

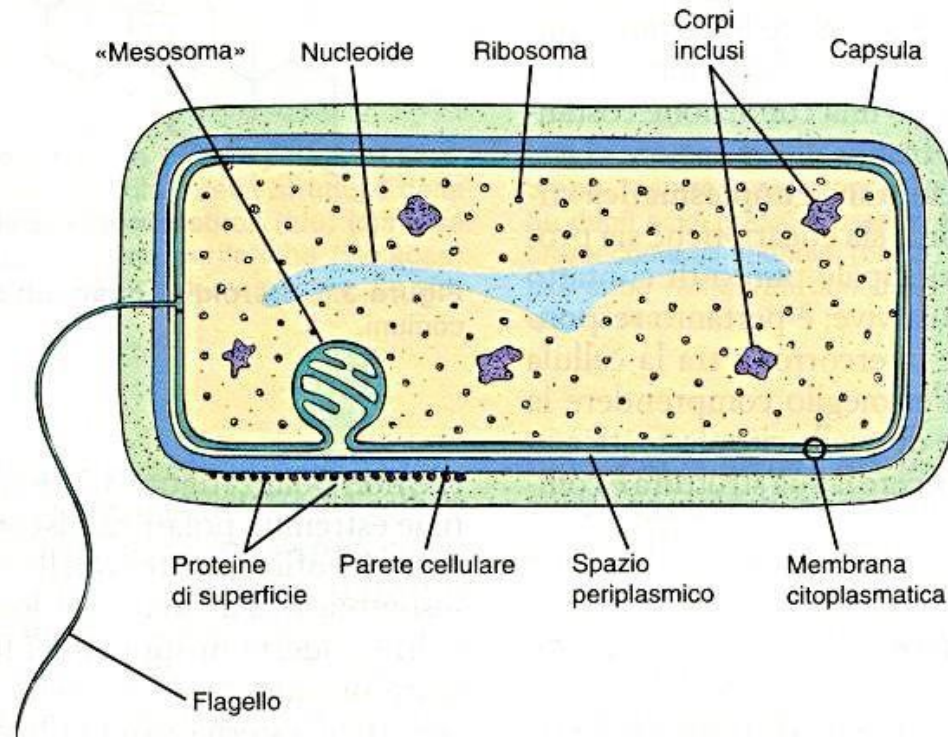
STRUTTURA DELLA CELLULA BATTERICA

RIVESTIMENTO CELLULARE: parete cellulare, **membrana plasmatica**

APPENDICI: flagelli, pili/fimbrie

REGIONE CITOPLASMATICA: DNA, ribosomi, inclusioni

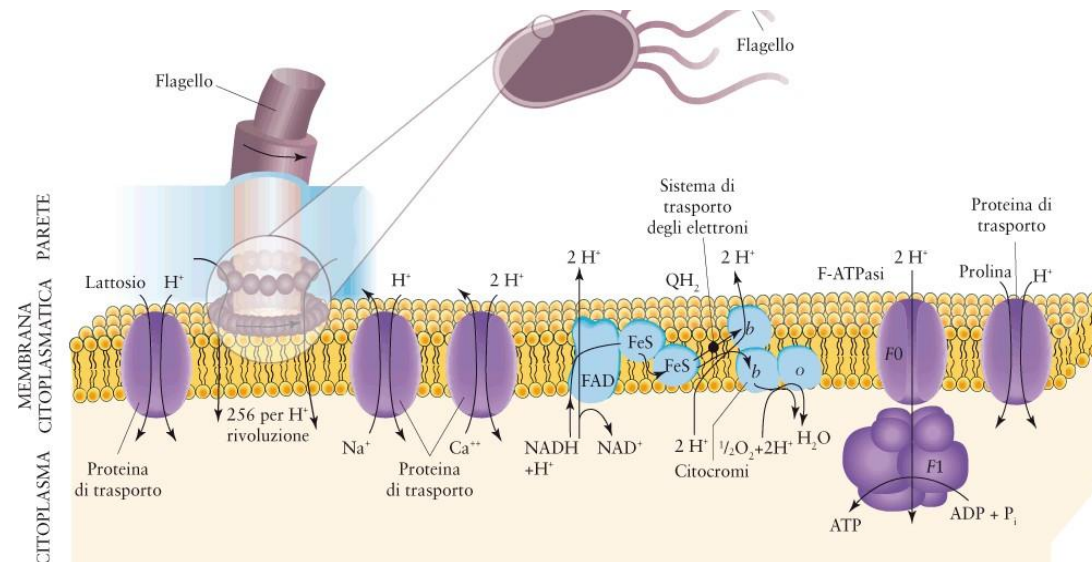
SOSTANZE POLIMERICHE EXTRACELLULARI



Membrana citoplasmatica: **funzioni**

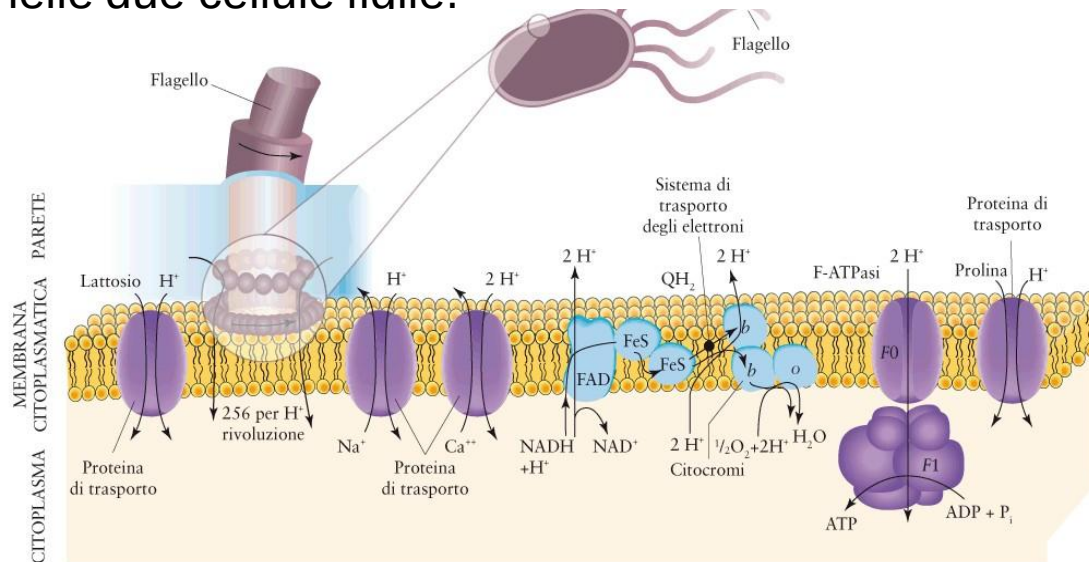
✓ **barriera osmotica selettiva** che trattiene il contenuto del citoplasma: lascia passare **per diffusione passiva** (gradiente di concentrazione) **solo piccole molecole**: H_2O , O_2 , CO_2 , **zuccheri semplici, e alcune sostanze liposolubili**. La velocità di assunzione e la conseguente concentrazione intracellulare di queste molecole sono proporzionali alla concentrazione esterna. **Ioni e molecole non ioniche** di dimensioni più grandi **diffondono molto lentamente** attraverso la membrana.

✓ **sistemi di trasporto attivo**, che regolano gli scambi di molte sostanze con l'ambiente esterno, e sistemi **specializzati per la secrezione di proteine**



Membrana citoplasmatica: funzioni

- ✓ **produzione di energia** (enzimi che catalizzano reazioni chimiche, es. produzione di ATP)
- ✓ **processi biosintetici** (es. sintesi di parete, replicazione)
- Proteine di membrana sono le **carbossipeptidasi** e le **transpeptidasi**, che formano il legame peptidico tra i monomeri di peptidoglicano. Analogamente le unità di base di altri componenti della parete (ad es. **acidi teicoici** o **LPS**) sono assemblate a livello citoplasmatico e trasferite ai siti di polimerizzazione sulla membrana citoplasmatica.
- La membrana partecipa al **processo di divisione della cellula batterica** fornendo un sito di ancoraggio al DNA in replicazione e, accrescendosi, determina la ripartizione dei due cromosomi neosintetizzati nelle due cellule figlie.



Membrana citoplasmatica: funzioni

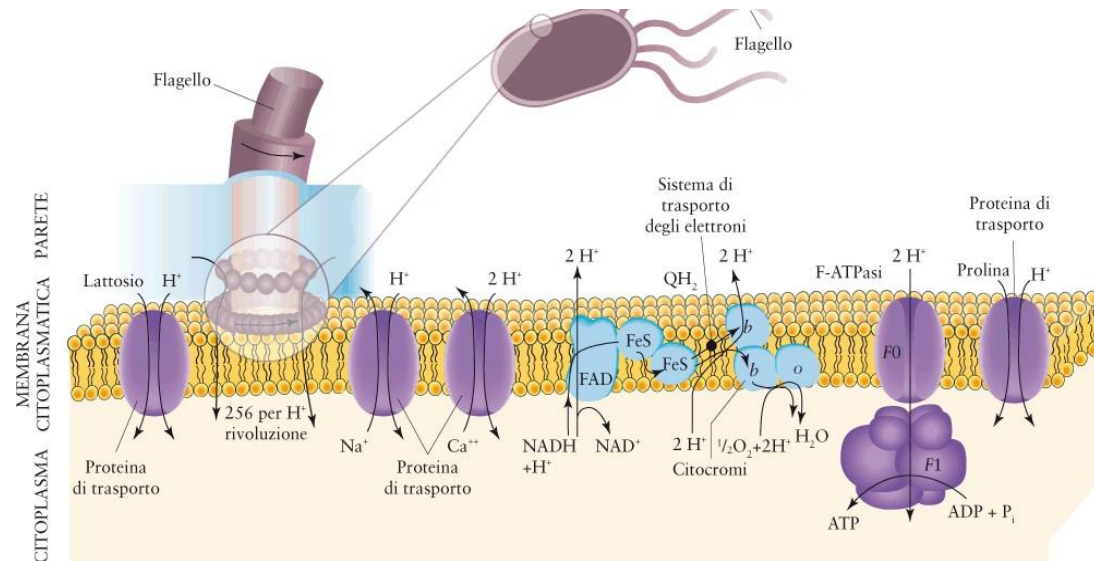
✓ ancoraggio proteine

trasporto

generazione energia (sede fosforilazione ossidativa)

chemotassi

✓ Conservazione energia: sito di generazione della forza proton motrice



Membrana citoplasmatica: composizione

30-40% lipidi
60-70% proteine

} Rapporto opposto rispetto a quello della membrana della cellula eucariotica

Insieme, costituiscono il 10-26% del peso secco batterico

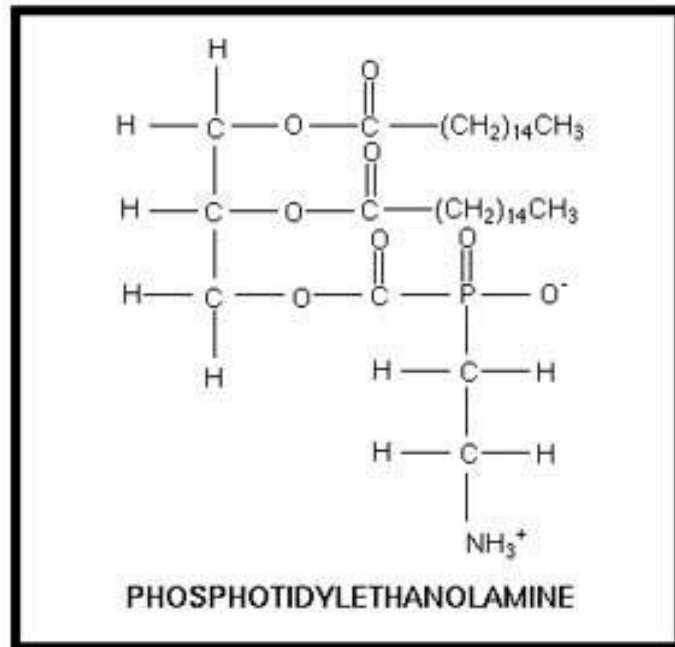
Organizzazione: *mosaico fluido*

- doppio strato di fosfolipidi
- proteine globulari immerse completamente o parzialmente nel doppio strato (intrinseche o estrinseche)
- lipidi che interagiscono con proteine intrinseche: complessi lipo-proteici

