

Microbiologia generale

Definizione

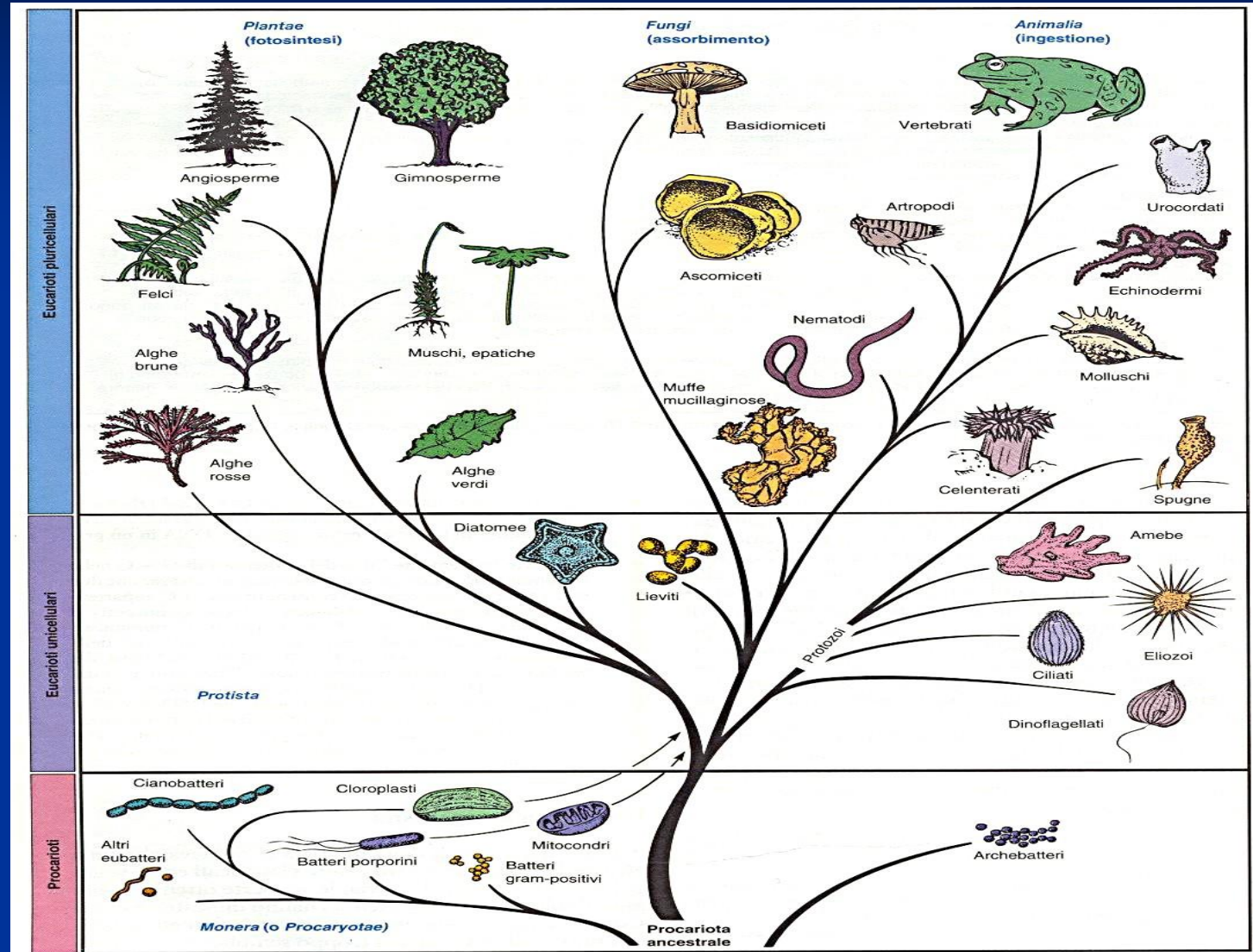
- La Microbiologia è la scienza che studia i microrganismi e la loro attività.
- Ha per oggetto la forma, la struttura, la riproduzione, la fisiologia, il metabolismo e l'identificazione dei microrganismi.

Studio dei microrganismi

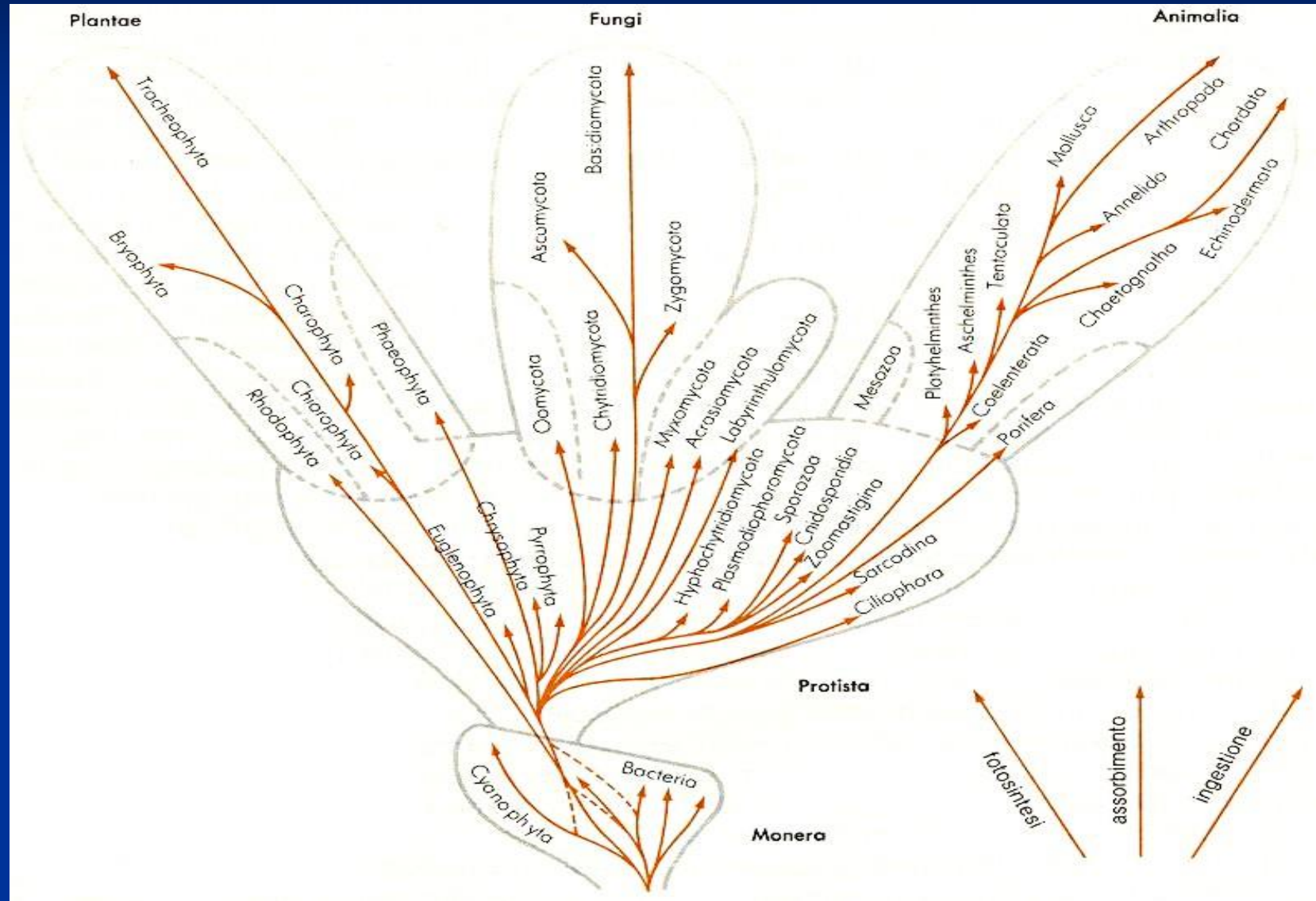
- Cosa sono i Microbi?

