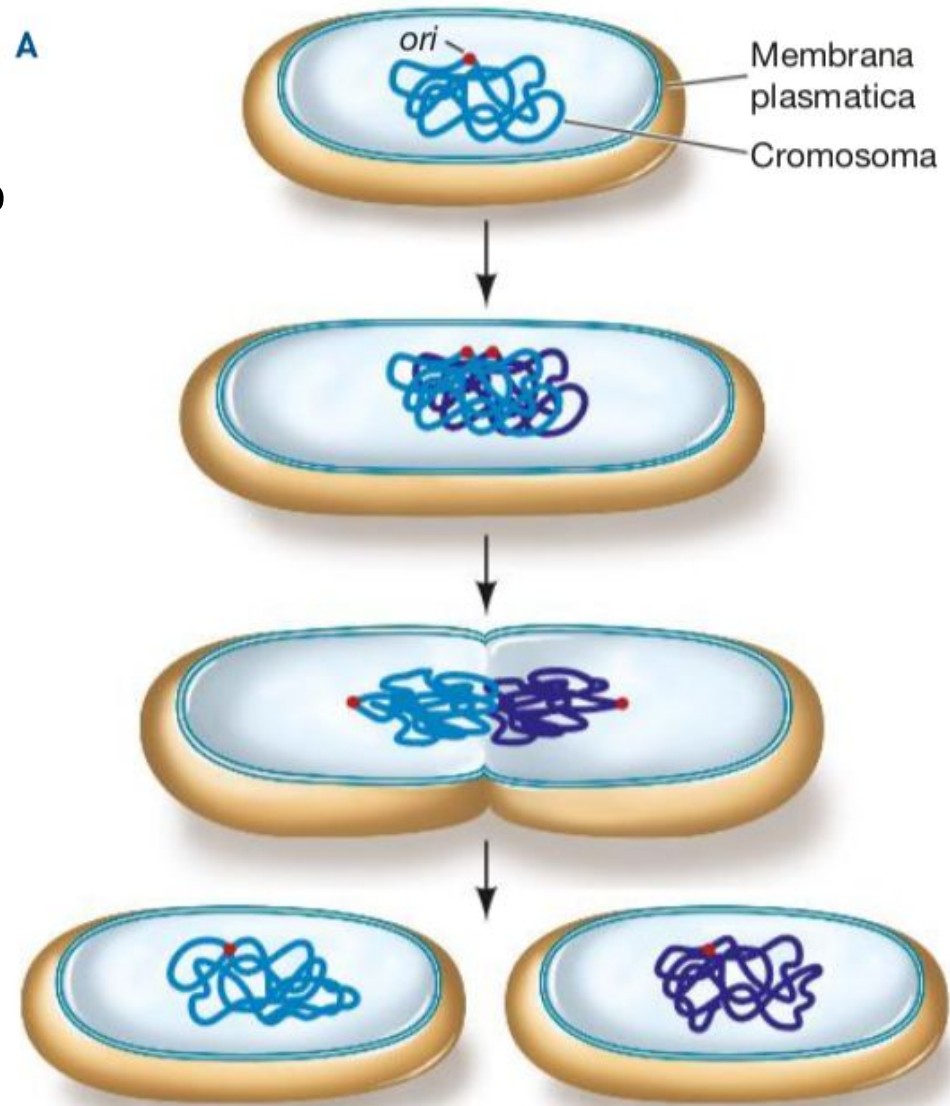
- Bioinsetticidi, antibiotici, alcaloidi, steroidi, enzimi
- Bioplastiche
- Integratori probiotici

12. La divisione cellulare: gli eventi che la determinano

1. Un segnale deve dare il via al processo (temperatura, disponibilità di nutrienti)
2. Il DNA deve duplicarsi
3. Gli altri componenti cellulari devono essere ripartiti
4. La membrana e la parete cellulare devono acquisire nuovi materiali per le cellule figlie

13. La divisione cellulare nei procarioti: la scissione binaria

1. L'enzima **DNA elicasi** separa i frammenti a partire da un punto (**ori**) verso direzioni opposte
2. Gli enzimi **DNA polimerasi** costruiscono il filamento complementare
3. Le regioni **ori** si spingono verso le estremità opposte della cellula
4. Nella regione **ter** la sintesi si conclude e le due molecole di DNA si separano
5. Avviene la **citodieresi**



14. La crescita batterica e la formazione di colonie

Le **colonie batteriche** sono aggregati di milioni o miliardi di individui tutti uguali tra loro e tutti uguali alla cellula madre da cui derivano.