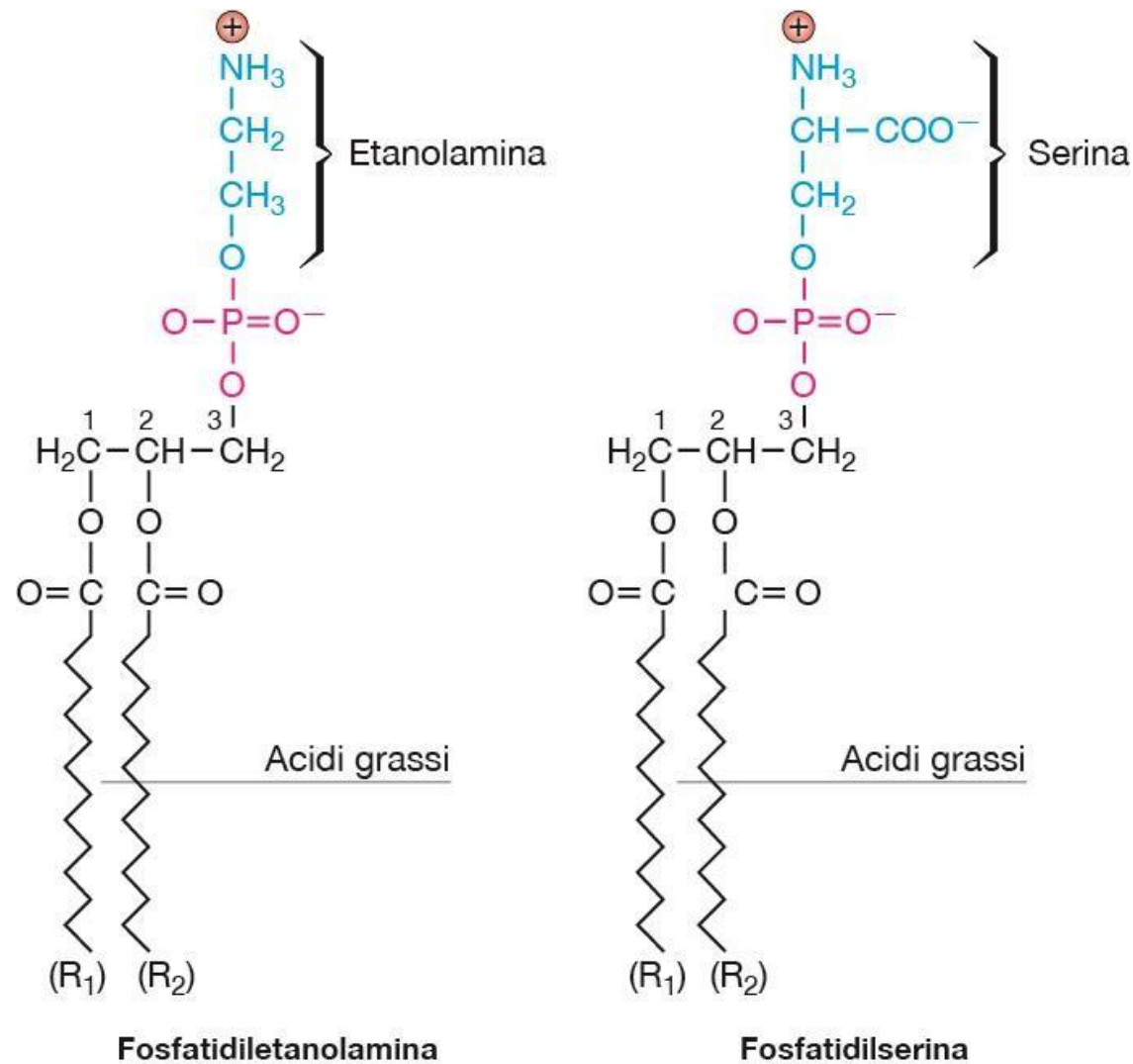
Fosfolipidi

Rara o assente la **fosfatidilcolina** (componente essenziale membrana cellule eucariotiche)

Gram negativi: generalmente **fosfatidil-etanolammina**



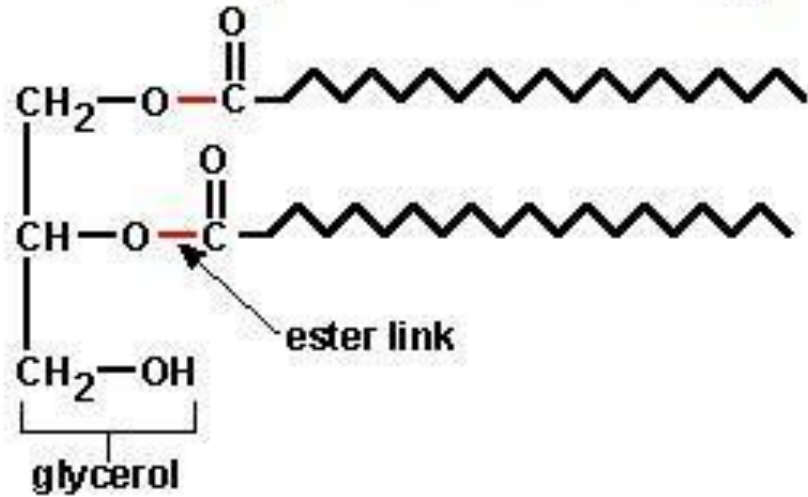
Fosfolipidi



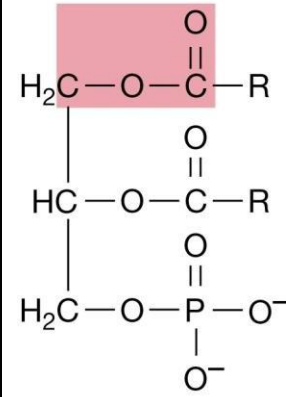
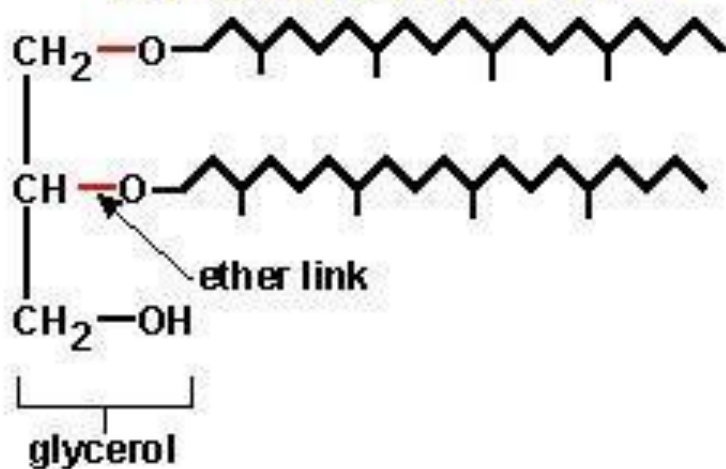
✓ nei Gram positivi: oltre a fosfatidil-etanolamina, fosfatidilserina, fosfatidil-glicerolo, fosfatidilinositolo

✓ Glico-lipidi e glico-fosfolipidi: soprattutto nei Gram positivi

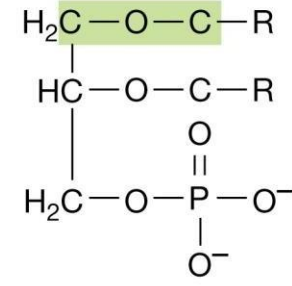
Membrane Lipids of *Bacteria* and *Eukarya*



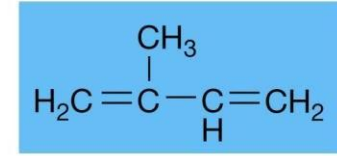
Membrane Lipids of *Archaea*



(a)



(b)



(c)

a) legame estereo

b) legame etereo

c) negli *Archaea* l'unità delle catene laterali: **isoprene**, un **idrocarburo** (in *Bacteria* e *Eukarya*: **acidi grassi**)