- I microbi sono piccoli organismi, in genere di dimensioni più piccole del potere di risoluzione dell'occhio umano
- Tipici microbi sono:
 - **batteri** (Regno Monera); anche gli **archebatteri**, che sembrano batteri ma sono rispetto ad essi molto differenti
 - **protozoi** (Regno Protista)
 - **alghe** (Regno Protista o Plantae, dipende dalla tassonomia)
 - **funghi** (Regno Fungi)
- Nota bene: solo i membri del regno Animalia (e la maggior parte degli appartenenti a Plantae) non sono considerati microbi
- I **Virus** sono anch'essi considerati microbi. I Virus non sono cellule, ma informazioni parassite. Essi sono classificati in maniera separata. Ogni regno ha i suoi virus associati (e.g., il virus HIV che causa l' AIDS non può infettare i batteri o le piante, o piuttosto altri mammiferi).
- Molti microbi vivono come cellule **unicellulari** o associazioni di cellule; alcuni come **multicellulari**, ma non così complessi come animali e piante

Adattamento del sistema classificativo ai cinque regni



Sistema di classificazione degli esseri viventi in cinque regni proposto da Wittaker

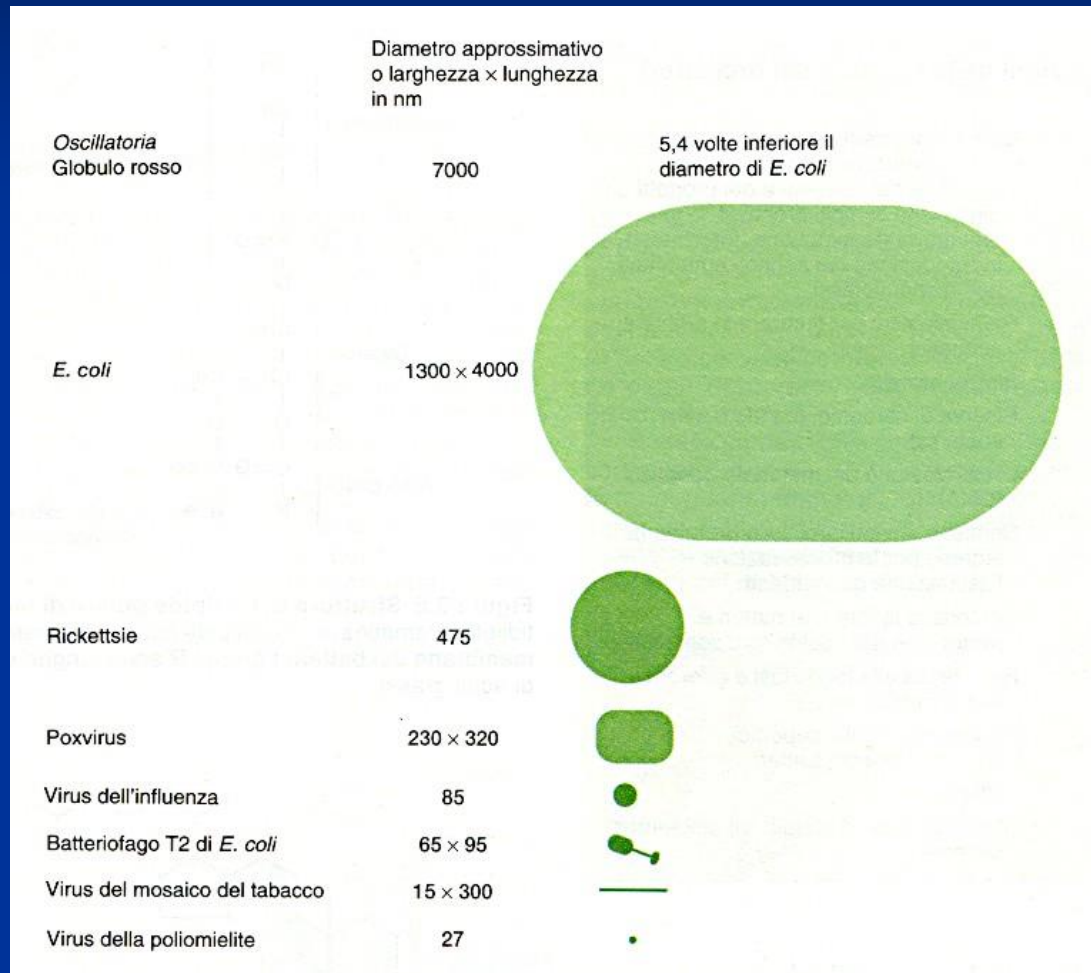


La Struttura dei Microbi

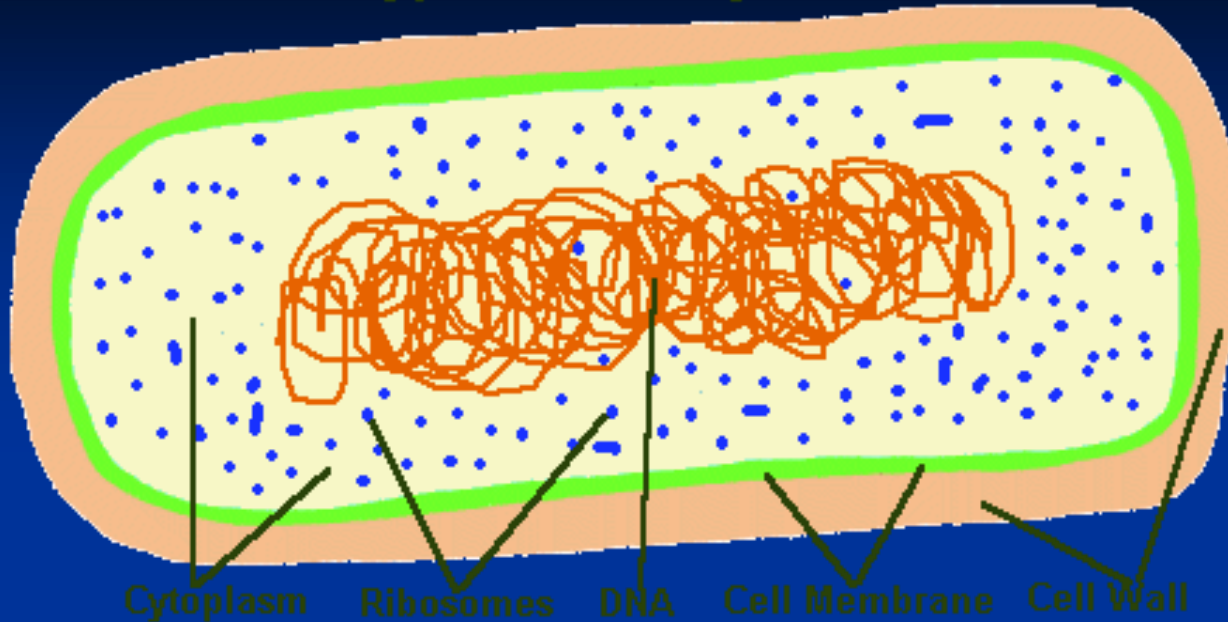
Esistono 5 gruppi base di microbi:

- batteri
 - funghi
 - virus
 - protozoi
 - alghe
- La cellula è l'unità di base della vita e in virtù della organizzazione strutturale le cellule viventi vengono divise in : procarioti ed eucarioti

Dimensioni dei batteri e dei virus



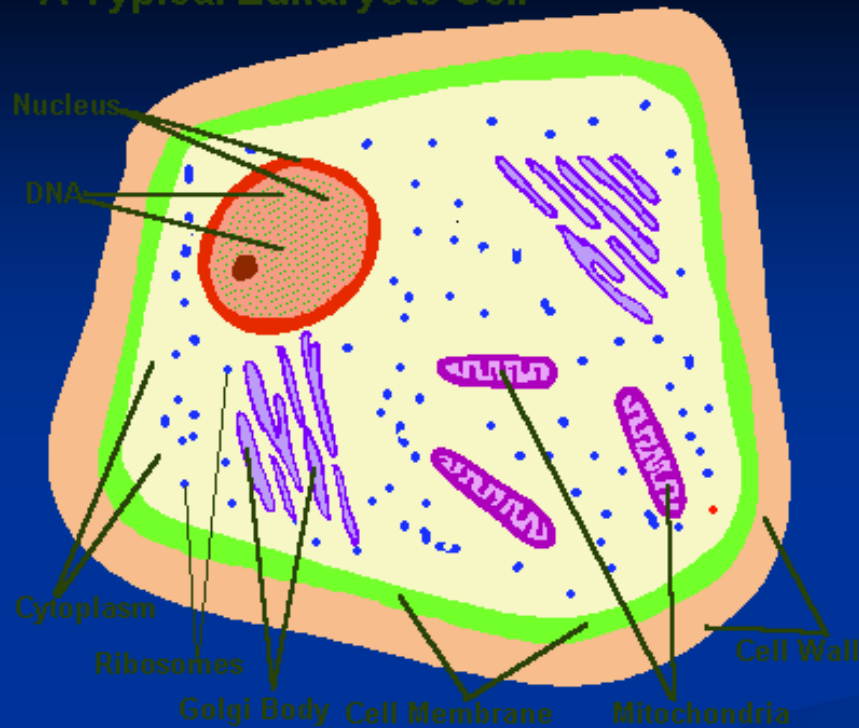
A Typical Prokaryote Cell



■ Prokarioti

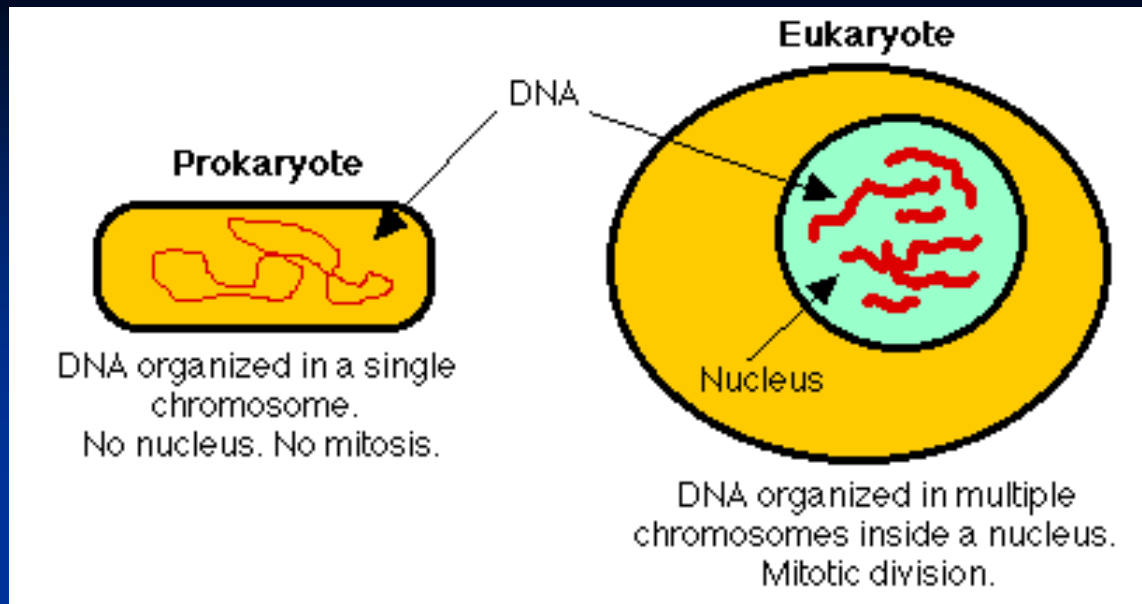
- "pro" = primitivo, + "karyos" = nucleo
- Include **batteri** e **cyanobatteri** (inizialmente chiamate alghe blue-verdi e ritenuti piante), così come gli archeobatteri
- Architettura semplice non rivelata sino alla scoperta della tecnologia MA negli anni '40
- Dimensioni tipiche : 0.5-5 μm (micrometri) diametro

A Typical Eukaryote Cell



■ Eukarioti

- "eu" = completo, + "karyos" = nucleo
- Tipicamente contengono organelli circondati da membrane (e.g. mitocondri, lisosomi, reticolo endoplasmatico, apparato del Golgi)
- Dimensioni tipici: a partire dai 5 micrometri (cellule fungine) sino a 50 o 100 micrometri. Poche cellule (come le cellule uovo degli uccelli e.g. struzzo) sono enormi, e alcune cellule (come le cellule animali nervose) possono raggiungere la lunghezza di parecchi metri anche se piccoli in diametro.
- Include protozoi, funghi, animali e piante.



