

Γενική Μικροβιολογία

Δρ. Ιωάννης Γιαβάσης

Αναπληρωτής Καθηγητής Μικροβιολογίας
Τροφίμων και Μικροβιακών Ζυμώσεων

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Επιστήμης
Τροφίμων και Διατροφής

Ιστορική Αναδρομή

- Η ζωή στον πλανήτη ξεκίνησε από τους μικροοργανισμούς: αναερόβιοι μ/ο που παρήγαγαν οξυγόνο (σήμερα επικρατούν οι αερόβιοι μικροοργανισμοί)
- Άγνωστη η ύπαρξή τους μέχρι την ανακάλυψη του μικροσκοπίου

Σημαντικές ανακαλύψεις:

- Αριστοτέλης 4^{ος} αιώνας: Περί ζώων ιστορίας και Περί ζώων γενέσεων (θεωρία της αυτόματης γένεσης)
- Robert Hooke (1665) και Antony van Leeuwenhoek (1677): παρατήρηση «μικρών ζώων» στο πρώτο μικροσκόπιο. Εισαγωγή της έννοιας κύτταρο (cell) και γέννηση της επιστήμης της Μικροβιολογίας
- Pasteur (1858): απόρριψη της θεωρίας της αυτόματης/αυθόρμητης γέννησης, ανακάλυψη της παστερίωσης
- Robert Koch και RJ Petri (1881-1887): καλλιέργεια βακτηρίων σε στερεό θρεπτικό μέσο (τρυβλία Petri)
- D.A. Flemming 1892: ανακάλυψη της παραγωγής πενικιλίνης από το μύκητα Penicillium
- K. Mullis 1983: ανακάλυψη της αντίδρασης PCR (αλυσιδωτή αντίδραση ₂ πολυμεράσης) και ανάπτυξη του κλάδου της μοριακής μικροβιολογίας

Ιστορική Αναδρομή

- Το πείραμα του Pasteur που αντέκρουσε τη θεωρία της «αυθόρμητης γέννησης»

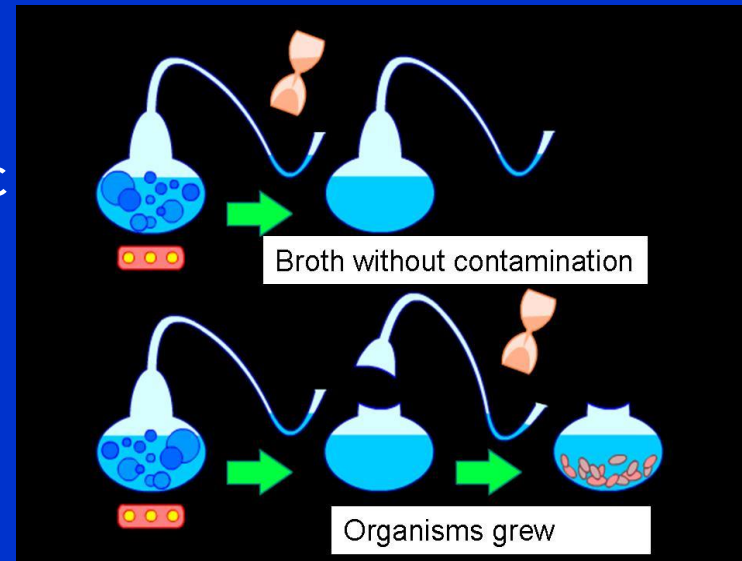
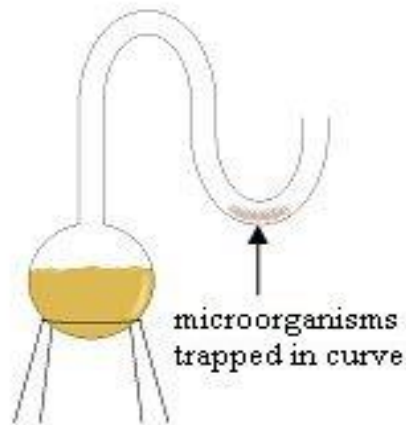


FIGURE 1.4
Pasteur's Experiment

Illustrations by Megan Whitaker



The infusion was boiled for a long time to kill all microorganisms present.



After several days, no microorganisms appeared in the infusion.