Differenze tra Archea e Eubatteri

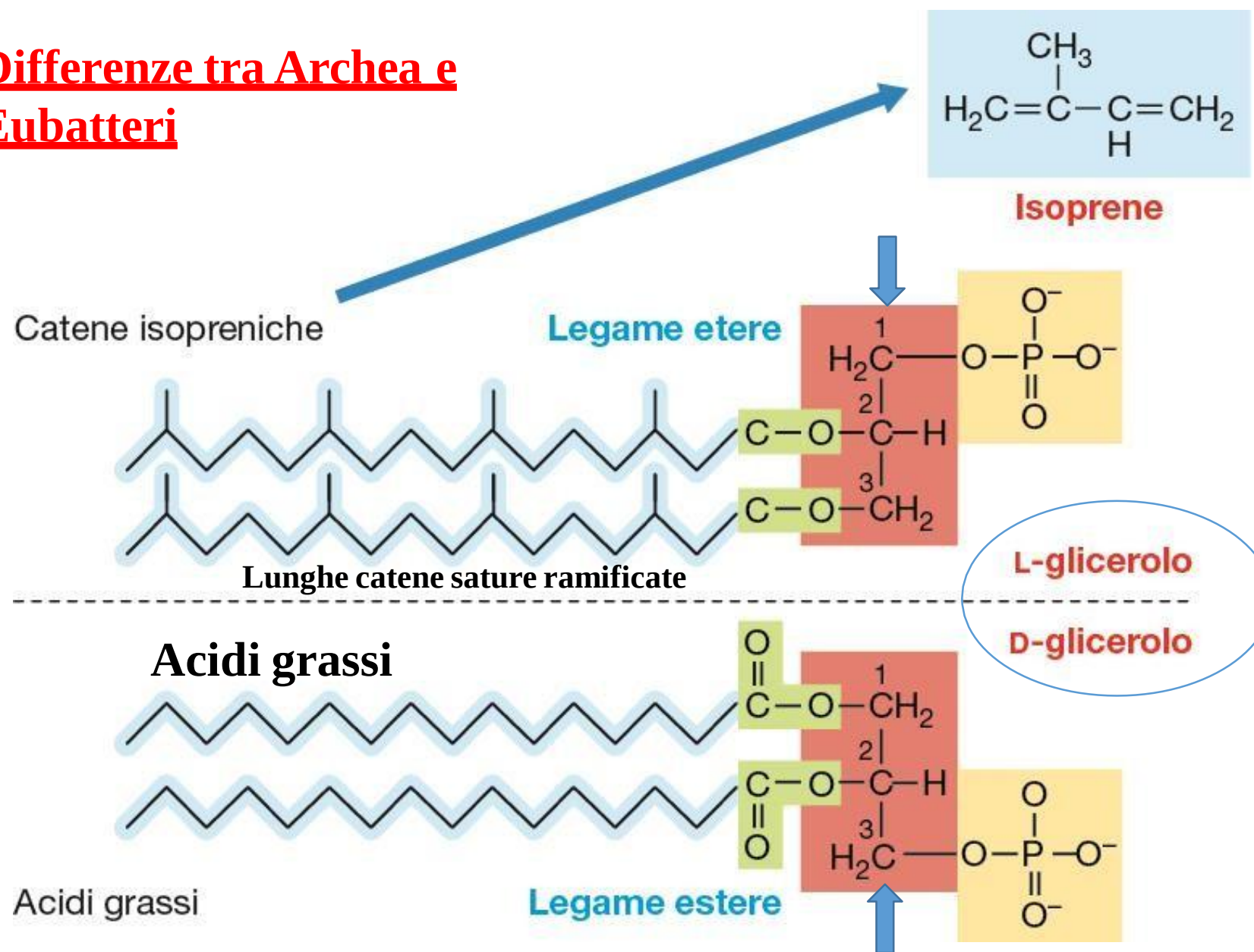
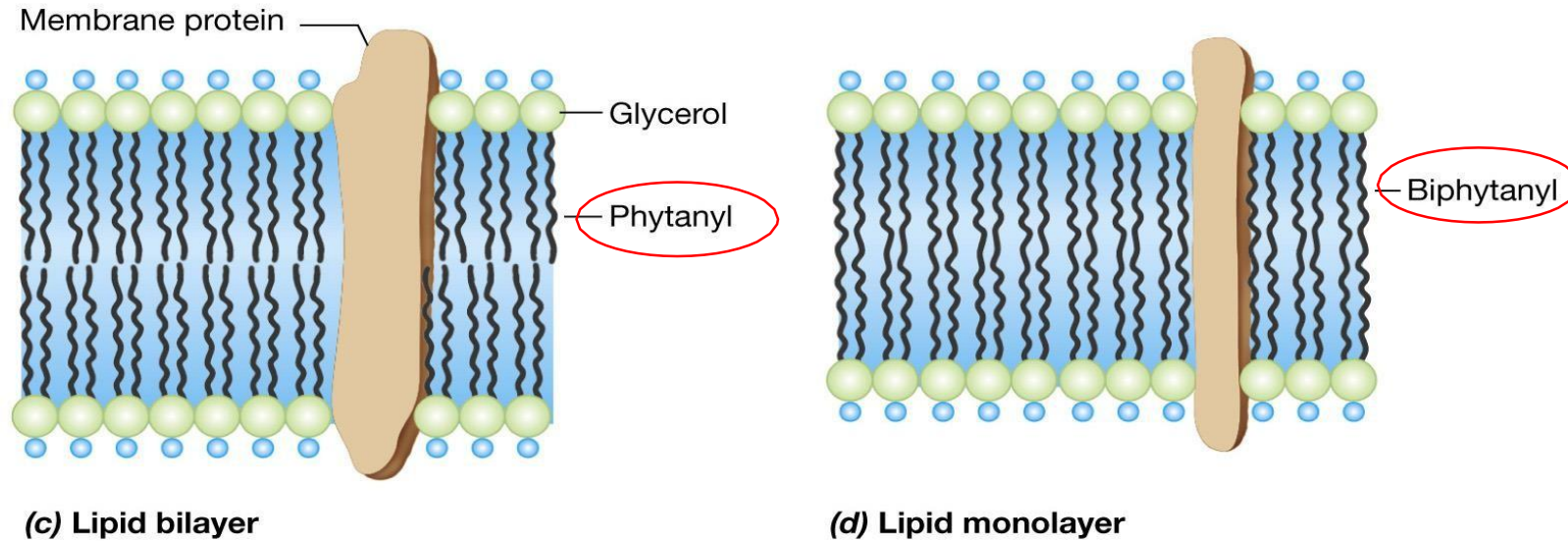


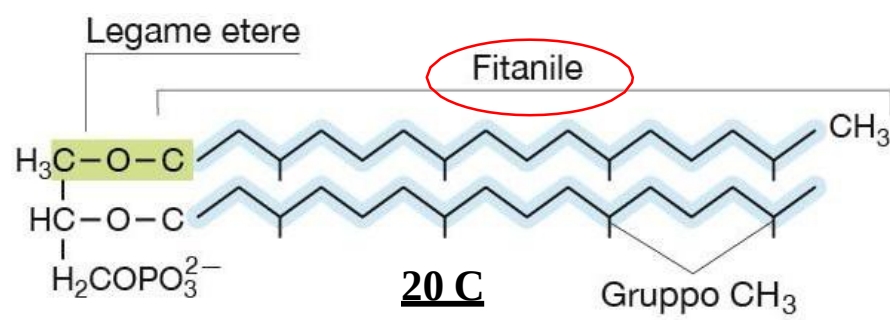
Figura 2.9 **TIPI DI LEGAMI NEI FOSFOLIPIDI DI ARCHEI E BATTERI.**

Archea: in alcuni casi → membrana monostratificata:
aumenta la resistenza • meccanica
• ad agenti chimici

Nessun rischio di separazione dei foglietti

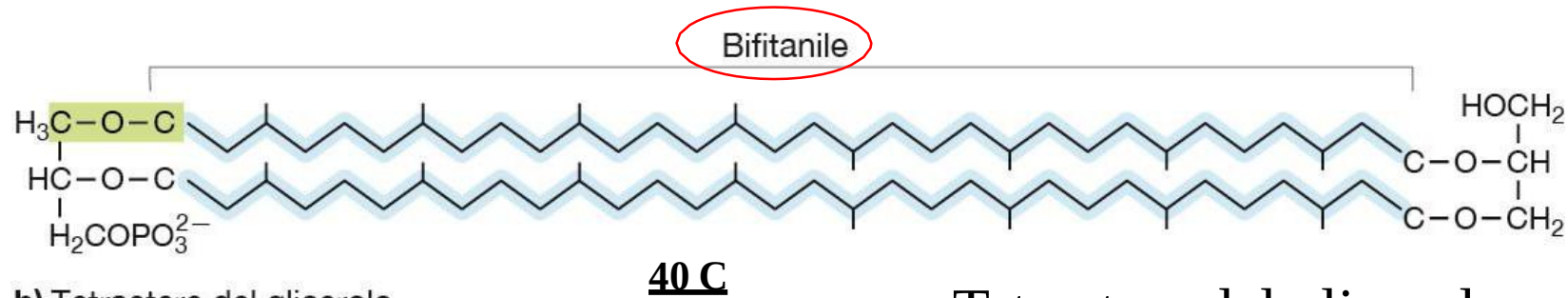


Archea ipertermofili



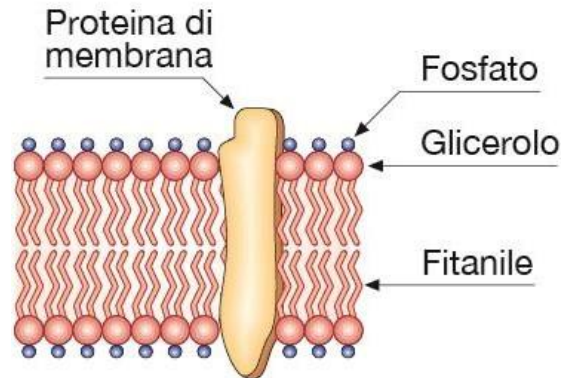
a) Dietere del glicerolo

Dietere del glicerolo

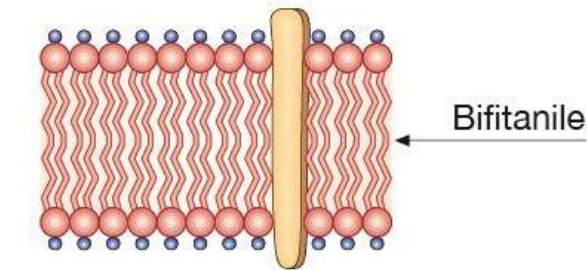


b) Tetraetere del glicerolo

Tetraetere del glicerolo



c) Doppio strato lipidico



d) Monostrato lipidico

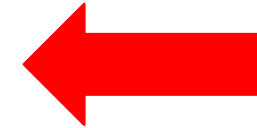


Figura 2.10 **PRINCIPALI LIPIDI E STRUTTURA DELLA MEMBRANA NEGLI ARCHAEA.**

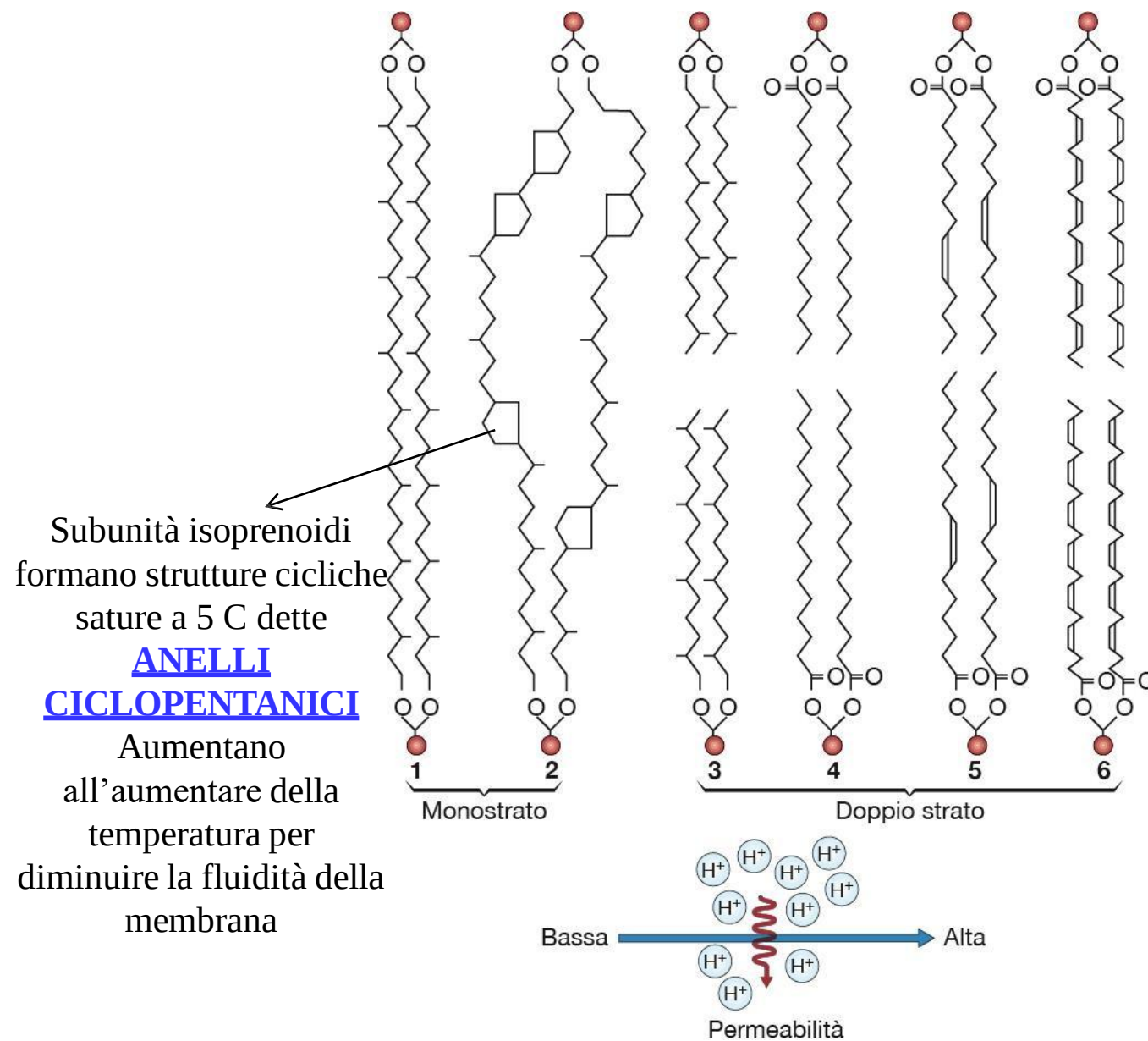


Figura 2.11 STRUTTURA DI DIVERSI LIPIDI DI MEMBRANA IN BATTERI E ARCHEI.