- Le cellule procariote sono in genere più piccole delle cellule eucariote, infatti esse possono essere strutturalmente più semplici in virtù delle loro dimensioni ridotte.
- Più piccola è una cellula, più grande è il rapporto superficie/volume (es. una cellula sferica di 2 mm di diametro ha un rapporto s/v di 3:1 mentre una cellula del diametro di 20 mm ha un rapporto s/v di 0,3:1)
- Un rapporto s/v più ampio significa che le sostanze nutritive possono raggiungere più rapidamente e più facilmente l'interno della cellula, i.e. struttura più semplice (procarioti)
- Un rapporto s/v basso nelle cellule eucariote viene compensato da una specializzazione delle funzioni nei vari organelli.

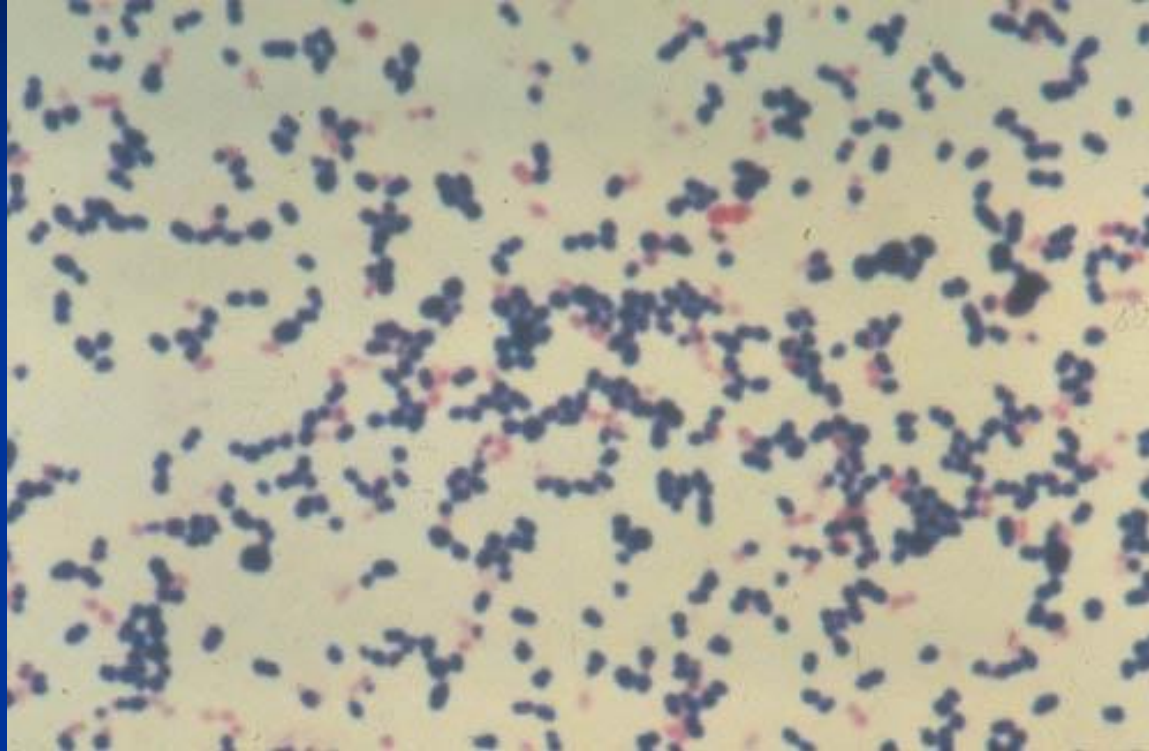
	Eucarioti	Procarioti
Dimensione	1-25 µm	0,3-2 µm
Nucleo		
Membrana	+	-
Nucleolo	+	-
Numero di cromosomi	>1 (diploidi)	1 (aploidi)
Presenza di istoni	+	-
Divisione nucleare per mitosi/meiosi	+	-
Strutture citoplasmatiche		
Flussi citoplasmatici e movimenti ameboidi	+	-
Mitocondri	+	-
REL-RER	+	-
Golgi	+	-
Lisosomi, vacuoli cloroplasti	+	-
Ribosomi	60S + 40S	50S + 30S
Mesosomi	-	+
Strutture di superficie		
Membrana citoplasmatica	+	+
Steroli nella membrana	+	- (rar. +)
Peptidoglicano nella parete cellulare	-	+
Flagelli	Con microtubuli	Flagellina