The flask was tipped to allow the trapped microorganisms to enter the infusion.



Microorganisms quickly multiplied in the infusion.

Ιστορική Αναδρομή

- Οπτικά Μικροσκόπια Robert Hooke, Antony van Leeuwenhoek (17^{ος} αιώνας)



- Οπτικά Μικροσκόπια 20^{ου} αιώνα



- Δυνατότητα παρατήρησης της μορφολογίας βακτηρίων, μυκήτων, ζωικών και φυτικών κυττάρων

Ιστορική Αναδρομή

- Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (electron microscope) (1931)
- Δυνατότητα παρατήρησης ιών, κυτταρικών οργανιδίων, κυτταρικής δομής και βιομορίων



Ιστορική Αναδρομή

- Διαχωρισμός της Μικροβιολογίας σε επιμέρους κλάδους:
- Ιατρική Μικροβιολογία: Μελέτη παθογόνων μικροοργανισμών
- Μικροβιολογία Τροφίμων: Μελέτη αλλοιογόνων, τροφοπαθογόνων, και ωφέλιμων μικροοργανισμών (σε ζυμούμενα και σε προβιοτικά τρόφιμα)
- Περιβαλλοντική Μικροβιολογία: Μελέτη παθογόνων του νερού και του εδάφους, αλλά και τεχνολογικά ωφέλιμων μικροοργανισμών (στην αποικοδόμιση τοξικών ουσιών/αποβλήτων, βιολογικό καθαρισμό, βελτίωση εδαφών και υδάτων, κλπ)
- **Σημείωση:** Δεν είναι όλοι οι μικροοργανισμοί επικίνδυνοι ή ανεπιθύμητοι. Αντίθετα οι περισσότεροι είναι αβλαβείς για τον άνθρωπο ή και ωφέλιμοι.
- Βιοτεχνολογία: Η επιστήμη της αξιοποίησης ωφέλιμων μικροοργανισμών (ή ενζύμων αυτών, ή ζωικών/φυτικών κυττάρων) στην υπηρεσία του ανθρώπου (π.χ. παραγωγή αντιβιοτικών, ορμονών, βιταμινών, ενζύμων, πεπτιδίων, πολυσακχαριτών, οργανικών οξέων, χημικών διαλυτών, κλπ)

Εισαγωγή στη Μικροβιολογία

Ταξινόμηση Μικροοργανισμών

- **Βακτήρια** (προκαρυωτικά)
- **Ζύμες-Μύκητες** (ευκαρυωτικά)
- **Ιοί** (ατελείς οργανισμοί χωρίς κύτταρο)
- Ταξινόμηση διαδοχικά σε τάξεις (class), σειρές (order), οικογένειες (family), γένος (gender) ,είδος (species), υποείδος (subspecies), στέλεχος (strain).
- **Παράδειγμα**, Οικογένεια: Streptococaceae, Γένος: Lactococcus, Είδος: lactis, Υποείδος (spp): cremoris
- Το στέλεχος αναφέρεται σε μια συγκεκριμένη αποικία ενός είδος ή υποείδους που αναπτύσσεται και απομονώνεται σε συγκεκριμένο περιβάλλον ή υπόστρωμα.
- Χαρακτηριστικό στέλεχος (type strain): παρουσιάζει όλα τα τυπικά χαρακτηριστικά και καλλιεργείται και λαμβάνεται από τράπεζες καλλιεργειών (ATCC, DSM, NBCC, κλπ). Άγρια στελέχη είναι όσα απομονώνονται τυχαία από το περιβάλλον

Εισαγωγή στη Μικροβιολογία

Βασικά Μορφολογικά-δομικά-αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών

Βακτήρια: προκαρυωτικά (χωρίς πυρήνα), μονοκυτταρικά, μέγεθος 0.2-10 μ m , κόκκοι, ραβδία, σπειροειδή, ή καμπυλωτά μεμονωμένα ή σε αλυσίδες ή συσσωματώματα. Αναπαράγονται με απλή διχοτόμηση (μίτωση) . Μερικά παράγουν ενδοσπόρια (πολύ ανθεκτικά !). Αρκετά έχουν δυνατότητα κίνησης (με μαστίγια, ή ινίδια-φίμπριες)

Μύκητες: ευκαρυωτικοί, πολυκυτταρικοί, μέγεθος 20-100 μ m, χωρίς δυνατότητα κίνησης, διακλαδισμένοι σε μυκηλιακές υφές. Αποτελούνται από βλαστικά και αναπαραγωγικά κύτταρα που συνθέτουν το μυκήλιο του μύκητα. Αναπαράγονται είτε αγενώς με εξοσπόρια που αναπτύσσονται στα άκρα ή στο εσωτερικό των μυκηλιακών υφών (ασκοσπόρια, κονιδιοσπόρια, θαλλοσπόρια), είτε εγγενώς με τη συνένωση διαφορετικών αναπαραγωγικών κυττάρων-γαμετών.