Membrana citoplasmatica : composizione chimica

Presenti **acidi grassi prevalentemente saturi** (assenza di doppi legami)

Assenza di steroli

membrane animali: colesterolo

membrane vegetali: fitosterolo

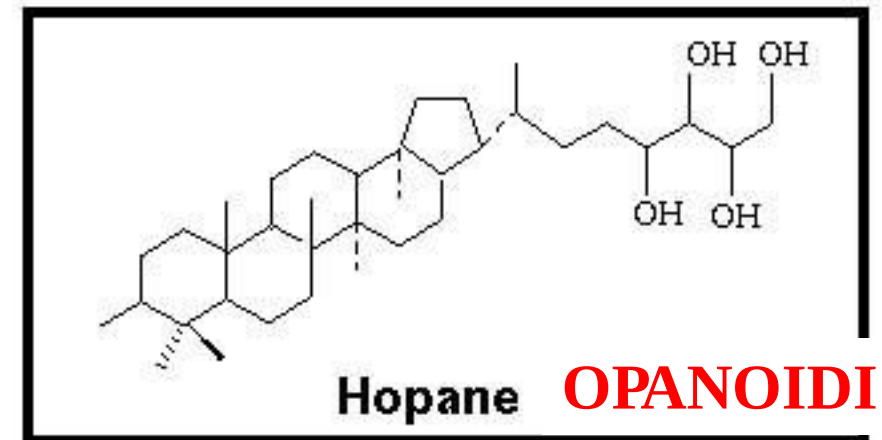
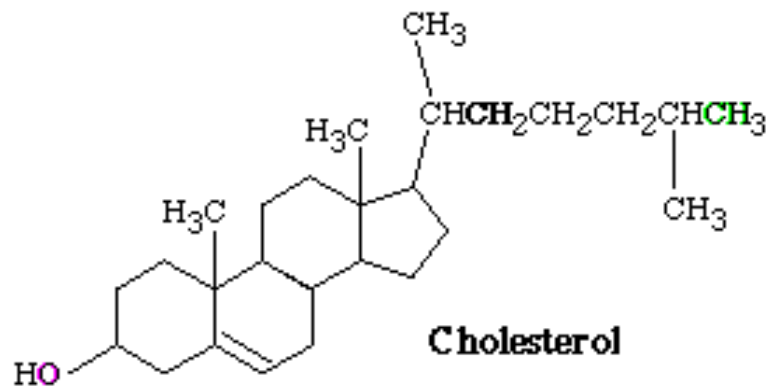
membrane fungine: ergosterolo

Eccezioni: Mollicutes (batteri privi di parete) non li sintetizzano, e i Metilotrofi che invece sono in grado di sintetizzarli

Nei Batteri presenza di



molecole simili a steroli:



Membrana citoplasmatica : composizione chimica

Presenti acidi grassi prevalentemente saturi (assenza di doppi legami)

Assenza di steroli

membrane animali: colesterolo

membrane vegetali: fitosterolo

membrane fungine: ergosterolo

Eccezioni: Mollicutes (batteri privi di parete), non li sintetizzano e i Metilotrofi che invece sono in grado di sintetizzarli

Nei Batteri presenza di molecole simili a steroli:

Proteine non glicosilate: componente glucidica è legata alla
componente lipidica: *glico-lipidi*

Proteine di membrana

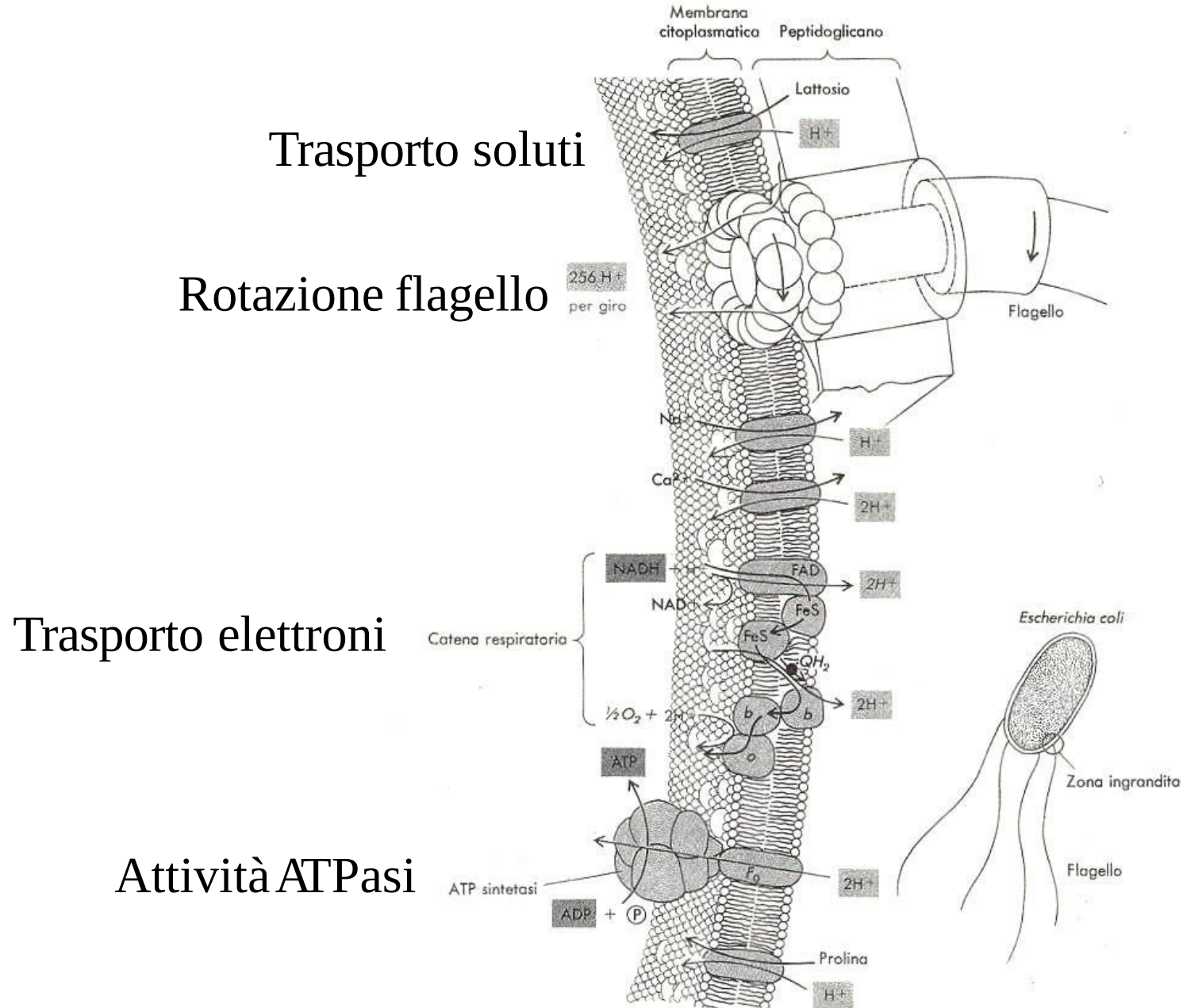
Stabilità strutturale

Ancoraggio per • apparato di rotazione del flagello
• subunità della ATPasi
• cromosoma
• proteine chemotattiche

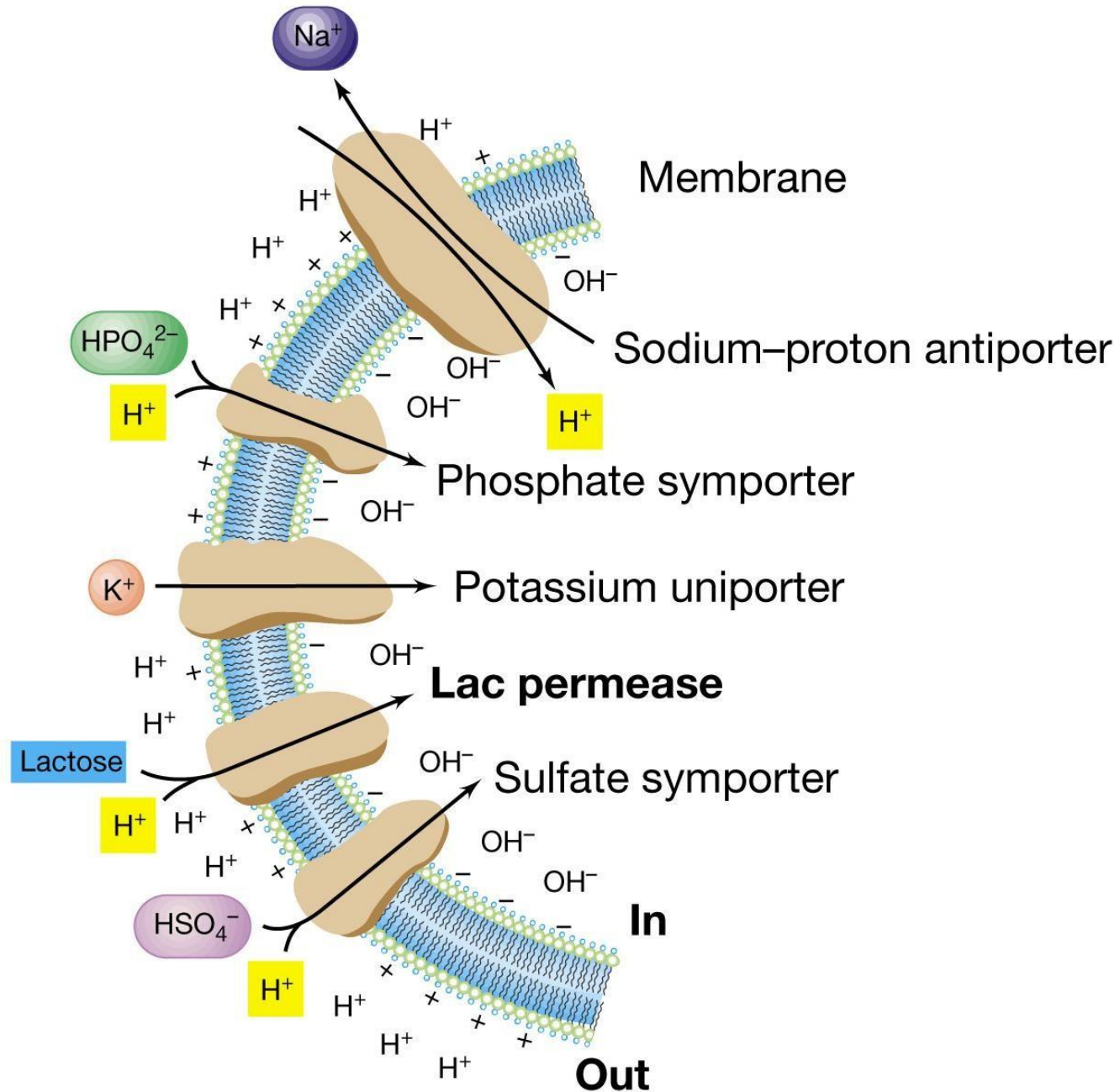
Complessi sistemi enzimatici

Proteine di trasporto (permeasi con notevole specificità)