- La varietà dei Batteri

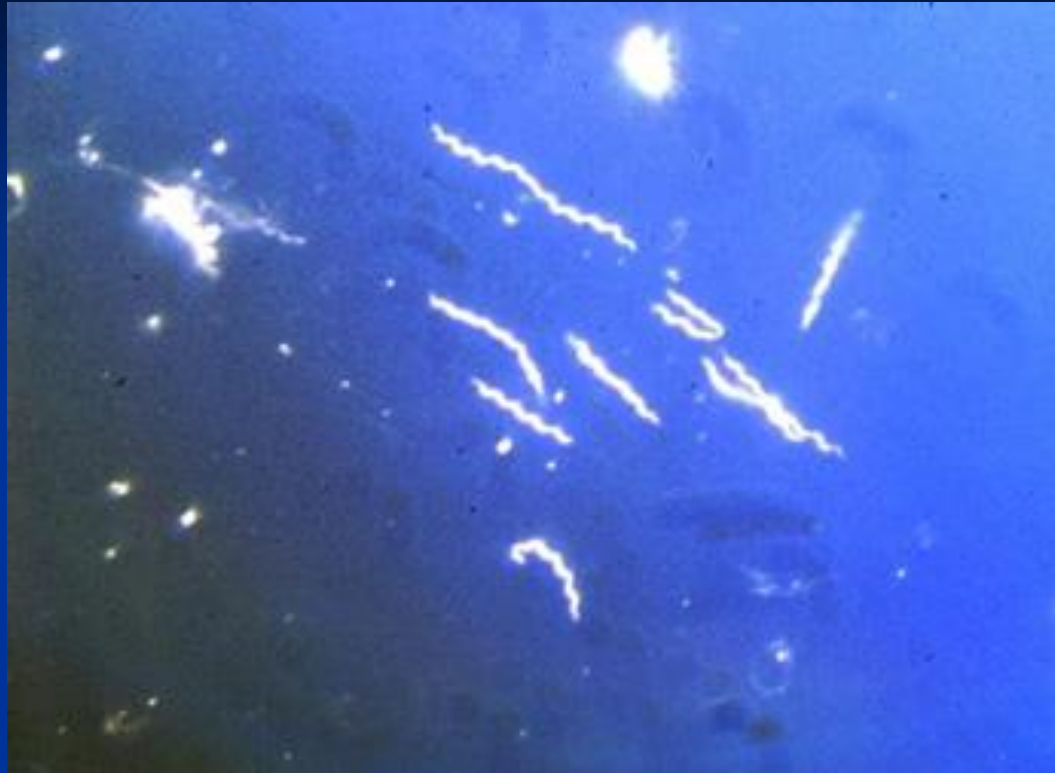
- Esiste una limitata variabilità di forme batteriche
 - Bastoncellare = bacilli (sing. bacillus). (*Pseudomonas aeruginosa*) colorazione Gram)



- Sferica = cocci (sing. coccus).



Gram-positivi (blu) cocci, e una serie di Gram-negativi (rossi) cocci. Il microrganismo che più frequentemente infetta la cute è lo *Staphylococcus aureus*, i microrganismi più giovani sono G+ i più vecchi G-



- **Spiraliformi = spirilli (sing. spirillum).**
- **Forme Filamentose.**
 - Comune tra gli actinomyceti. Possono crescere in forma filamentosa nota come **mycelio**. Anche noti come cyanobatteri.

■ **Forme Pleiomorfe.**

Alcuni batteri mancano di una forma distinta; tipico dei **Mycoplasmi** (anche noti come **Acholeplasmas**).

Essi sono privi di parete cellulare, e pertanto non hanno una forma precisa.

- **Batteri squadrati:**
scoperti nel 1981, (**Halophiles**)



Nomenclatura batterica

- Definita secondo il sistema Linnaeano:
Genere + specie. *Sempre in corsivo*,
Genere riportato con la prima lettera Maiuscola, la specie in lettera minuscola.
 - Esempi:
 - ***Escherichia*** (genere) ***coli*** (specie). Nome conferito dopo la scoperta di **Theodor Escherich**, un batteriologo tedesco il quale ha scoperto tale microorganismo nell'intestino nel 1885. Lo chiamò *Bacterium coli*, ma è stato in seguito rinominato in tal modo in suo onore.
Solitamente abbreviato come *E. coli*.
 - ***Bacillus megaterium***; un microrganismo di forma bastoncellare membro del Genere *Bacillus*.
 - ***Enterococcus faecalis***; microrganismo fecale, di forma coccica
- Il nome spesso ne rivela le caratteristiche.
 - Nota: ***Bacillus*** (un genere di batterio) vs bacilli (termine generale per indicare bastoncelli)

TASSONOMIA

- Organizzazione di microrganismi, che presentano caratteri morfologici biochimici e genetici simili, in gruppi o **taxa**
- **Tassonomia:** scienza che studia la classificazione dei microrganismi
- sistema gerarchico
 - Phylum
 - Classe
 - Ordine
 - Famiglia
 - Genere
 - Specie

- **unità tassonomica** = **specie**: insieme di ceppi batterici che mostrano molte caratteristiche fenotipiche comuni che ne permettono la distinzione da altre specie
- **ceppo o clone**: insieme di cellule geneticamente identiche, derivate da subcoltura di una singola colonia isolata in purezza
- - ceppo tipo (type strain): coltura da cui è stata descritta originariamente la specie; depositata presso collezioni di colture batteriche (ATCC...); esempio permanente della specie
- - ceppo di riferimento: coltura usata in studi di malattie infettive e per diverse applicazioni di laboratorio; depositata presso collezioni (≠ ceppi per ≠ usi)

CLASSIFICAZIONE dei BATTERI

a seconda del tipo di differenze tra ceppi di una stessa specie:

Biotipi o Biovars: ceppi caratterizzati da differenze biochimiche o fisiologiche

Sierotipi o Serovars: ceppi caratterizzati da differenze Antigeniche

Fagotipi o Phagovars: ceppi caratterizzati da differenze di sensibilità a diversi batteriofagi

Resistotipi: ceppi caratterizzati da differenze nella resistenza agli antibiotici

- sistema di classificazione linneiano
- nomenclatura binomiale
- nome di specie costituito da 2 parole latine (in corsivo)
 - 1a = **genere** (iniziale maiuscola)
 - 2a = **specie** (iniziale minuscola)

nomi di genere e di specie di diversa derivazione e di diverso significato

es.: *Borrelia burgdorferi*, *Brucella abortus*, *Chlamydia suis*, *Clostridium tetani*,
Ehrlichia canis, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*,

- classificazione descritta nel
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

aggiornamenti tassonomici riportati
in alcuni siti internet
ad es.: <http://www.bacterio.cict.fr/>

Modifiche tassonomiche

- La posizione tassonomica di alcuni batteri va modificata rispetto al libro di testo consigliato:

Nuova

Mycoplasma haemosuis

Mycoplasma haemofelis

Mycobacterium avium

subsp. paratuberculosis

Burkholderia mallei

Vecchia

Eperythrozoon suis

Haemobartonella felis

Mycobacterium paratuberculosis

Pseudomonas mallei

Per ogni genere vanno prese in considerazione le seguenti caratteristiche:

- - Gram +/Gram -
- - Morfologia
- - Dimensioni
- - Mobilità o meno
- - Esigenze di O₂
- - Habitat

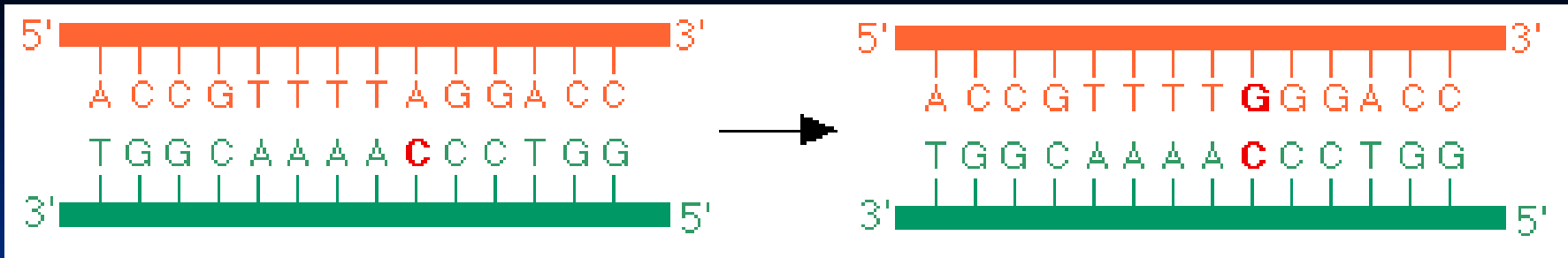
All'interno di ogni genere vanno trattate le specie più importanti in relazione alle malattie causate negli animali.