Sono visibili ad occhio nudo.

La **variabilità genetica** in una colonia è possibile solo in caso di:

- mutazioni spontanee o indotte
- meccanismi di ricombinazione genetica (coniugazione, trasformazione, trasduzione)

15. Le esigenze nutrizionali delle cellule microbiche

Macronutrienti

	fonte	componenti cellulari
C	CO ₂	carboidrati, lipidi, proteine, acidi nucleici
N	N ₂ , NO ₃ ⁻ , NH ₃	aminoacidi e proteine
S	H ₂ S, SO ₄ ²⁻	aminoacidi solforati, biotina, tiamina
P	PO ₄ ³⁻	fosfolipidi, ATP
O	O ₂	solo per organismi aerobi
H	H ₂ O	

Sono macronutrienti anche **K, Mg, Ca**

Micronutrienti: **Fe, Cu, Zn, Mo**

16. I parametri ambientali condizionano la crescita microbica

Umidità

$$a_w = p_{\text{camp}} / p_{\text{acq}}$$

dove

p_{camp} = tensione di vapore dell'acqua libera

p_{acq} = tensione di vapore dell'acqua pura

Microrganismi	Valore limite di a_w
Batteri	0,90
Lieviti	0,85
Muffe	0,80
Batteri alofili	0,75
Muffe xerofile	0,65
Lieviti osmofili	0,60

Valori di a_w in diversi substrati

a_w	Substrato	Microrganismi
1,00	Acqua pura	<i>Caulobacter</i> , <i>Spirillum</i>
0,995	Sangue umano	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i>
0,950	Pane	Bacilli Gram negativi
0,900	Prosciutto	<i>Staphylococcus</i> , cocchi Gram positivi
0,850	Salame	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (lievito)
0,800	Torte di frutta, marmellate	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> <i>Penicillium</i> (muffa)
0,750	Laghi salati, pesce salato	<i>Halobacterium</i> , <i>Halococcus</i>
0,700	Cereali, caramelle, frutta secca	<i>Xeromyces bisporus</i> , altri funghi xerofili

Xerofili

Batteri che riescono a vivere in ambienti in cui l'acqua è molto scarsa

16. I parametri ambientali condizionano la crescita microbica

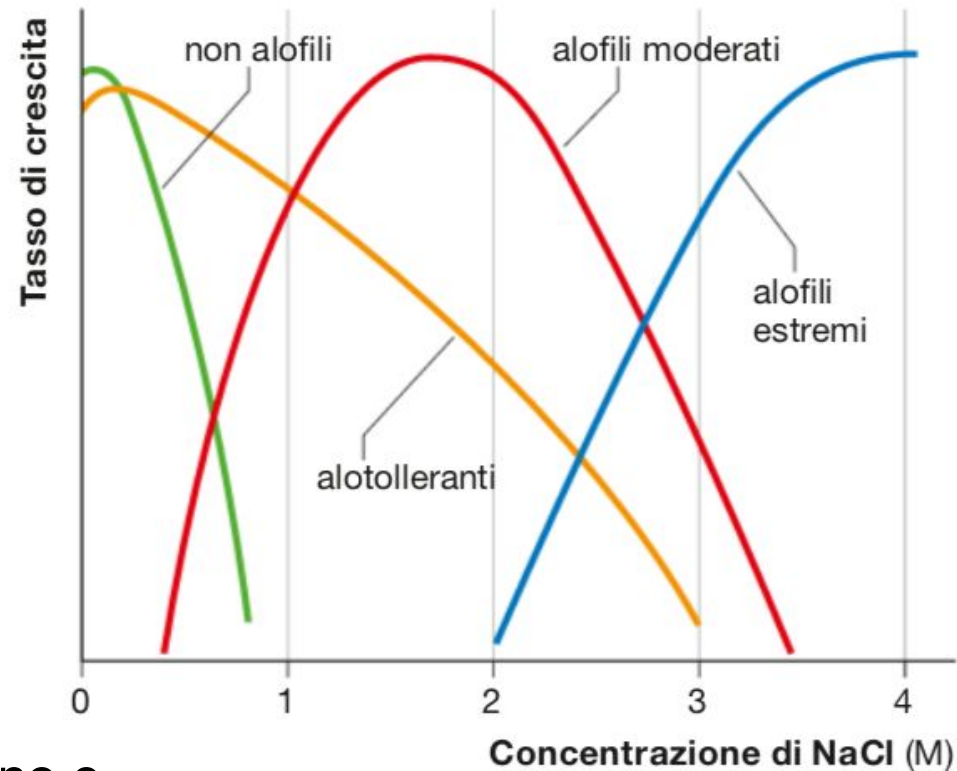
Pressione osmotica

Non alofili: batteri che crescono a concentrazioni di NaCl quasi nulle

Alotolleranti: batteri che crescono a concentrazioni basse di NaCl

Alofili: batteri che richiedono concentrazioni più elevate della norma

Alofili estremi: batteri che richiedono e tollerano concentrazioni molto elevate di NaCl.