Processi cellulari a livello della membrana citoplasmatica



Membrana citoplasmatica: trasporto



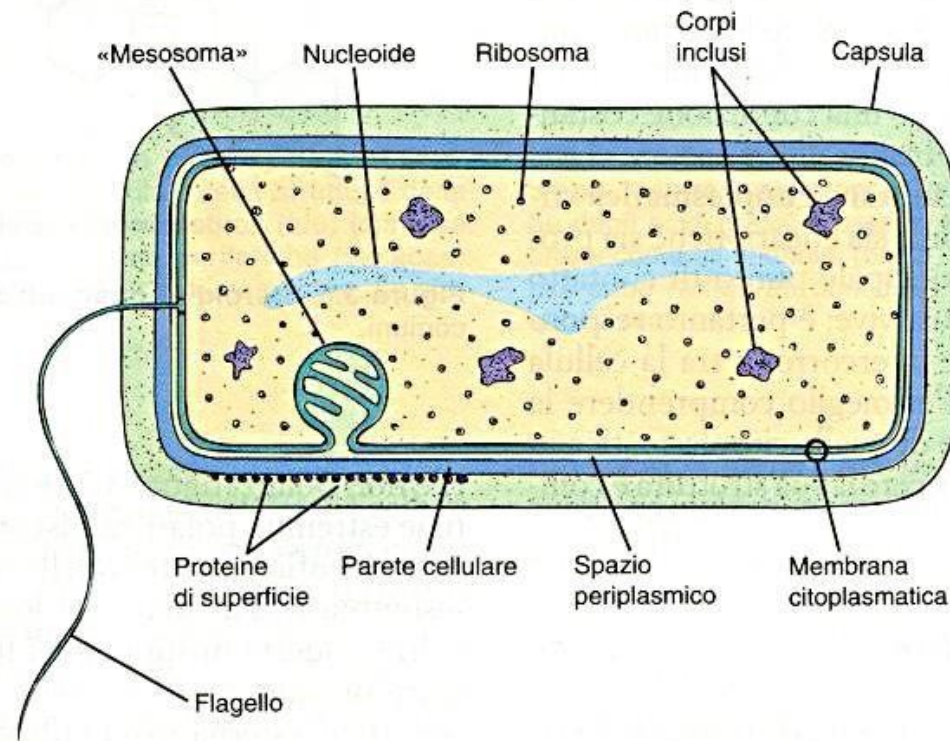
STRUTTURA DELLA CELLULA BATTERICA

APPENDICI: flagelli, pili/fimbrie

RIVESTIMENTO CELLULARE: parete cellulare, membrana plasmatica

REGIONE CITOPLASMATICA: DNA, ribosomi, inclusioni

SOSTANZE POLIMERICHE EXTRACELLULARI



SPE (Sostanze Polimeriche Extracellulari)

Sono di varie dimensioni ed associate a numerose specie batteriche: **capsula** e **strati mucoidi**

Capsula: struttura continua, **ben definita**, rigida, **tenacemente aderente** all'involucro cellulare

Strati mucoidi o glicocalice: **massa amorfa** viscosa, **poco aderente** e poco uniforme per densità e spessore

Struttura: strati di **omopolimeri** o **eteropolimeri** di **monosaccaridi** come esosi, acido uronico ed amminozuccheri

SPE (Sostanze Polimeriche Extracellulari)

componenti facoltative: benessere fisiologico

SPE (Sostanze Polimeriche Extracellulari)

componenti facoltative: benessere fisiologico

aderenza: adesione ed aggregazione in risposta a carenza di fattori nutritivi, protezione da virus batterici, da antibiotici, aderenza alle piante leguminose da parte di batteri fissanti azoto

SPE (Sostanze Polimeriche Extracellulari)

componenti facoltative: benessere fisiologico

aderenza: adesione ed aggregazione in risposta a carenza di fattori nutritivi, protezione da virus batterici, da antibiotici, aderenza alle piante leguminose da parte di batteri fissanti azoto

virulenza: protezione dalla fagocitosi

SPE (Sostanze Polimeriche Extracellulari)

componenti facoltative: benessere fisiologico

aderenza: adesione ed aggregazione in risposta a carenza di fattori nutritivi, protezione da virus batterici, da antibiotici, aderenza alle piante leguminose da parte di batteri fissanti azoto

virulenza: protezione dalla fagocitosi

antigenicità: conferiscono specificità antigenica
(→ tipizzazione)

SPE (Sostanze Polimeriche Extracellulari)

componenti facoltative: benessere fisiologico

aderenza: adesione ed aggregazione in risposta a carenza di fattori nutritivi, protezione da virus batterici, da antibiotici, aderenza alle piante leguminose da parte di batteri fissanti azoto

virulenza: protezione dalla fagocitosi

antigenicità: conferiscono specificità antigenica
(→ tipizzazione)

riserva di carboidrati

CAPSULA

Materiale **secreto dalla cellula** che, per la sua viscosità, non si allontana dalla cellula stessa, costituendo un **rivestimento protettivo** (**fino a 10 µm di spessore**)

È costituita **prevalentemente** da **polisaccaridi** (destrano, destrina, levano e cellulosa e spesso da acidi uronici). **Raramente di natura peptidica** (*Bacillus anthracis*: peptide dell'acido D-glutamico; *Streptococcus*: strato di proteina fibrillare)

Non è struttura **essenziale** e **costante** della cellula batterica: la sua presenza è influenzata dalla composizione del mezzo ambiente in cui crescono. Es: batteri patogeni sono capsulati *in vivo*, mentre *in vitro* tendono a perdere la capsula

Interferisce con: **sensibilità** agli **antibiotici** (“assorbe” il farmaco impedendogli di raggiungere a concentrazioni ottimali le molecole bersaglio), **scambio genico**

Struttura capsula

I polisaccaridi che costituiscono la capsula sono fortemente idratati

L'idratazione serve a :

- Regolare l'accesso di molecole e ioni agli involucri cellulari
- Trattenere i nutrienti per la crescita batterica
- Prevenire la disidratazione

Struttura capsula

I polisaccaridi che costituiscono la capsula sono fortemente idratati

L'idratazione serve a :

- Regolare l'accesso di molecole e ioni agli involucri cellulari
- Trattenere i nutrienti per la crescita batterica
- Prevenire la disidratazione

Ciascuna capsula contiene un solo tipo di polisaccaride Costituita da unità oligosaccaridiche ripetute, unite da legami glicosidici

Ancorata ai fosfolipidi o al lipide A della membrana esterna

Funzioni della capsula

- Adesione
- **Inibizione fagocitosi e killing intracellulare** (processi operati dai leucociti polimorfonucleati, dai monociti e dai macrofagi che prevedono l'attacco, l'ingestione e la distruzione dei batteri)
- **Mimetismo immunitario**

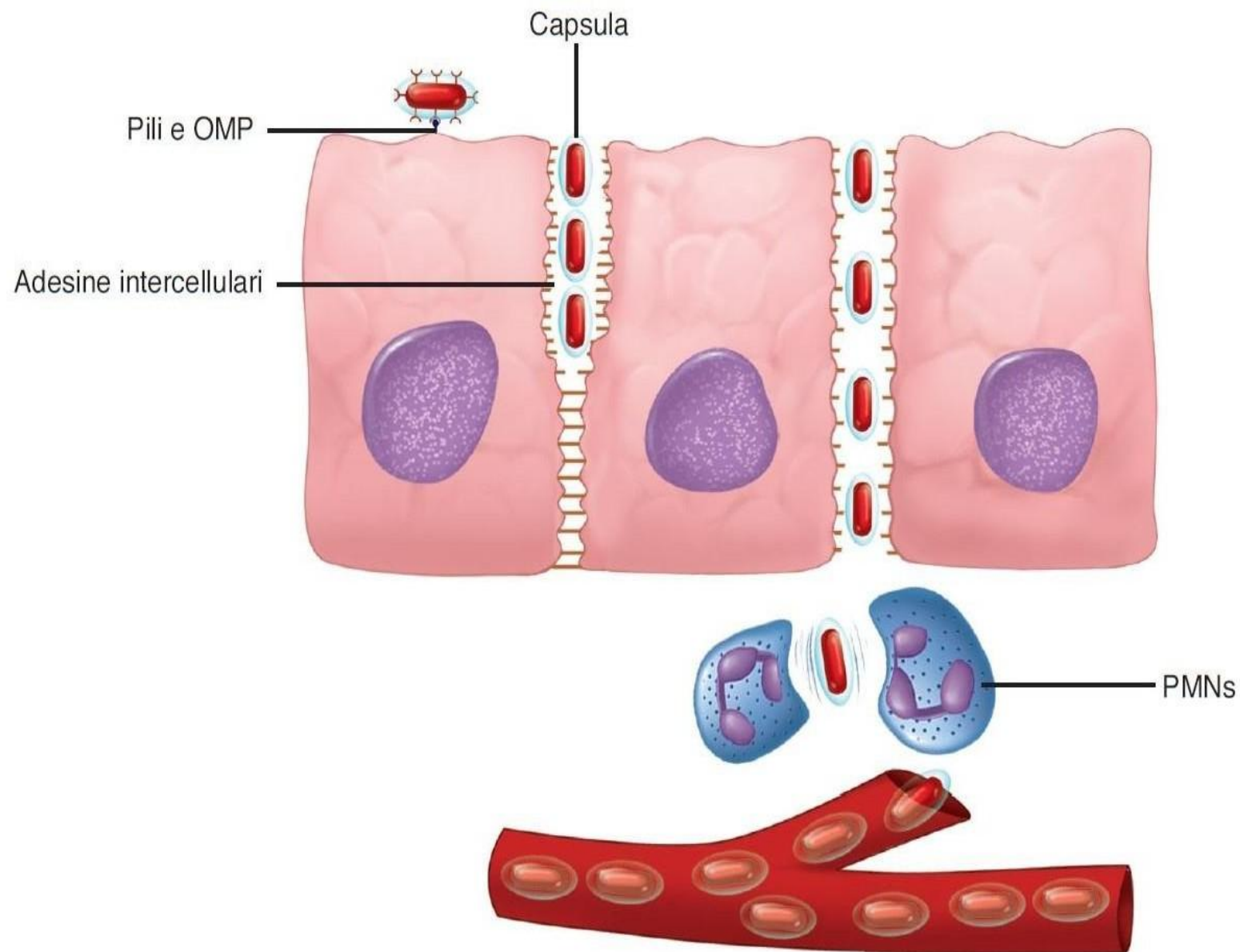
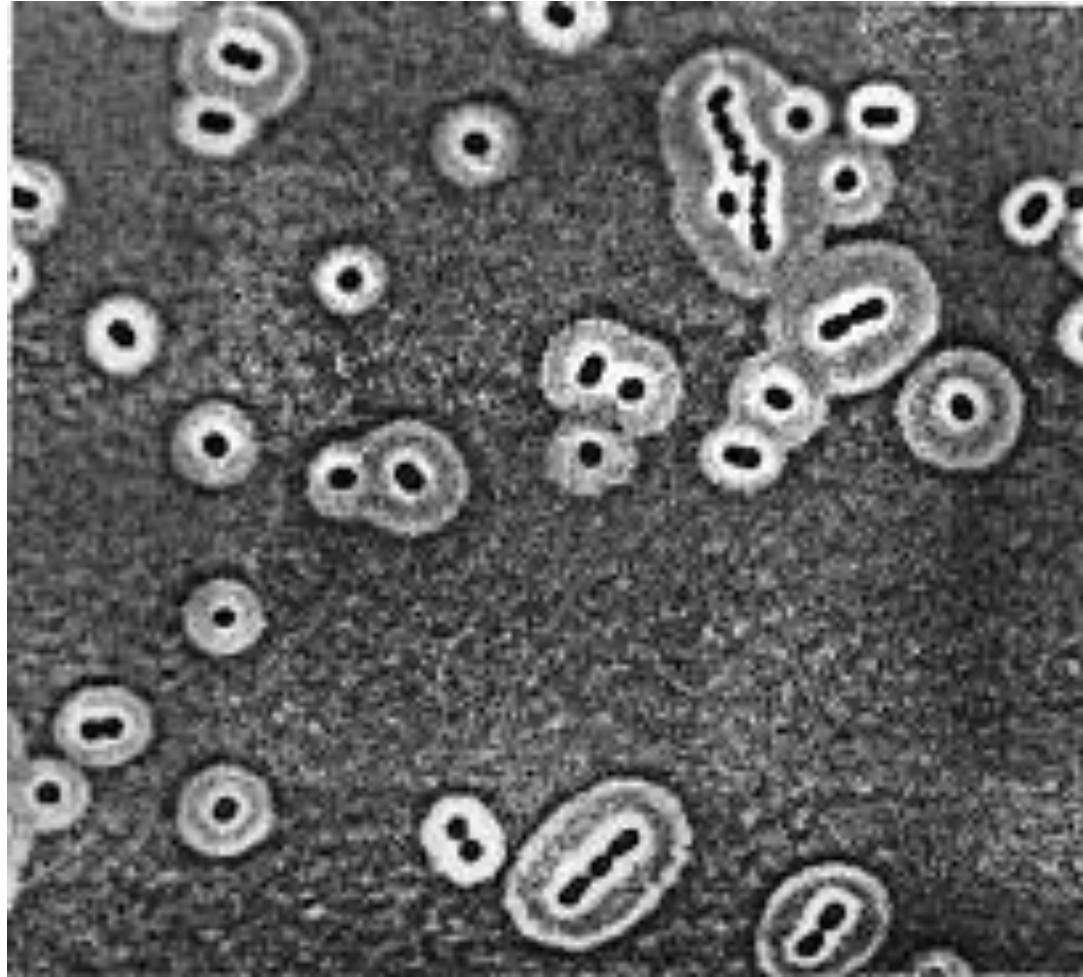