Classificazione il sistema a tre domini di Woese

- è facile comparare differenti animali o piante, vi sono molti aspetti strutturali, ed anche i fossili per ricostruire gli ancestrali. Ma come valutare la diversità dei microbi? Esistono molto poche differenze strutturali, così come diversi metabolismi e regole ecologiche.

"La tassonomia molecolare" è un nuovo approccio basato su pochi assunti:

- I Geni mutano in maniera casuale
- molte mutazioni sono "neutrali" - non portano ad un ovvio svantaggio per il ceppo.
- quando si stabilisce una mutazione, tutta la progenie della cellula parentale porta quella particolare mutazione. Per esempio nella figura che segue se il templatato "A" viene erroneamente replicata in "C" nella catena opposta in luogo della "T" nella generazione seguente l'errore verrà reso stabile e tutta la progenie con quel DNA sarà per sempre alterata

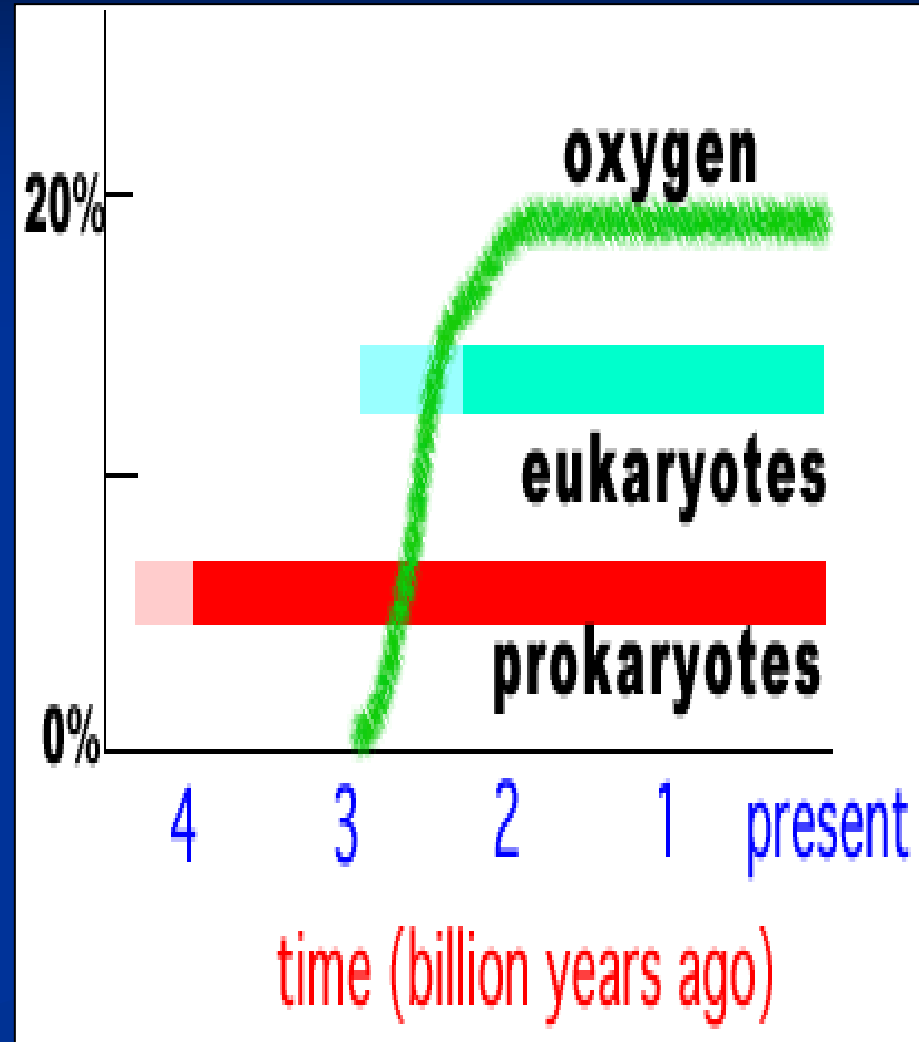


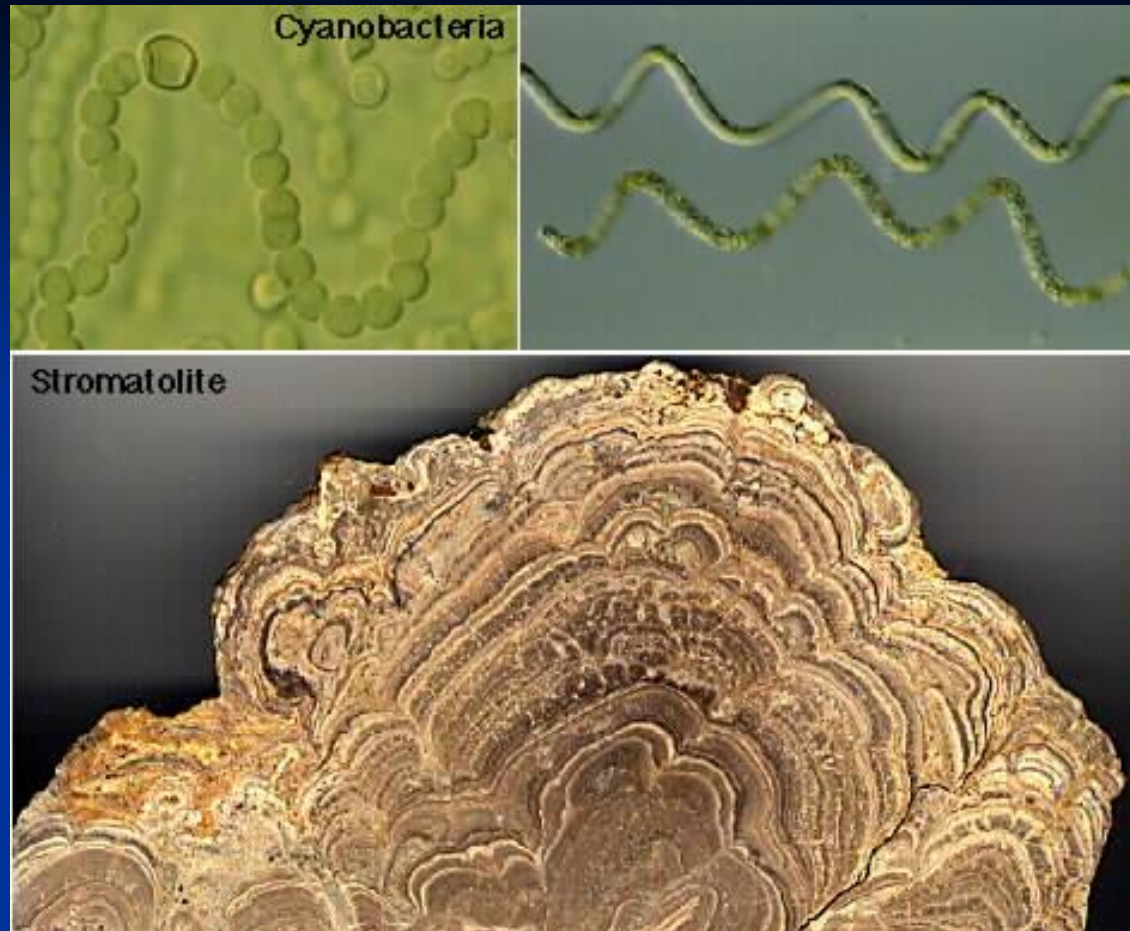
- In lunghi periodi di tempi, si assume che mutazioni si verifichino con una precisa frequenza. Questa è la teoria "dell'orologio molecolare".
- Per confrontare i microbi che si sono evoluti in milioni di anni, c'è bisogno di trovare alcune molecole riscontrabili in tutte le cellule, che accumulano mutazioni solo molto lentamente.
- **Carl Woese**, ha speso anni nel sequenziare e comparare le sequenze geniche delle piccole subunità ribosomiali:
- 16S RNA si trova nella piccola subunità ribosomiale (30S) dei ribosomi dei procarioti. I ribosomi degli eucarioti hanno subunità 40S con 18S RNA.
- Molte mutazioni ribosomiali sono deleterie. Poche mutazioni sono neutrali.
- Pertanto l'evoluzione del 16S RNA è molto lenta. Esso è pertanto una molecola buona da usare per comparare organismi che abbiano effettuato una diversione da 3 a 4 milioni di anni fa.

Storia dei Batteri

Da dove derivano i batteri?

- La terra si è formata circa 4.5 miliardi di anni fa
- Batteri fossili possono essere ritrovati nelle rocce più antiche (~ 3.8 miliardi di anni)
- Le condizioni della terra in passato erano **anaerobiche**.
- I Cyanobatteri hanno sviluppato la capacità di utilizzare l'acqua come materia prima nella fotosintesi, producendo ossigeno libero.
- Ciò ha portato all'aumento dell' O_2 nell'atmosfera dallo 0% al 20% circa 2 miliardi di anni fa.





- I primi fossili eucarioti risalgono a più di 2 milioni di anni fa (2.8), e gli animali si sono evoluti circa 0.6 milioni di anni fa. Tutta la vita attualmente esistente si è evoluta a partire dai batteri.

stromatoliti, resti fossili di antichi cianobatteri



Il meteorite contenente microrganismi

Sydney, 18 dicembre 2000 (comunicato ANSA)