Ζύμες: ευκαρυωτικά αλλά μονοκυτταρικά, σφαιροειδή ή ωοειδή κύτταρα, μέγεθος 5-30 μ m , ακίνητα, με πολλές από τις λειτουργίες των μυκήτων . Αναπαράγονται συνήθως με εκβλάστηση (budding) στο ένα άκρο του κυτταρικού τοιχώματος , καθώς και με απλή διχοτόμηση ή και με εξοσπόρια (ασκοσπόρια)

Διμορφικές ζύμες: αναπτύσσονται είτε μονοκυτταρικά είτε ως διακλαδισμένο πολυκυτταρικό μυκήλιο μαζί με μεμονωμένα κύτταρα

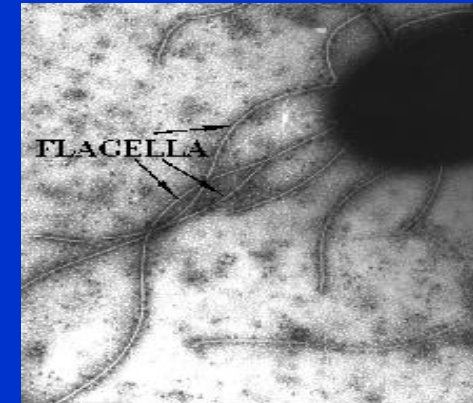
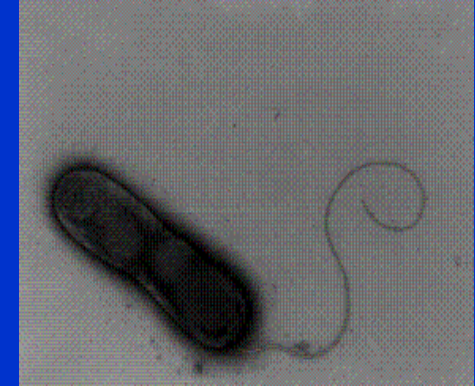
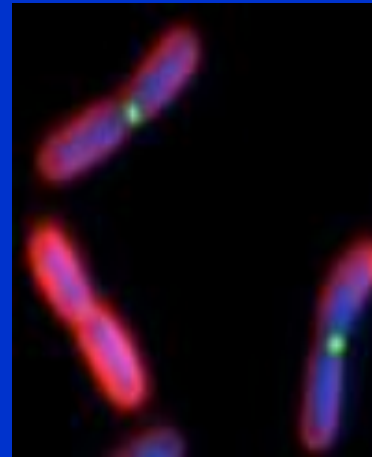
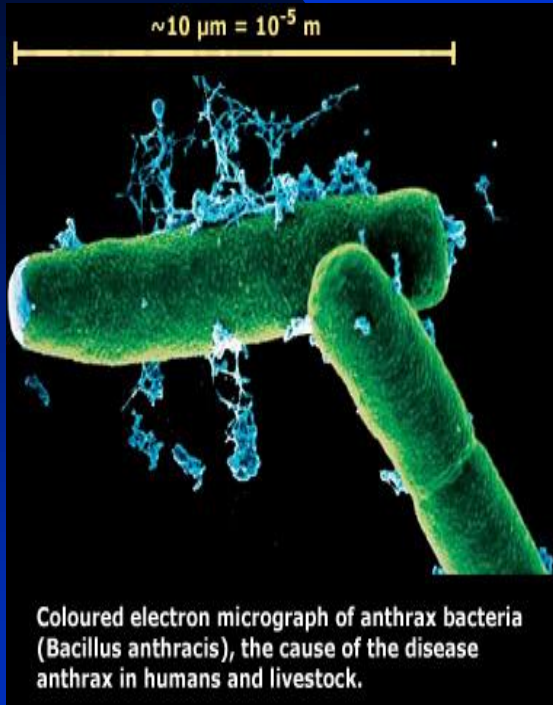
Εισαγωγή στη Μικροβιολογία