FIGURA 31-3. Malattia da *Haemophilus influenzae*: rappresentazione a livello cellulare. I microrganismi aderiscono alle cellule epiteliali mediante pili e proteine di membrana esterna (OMP). L'invasione ha luogo negli spazi intercellulari mediante la distruzione delle molecole di adesione intercellulare. Nella sottomucosa, la capsula consente al batterio di eludere la fagocitosi ed invadere il circolo ematico. PMNs, neutrofili polimorfonucleati.

Capsula

- Rilevabile
 - a fresco (inchiostro di china: **colorazione negativa**: i batteri con capsula hanno un alone chiaro esterno non penetrato dall'inchiostro)
 - rigonfiamento capsulare
 - dopo colorazione specifica

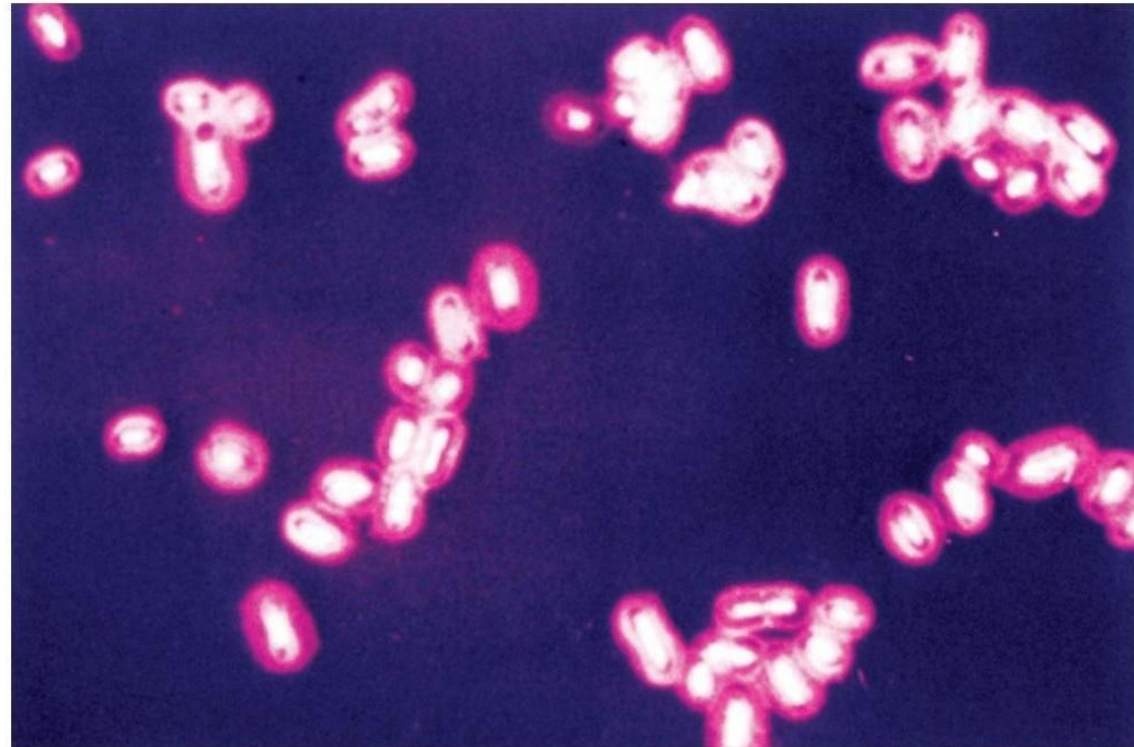
Capsula : colorazione del Burri con inchiostro di china



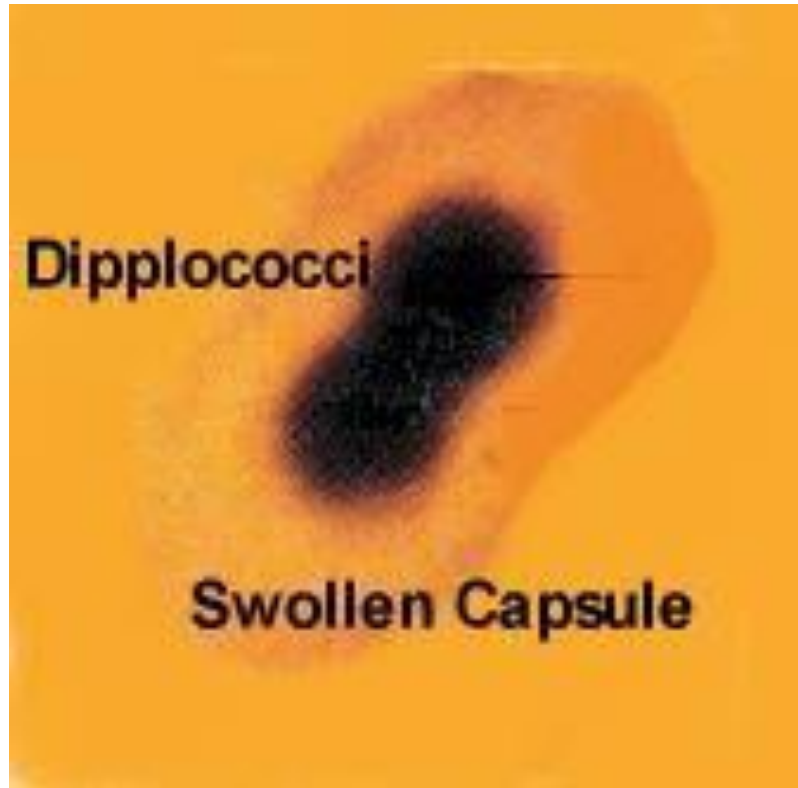
Capsula: contrasto di fase

FIGURA 21-3. Capsula batterica.

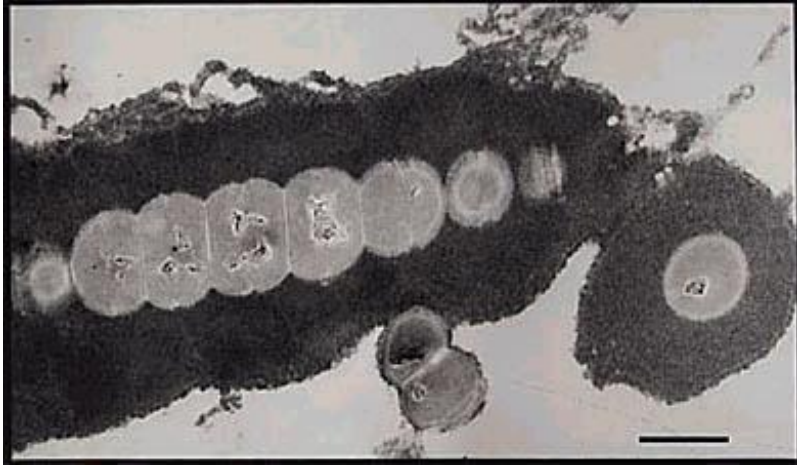
Capsula che circonda le cellule di *Klebsiella pneumoniae*, colorate in rosso. (Riproduzione autorizzata da Willey J, Sherwood L, Woolverton C (eds). *Prescott's Principles of Microbiology*. New York: McGraw-Hill; 2008).



Capsula polisaccaridica



- *Streptococcus pneumoniae*
- Capsula ancorata covalentemente alla parete
- **Basso potere antigenico**



Capsular Polysaccharide of Group A *Streptococcus*

MICHAEL R. WESSELS

Division of Infectious Diseases, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA

- *Streptococcus pyogenes*
- Capsula di acido ialuronico
- Assolutamente non immunogena

ABSTRACT Most clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* elaborate a capsular polysaccharide, which is composed of hyaluronic acid, a high-molecular-mass polymer of alternating residues of *N*-acetyl glucosamine and glucuronic acid. Certain strains, particularly those of the M18 serotype, produce abundant amounts of capsule, resulting in formation of large, wet-appearing, translucent or "mucoid" colonies on solid media, whereas strains of M-types 4 and 22 produce none. Studies of acapsular mutant strains have provided evidence that the capsule enhances virulence in animal models of infection, an effect attributable, at least in part, to resistance to complement-mediated opsonophagocytic killing by leukocytes. The presence of the hyaluronic acid capsule may mask adhesins on the bacterial cell wall. However, the capsule itself can mediate bacterial attachment to host cells by binding to the hyaluronic-acid binding protein, CD44. Furthermore, binding of the *S. pyogenes* capsule to CD44 on host epithelial cells can trigger signaling events that disrupt cell-cell junctions and facilitate bacterial invasion into deep tissues. This article summarizes the biochemistry, genetics, regulation, and role in pathogenesis of this important virulence determinant.

such strains was in fact due to elaboration of capsular polysaccharide, not M protein (3). Wilson showed that the mucoid or matte colony type was converted to a nonmucoid or glossy colony by growth on medium containing hyaluronidase which digested the hyaluronic acid capsule, whereas growth on medium containing trypsin, which digested M protein, had no such effect. Furthermore, while many strains that produced abundant capsular polysaccharide also were rich in M protein, expression of the two surface products was not always linked; certain mucoid or highly encapsulated strains produced little or no M protein, and certain strains rich in M protein produced little or no capsule (1, 4).