In un meteorite caduto in Australia 31 anni fa gli scienziati avrebbero rinvenuto tracce di vita extraterrestre: strutture simili a microrganismi fossilizzati si troverebbero in un meteorite datato circa 4,5 miliardi di anni. Questo masso deriverebbe da una cometa o da un asteroide che circa 800 mila anni fa si sarebbe frammentato per poi cadere nel 1969 sulla cittadina di Murchison (Melbourne)

Reperti ed in particolare "strutture bacillari (allungate)": si potrebbe trattare di batteri capaci di sopravvivere in condizioni estreme e che queste forme di vita, ad ampia valenza ecologica, potrebbero fare a meno dell'ossigeno ed essersi sviluppate fuori del nostro Sistema Solare, prima che il meteorite cadesse sulla Terra.

Infatti la comparazione con microrganismi estremofili terrestri, che vivono in ambienti come fonti termali o geyser (temperature di 80° C e oltre!), sotto la calotta glaciale dell'Antartide (-90°C e più) e persino nelle barre di combustibile nucleare, ha dato esiti convergenti. *Ricerche su comete e meteoriti danno riscontri significativi di come, su questi corpi cosmici, siano presenti acqua, aminoacidi e strutture zuccherine, in pratica tutte sostanze fondamentali (ad eccezione degli acidi nucleici DNA ed RNA) per l'organizzazione biologica, almeno come noi la conosciamo.*



Un altro famoso meteorite dal "contenuto interessante": il geologo A. Hildebrand ne mostra un frammento proveniente dal lago ghiacciato Tagish (Canada): è forse il più antico corpo celeste arrivato mai sulla Terra e potrebbe conservare le molecole, contenenti tra l'altro carbonio e zolfo, da cui si originò il sistema solare e forse anche la vita.

Distribuzione

- I batteri sono gli organismi più abbondanti sulla terra, ubiquitari, nell'acqua, aria, terra, rocce, (batteri vivi si ritrovano anche in rocce a più di 1 km al di sotto della superficie terrestre)
- Riscontrabili per grammo di terreno fertile
- Gli esseri viventi contengono 10^{14} cellule batteriche, 10^{13} cellule umane; 10% del peso secco è di origine batterica (principalmente a livello intestinale).

Le feci sono composte in 1/3 di batteri.

- Uno dei principali problemi per la salute pubblica: eliminare i microrganismi o prevenirne la crescita. Problemi pratici per il cibo, bibite, cosmetici, farmaci e altre industrie..
- Dove non si trovano i microbi?
Solo all'interno dei tessuti organici fino a che le difese dell'organismo li controllano.

Cosa fanno i microbi?

- Quando il nutrimento è abbondante, la sopravvivenza microbica è molto semplice: MANGIA, CRESCE E SI DIVIDE.
- La velocità di crescita può essere eccezionalmente rapida: e.g. alcuni batteri possono riprodursi ogni 20 min. in condizioni ottimali.