16. I parametri ambientali condizionano la crescita microbica

Ossigeno

Aerobi obbligati: richiedono ossigeno per la respirazione aerobica

Aerobi-anaerobi facoltativi: respirazione aerobica in presenza di ossigeno, fermentazioni in assenza.

Anaerobi obbligati: non tollerano la presenza di ossigeno.

Microaerofili: richiedono ossigeno a concentrazioni inferiori di quella atmosferica

Capnofili: atmosfera povera di ossigeno e arricchita dal 5% di CO₂.

16. I parametri ambientali condizionano la crescita microbica

pH

Acidofili: microrganismi che crescono a valori di pH inferiore a 5,5.

Neutrofili: microrganismi che crescono a valori di pH compreso tra 5,5 e 7,9

Basofili: microrganismi che crescono a valori di pH superiore a 7.
Molti basofili sono *Archaea*

16. I parametri ambientali condizionano la crescita microbica

Temperatura

Psicrofili estremi: tra -2 e -10°C .

Psicrofili: temperature ottimali basse

Mesofili: temperature ottimali intermedie

Termofili: temperature ottimali alte ($40-65^{\circ}\text{C}$)

Termofili estremi: tra 70 e 110°C

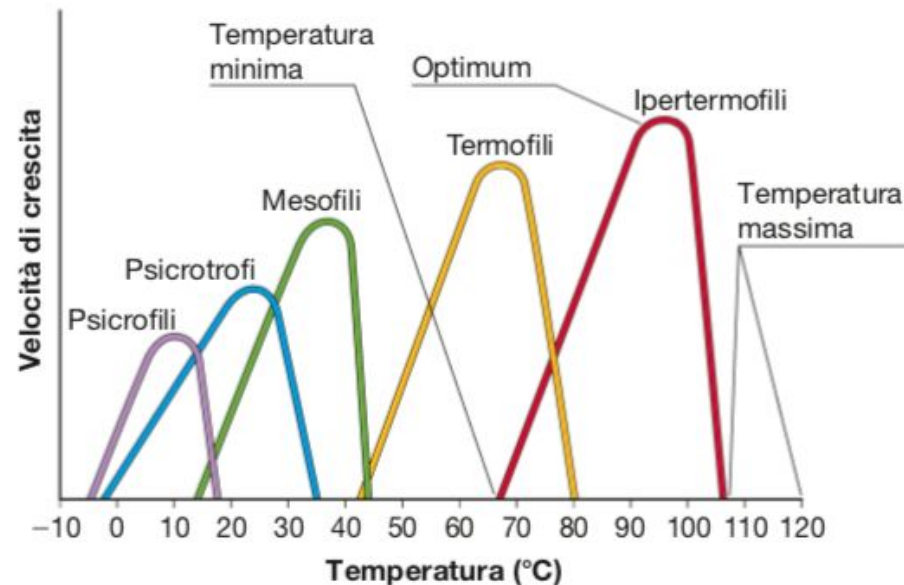


Figura 2.24 Temperatura e crescita microbica. La velocità di crescita batterica è fortemente influenzata dalla temperatura. Ogni gruppo batterico è caratterizzato da una temperatura minima, alla quale la velocità di crescita è lenta, una temperatura ottimale dove si ha la maggior velocità di crescita, e una temperatura massima, al di sopra della quale la crescita si arresta.

17. La curva di crescita batterica

Tempo di generazione:
tempo necessario alla
riproduzione di una cellula

Tempi di generazione di alcune specie batteriche

Specie batterica	Tempo di generazione
<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	20-30 minuti
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	60-90 minuti
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	18 ore
<i>Treponema pallidum</i>	33 ore

Velocità di crescita = n° di generazioni / tempo

$$N = N_0 \cdot 2^n$$

n. finale di cellule (pointing to N)
n. iniziale di cellule (pointing to N₀)
n. generazioni (pointing to 2ⁿ)

Fattori limitanti la crescita: disponibilità di nutrienti, umidità, condizioni di aereazione, pH, accumulo di tossine, ...

17. La curva di crescita batterica