Both M protein and capsule have since been shown to contribute independently to *S. pyogenes* virulence. The association of mucoid strains of *S. pyogenes* with both invasive infection and acute rheumatic fever suggested a role for the capsular polysaccharide in viru-

Polisaccaridi extracellulari

Pseudomonas aeruginosa
Capsula di alginato

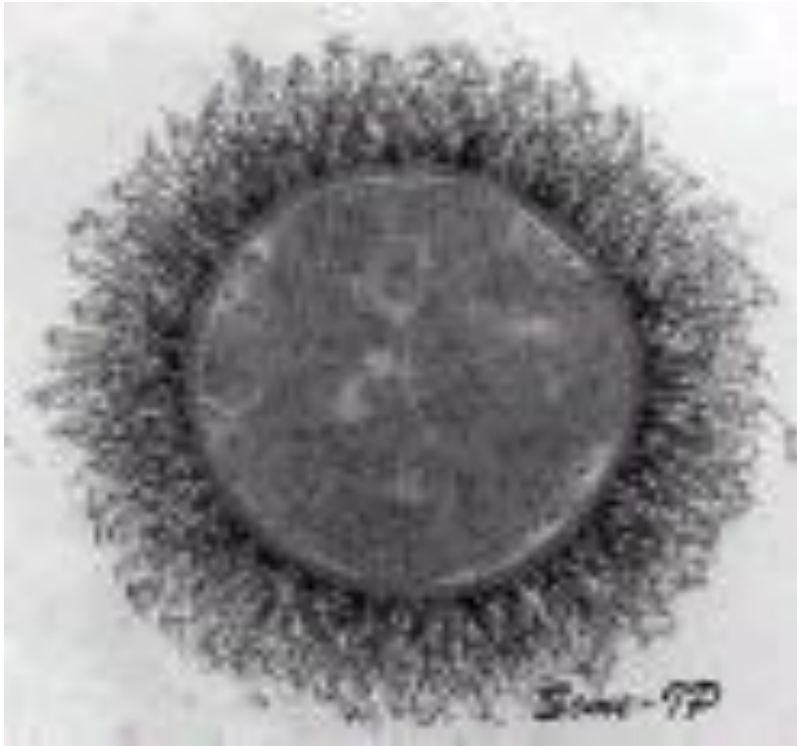


Tabella 2.4 **COMPOSIZIONE CHIMICA DI ALCUNE CAPSULE BATTERICHE.**

Batterio	Composizione delle capsule	Monomeri
Gram positivi		
<i>Bacillus anthracis</i>	Poliipeptidi (acido poliglutamico)	Acido D-glutamico
<i>Bacillus megaterium</i>	Poliipeptidi e polisaccaridi	Acido D-glutamico, aminozuccheri, zuccheri
<i>Streptococcus mutans</i>	Polisaccaridi	(Destrano) glucosio
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Polisaccaridi	Zuccheri, aminozuccheri, acido uronico
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Polisaccaridi (acido ialuronico)	N-acetil-glucosamina e acido glucuronico
Gram negativi		
<i>Acetobacter xylinum</i>	Polisaccaridi	(Cellulosa) glucosio
<i>Escherichia coli</i>	Polisaccaridi (acido colanico)	Glucosio, galattosio, fucosio, acido glucuronico
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Polisaccaridi	Acido mannuronico
<i>Azotobacter vinelandii</i>	Polisaccaridi	Acido glucuronico
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Polisaccaridi	(Glucano) glucosio

Tabella 2.4 **COMPOSIZIONE CHIMICA DI ALCUNE CAPSULE BATTERICHE.**

Capsula proteica

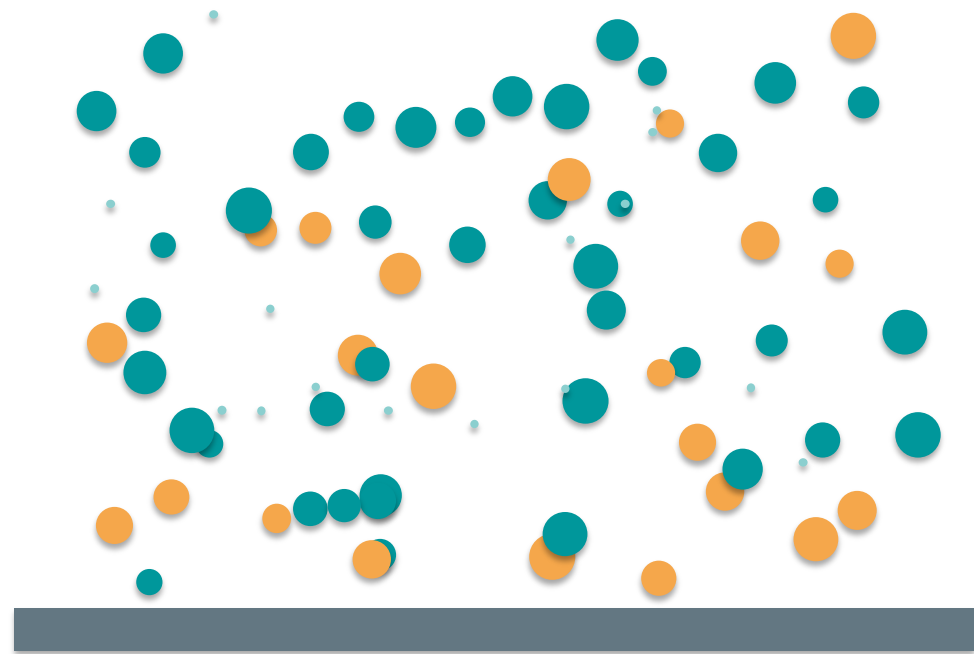


- *Bacillus anthracis*
- Capsula di acido glutammico

Che cos'è un biofilm?

- Aggregato di cellule aderenti a una superficie o tra loro
- Matrice extracellulare autoprodotta (SPE)
- Microambienti e fenotipi diversi nello stesso consorzio
- Presente in ambienti naturali, industriali e clinici

Cellule batteriche + matrice SPE



Il ciclo di sviluppo del biofilm

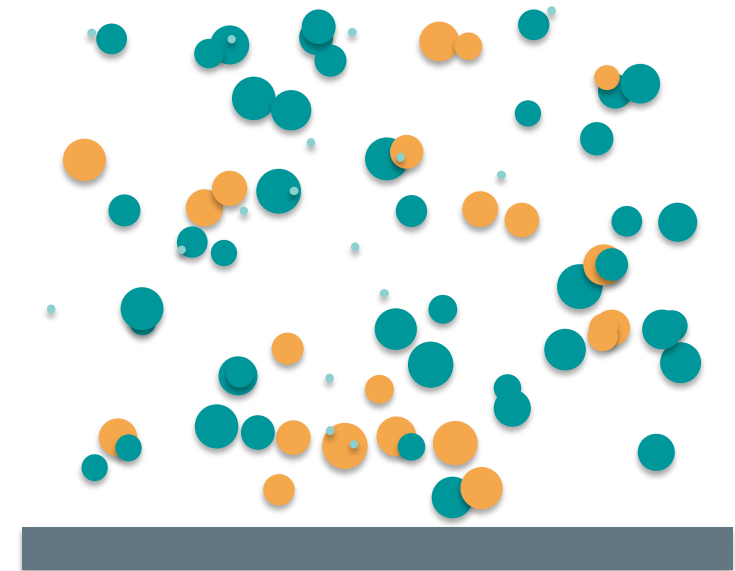


Modello concettuale: la formazione è dinamica e non sempre lineare.

Adesione: che cosa la favorisce?

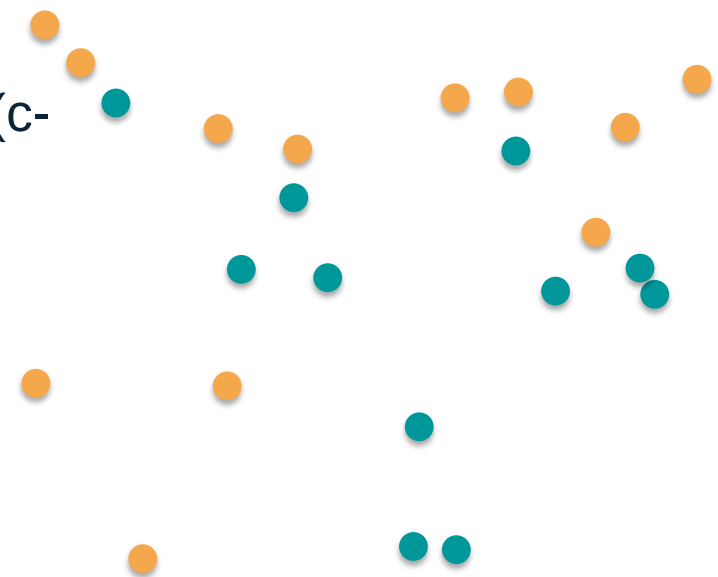
- Proprietà della superficie: rugosità, carica, idrofobicità
- Appendici e adesine: pili, fimbrie e proteine di superficie
- Condizioni locali: flusso, nutrienti, pH e temperatura
- Condizionamento della superficie da molecole organiche

Cellule batteriche + matrice EPS



Comunicazione e regolazione

- Quorum sensing: segnali chimici e risposta dipendente dal contesto
- Guanosina monofosfato ciclico dimerico, cyclic di-GMP (c-di-GMP): regolatore chiave della transizione sessile in molti batteri
- Espressione coordinata di adesine, EPS e motilità
- Cooperazione, competizione e interazioni tra specie

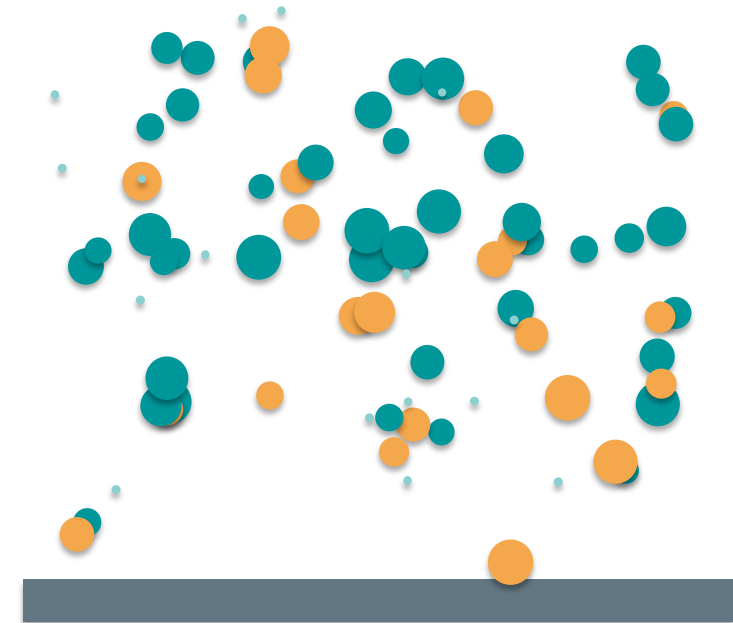


Segnali + regolazione →
comportamento collettivo

Gradienti e diversità fisiologica

- Ossigeno e nutrienti penetrano in modo non uniforme
- Coesistono cellule attive, lente e dormienti
- La struttura influenza la risposta a stress e antimicrobici
- La tolleranza non equivale necessariamente a resistenza genetica

Cellule batteriche + matrice EPS



Biofilm e antibiotici

- Penetrazione variabile degli antimicrobici
- Crescita lenta e cellule persistenti
- Risposte allo stress e protezione della comunità
- Recidive possibili se il biofilm non viene eliminato



Tolleranza ≠ resistenza

Esempi clinici

- *Pseudomonas aeruginosa*: infezioni respiratorie croniche (es. fibrosi cistica)
- *Staphylococcus epidermidis*: cateteri e dispositivi impiantabili
- *Staphylococcus aureus*: protesi e infezioni persistenti
- *Streptococcus mutans* e consorzi orali: placca dentale

Esempi ambientali e industriali

- Biofilm su rocce, sedimenti e superfici acquatiche
- Biofouling di tubazioni, membrane e impianti
- Biofilm nei sistemi di distribuzione dell'acqua
- Biofilm utili: trattamento delle acque reflue e bioreattori

Come si studiano?