- Fisiologia: che cibo mangiano? Da cosa producono energia? Da parecchie fonti: e.g. alcuni batteri possono utilizzare sino a 150 differenti sostanze chimiche quale unica sorgente di carbonio.
- I Batteri presenti nel tratto digerente sono importanti per gli animali per digerire il cibo. In alcuni animali essi sono essenziali per la sopravvivenza (i.e. ruminanti).
- Molti prodotti alimentari umani sono prodotti da batteri o funghi: yogurt, formaggi e altri prodotti lattiero-caseari ; birra, vino ed altre sostanze alcoliche.
- I batteri raramente hanno a disposizione nutrimento in quantità, per cui spesso sono rinvenibili in forme dormienti. I Batteri possono sopravvivere con metabolismo minimo in ambienti estremi come i ghiacci antartici, rocce, sorgenti sulfuree bollenti ed altre.
- I batteri posseggono molti e sofisticati meccanismi per ovviare alla mancanza di nutrimento, quali secernere antibiotici o altre tossine, modificando il metabolismo intracellulare, e producendo strutture modificate per la quiescenza (spore, cisti, endospore).

Perché la microbiologia è importante?

- **Malattie.** Sin dalla scoperta dei microbi infettivi, molte malattie infettive controllate dalla sanitizzazione, medicina preventiva e chemioterapia.
- **Agricoltura.** I microbi sono essenziali nella processazione dei materiali nel terreno, e.g. nitrogeno, zolfo, etc.
- **Cibo e bevande.** Le fermentazioni microbiche responsabili per tutte le bevande alcoliche, pane, formaggio, etc.
- **Sostanze chimiche.** I Microbi posseggono una incredibile varietà di pathways metabolici essi possono essere utilizzati per produrre acetone ed altri solventi organici, farmaci, antibiotici, etc.

Perché la microbiologia è importante?

- **Ricerca di base.** I microbi crescono rapidamente, e producono enormi quantità di progenie. È facile il verificarsi di eventi che si verificano solo una volta ogni milione di replicazioni ed è facile che si verifichi se si hanno 100 milioni di batteri in un tubo
- **Biotecnologia.** Es. ingegneria genetica, capacità di spostare geni da un organismo ad un altro, geni selezionati di interesse e amplificati per la loro espressione. I batteri sono ospiti naturali per tali attività.

I germi sono organismi piccolissimi che possono essere visti soltanto con il microscopio. Il termine germi è generico e comprende vari microrganismi quali batteri, virus, funghi e alghe.

Nel settore alimentare quelli più importanti sono i batteri, microrganismi unicellulari che si trovano ovunque: nell'aria, negli alimenti, nella terra, nell'acqua e all'interno degli esseri viventi.

I batteri possono essere:

•**Utili.**

Sono batteri che caratterizzano il formaggio. Lo yogurt. gli insaccati vari. e impediscono ad altri batteri pericolosi di svilupparsi.

Deterioranti.

Sono i batteri della putrefazione; si moltiplicano in presenza di umidità, alta temperatura, variazione del PH e tempi di conservazione troppo lunghi.

Pericolosi.

Sono batteri patogeni, ossia quelli che causano malattie (infezioni o intossicazioni), direttamente o attraverso la produzione di sostanze tossiche chiamate tossine.

Nel caso delle infezioni il germe si moltiplica anche all'interno dell'organismo umano ed è questa la causa della malattia.

Nel caso invece dell' intossicazione invece, il germe contamina l'alimento con le proprie tossine e la malattia viene contratta ingerendo l'alimento contaminato.

I germi possono riprodursi **soltanto in condizioni favorevoli** di:

- tempo.**

E' essenziale che i germi abbiano il tempo necessario per potersi riprodurre. In dodici ore da un solo germe se ne possono sviluppare cinque miliardi.

- umidità.**

La presenza di acqua è **fondamentale** per la vita di tutti gli esseri viventi, e quindi anche per i germi. Gli alimenti a più alto tasso di umidità sono quelli che più facilmente consentono lo sviluppo batterico, come ad esempio i brodi.

I germi tuttavia non possono utilizzare l'acqua se questa è combinata con sostanze solide, per esempio sale e zucchero.

- temperatura.**

La temperatura ideale per il loro sviluppo è quella compresa tra 10 °C e i 60 °C. La temperatura che prediligono è molto vicina a quella del nostro corpo (37 °C) e ciò spiega l'attitudine che questi germi hanno per attecchire e svilupparsi nel nostro organismo causando malattia.

Con le basse temperature viene loro a mancare l'acqua e quindi rimangono immobilizzati. Non muoiono, si arresta solo la loro produzione, che riprende non appena si ristabilisce una condizione favorevole di temperatura.

Solo una temperatura elevata garantisce la morte dei germi patogeni.



Le malattie alimentari da microrganismi patogeni

Per proteggere la nostra salute dobbiamo conoscere i potenziali rischi connessi alla produzione, manipolazione e conservazione dei cibi.

La salubrità di un alimento infatti dipende da numerosi fattori e presuppone il rispetto di fondamentali regole igienico-sanitarie necessarie per evitare alterazioni fisiche, contaminazioni chimiche e microbiologiche.

Nell'organismo umano, negli animali, nell'ambiente e negli alimenti sono presenti microrganismi: alcuni sono da considerarsi "utili" (collaborano ad esempio nei processi digestivi e vengono utilizzati nella preparazione di alimenti come i formaggi, lo yogurt, ecc.), altri "dannosi" per la salute dell'uomo in quanto possono essere responsabili di malattie e pertanto devono essere combattuti.



Intossicazioni alimentari: insorgono per consumo di un alimento che contiene una tossina, risultato di uno sviluppo microbico nell'alimento. Il batterio può anche essere già morto, ma la tossina può permanere (è il caso, ad esempio, dell'intossicazione stafilococcica e della gastroenterite da *Bacillus cereus*).

Infezioni alimentari: insorgono quando l'alimento consumato contiene batteri patogeni che colonizzano l'intestino dell'uomo, si sviluppano e causano lesioni ai tessuti. In generale non è necessario che il batterio si moltiplichi nell'alimento, ma se ciò accade la probabilità di infezione aumenta (è il caso, ad esempio, della salmonellosi, della shigellosi, della listeriosi e dell'enterite da *Campylobacter*).

Tossinfezioni alimentari: sono una combinazione delle due prime forme. Il microrganismo patogeno deve raggiungere cariche molto elevate nell'alimento e dopo l'assunzione da parte dell'uomo continua il suo sviluppo nell'intestino, libera la tossina che scatena la sintomatologia (per esempio, gastroenteriti da *Clostridium perfringens* e ceppi enterotossigeni di *Escherichia coli*).