- Crystal violet: biomassa aderente complessiva
- Microscopia confocale: architettura 3D e vitalità con sonde appropriate
- CFU: frazione coltivabile e vitale recuperata
- Microscopia elettronica: ultrastruttura
- Modelli statici e flow-cell: condizioni sperimentali diverse

Strategie di controllo

- Prevenire l'adesione: materiali e rivestimenti appropriati
- Rimuovere meccanicamente la biomassa quando possibile
- Associare pulizia, disinfezione e gestione dei dispositivi
- Approcci emergenti: enzimi anti-EPS, fagi e anti-quorum sensing
- Validare efficacia e sicurezza nel contesto applicativo

Messaggi chiave

- Il biofilm è una modalità di vita microbica organizzata
- La matrice EPS e i gradienti generano eterogeneità
- La tolleranza agli antimicrobici è multifattoriale
- Biofilm: problema clinico e industriale, ma anche risorsa biotecnologica

Per approfondire: Flemming et al., Nat Rev Microbiol (2016); Sauer et al., Nat Rev Microbiol (2022).

Attachment

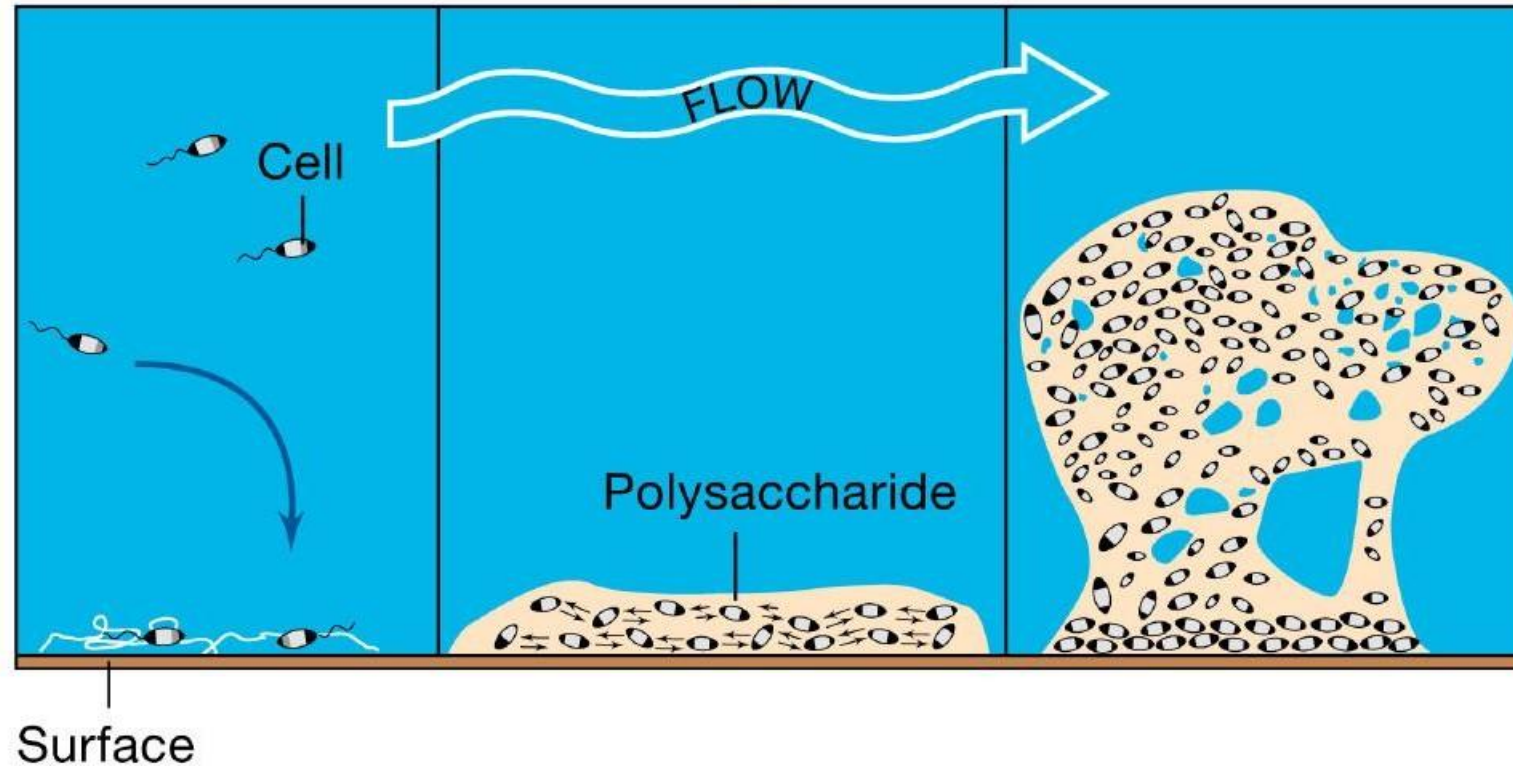
(adhesion of a few cells to a suitable solid surface)

Colonization

(intercellular communication, growth and polysaccharide formation)

Development

(more growth and polysaccharide)



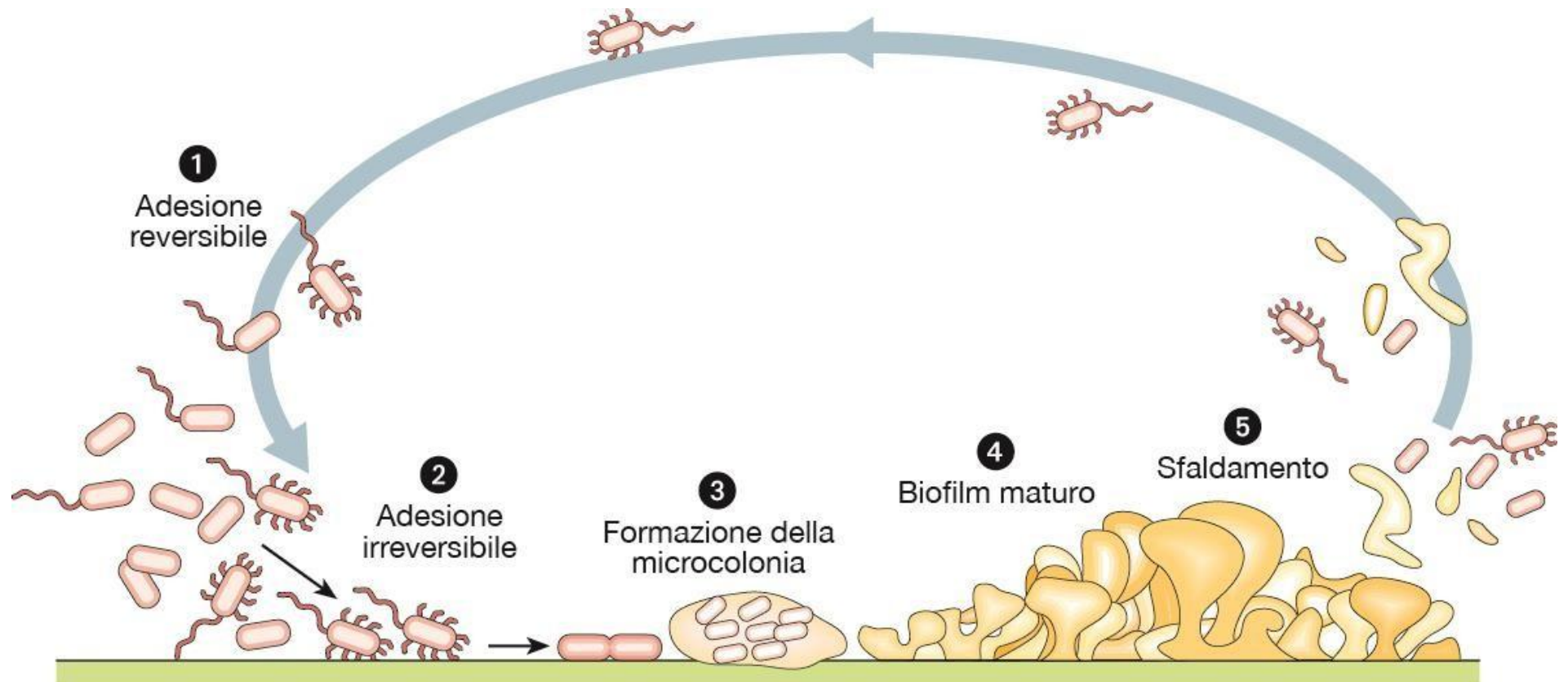


Figura 20.18 LE FASI DI FORMAZIONE E DECADIMENTO DEL BIOFILM.

Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies

Ailing Zhao¹, Jiazheng Sun² and Yipin Liu^{1*}

¹Department of Gastroenterology, Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Yantai, Shandong, China, ²Department of Vasculocardiology, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning, China

Bacterial biofilms are complex microbial communities encased in extracellular polymeric substances. Their formation is a multi-step process. Biofilms are a significant problem in treating bacterial infections and are one of the main reasons for the persistence of infections. They can exhibit increased resistance to classical antibiotics and cause disease through device-related and non-device (tissue) -associated infections, posing a severe threat to global health issues. Therefore, early detection and search for new and alternative treatments are essential for treating and suppressing biofilm-associated infections. In this paper, we systematically reviewed the formation of bacterial biofilms, associated infections, detection methods, and potential treatment strategies, aiming to provide researchers with the latest progress in the detection and treatment of bacterial biofilms.

Understanding Quorum-Sensing and Biofilm Forming in Anaerobic Bacterial Communities

Kinga Markowska , Ksenia Szymanek-Majchrzak , Hanna Pituch  and Anna Majewska * 

Department of Medical Microbiology, Medical University of Warsaw, 5 Chalubinski Str., 02-004 Warsaw, Poland

* Correspondence: anna.majewska@wum.edu.pl

Abstract: Biofilms are complex, highly organized structures formed by microorganisms, with functional cell arrangements that allow for intricate communication. Severe clinical challenges occur when anaerobic bacterial species establish long-lasting infections, especially those involving biofilms. These infections can occur in device-related settings (e.g., implants) as well as in non-device-related conditions (e.g., inflammatory bowel disease). Within biofilms, bacterial cells communicate by producing and detecting extracellular signals, particularly through specific small signaling molecules known as autoinducers. These quorum-sensing signals are crucial in all steps of biofilm formation: initial adhesion, maturation, and dispersion, triggering gene expression that coordinates bacterial virulence factors, stimulates immune responses in host tissues, and contributes to antibiotic resistance development. Within anaerobic biofilms, bacteria communicate via quorum-sensing molecules such as N-Acyl homoserine lactones (AHLs), autoinducer-2 (AI-2), and antimicrobial molecules (autoinducing peptides, AIPs). To effectively combat pathogenic biofilms, understanding biofilm formation mechanisms and bacterial interactions is essential. The strategy to disrupt quorum sensing, termed quorum quenching, involves methods like inactivating or enzymatically degrading signaling molecules, competing with signaling molecules for binding sites, or noncompetitively binding to receptors, and blocking signal transduction pathways. In this review, we comprehensively analyzed the fundamental molecular mechanisms of quorum sensing in biofilms formed by anaerobic bacteria. We also highlight quorum quenching as a promising strategy to manage bacterial infections associated with anaerobic bacterial biofilms.



<https://www.youtube.com/watch?v=tjYUSpFw0lw>