■ Μορφολογικά-δομικά-αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά των μικροοργανισμών

■ **Ιοί:** ατελείς οργανισμοί χωρίς κυτταρική οργάνωση, υποχρεωτικά παράσιτα αποκλειστικά ζωντανών κυττάρων. Αποτελούνται από ένα μόριο DNA ή RNA καλυμμένο από ένα πρωτεϊνικό καψίδιο (με "κεφάλι" και "ουρά") που το προφυλάσσει. Η αναπαραγωγή γίνεται στο κυτταρόπλασμα ή και τον πυρήνα του ξενιστή, έπειτα από την πρόσδεση του ιού στην επιφάνεια του ξενιστή και την έγχυση του ιϊκού γονιδιώματος εντός του κυττάρου-ξενιστή. Μετά τον πολλαπλασιασμό του ιϊκού σωματιδίου το κύτταρο-ξενιστής καταστρέφεται.

Μορφολογία μικροοργανισμών

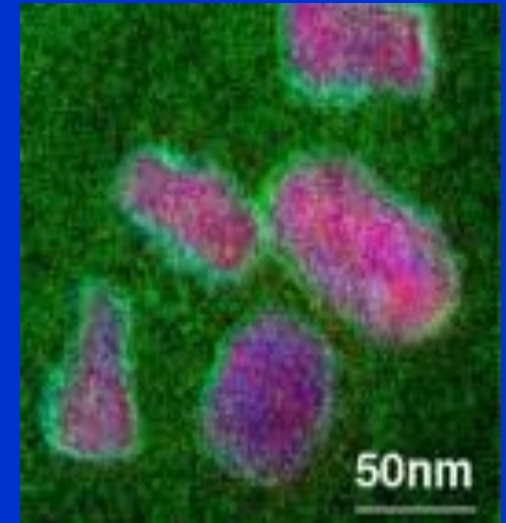
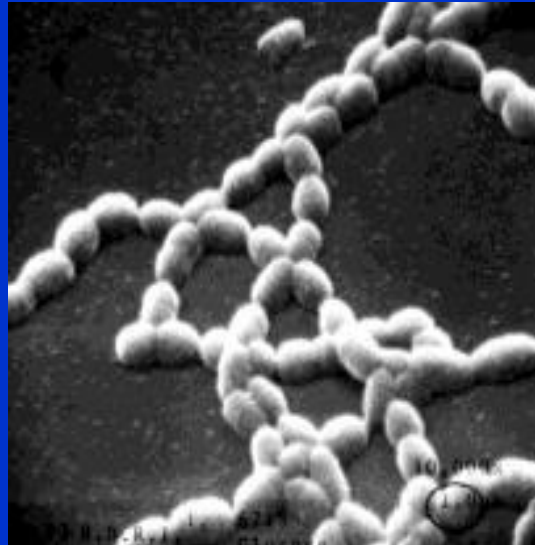
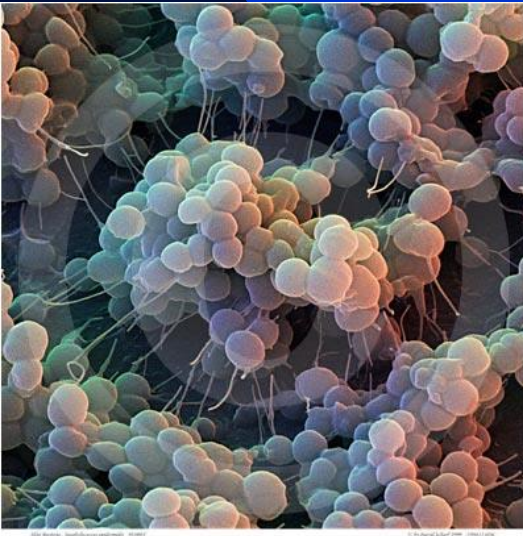
Βακτήρια - ραβδιά



- Από αριστερά: *Bacillus anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, μαστιγιοφόρα ραβδιά

Μορφολογία μικροοργανισμών

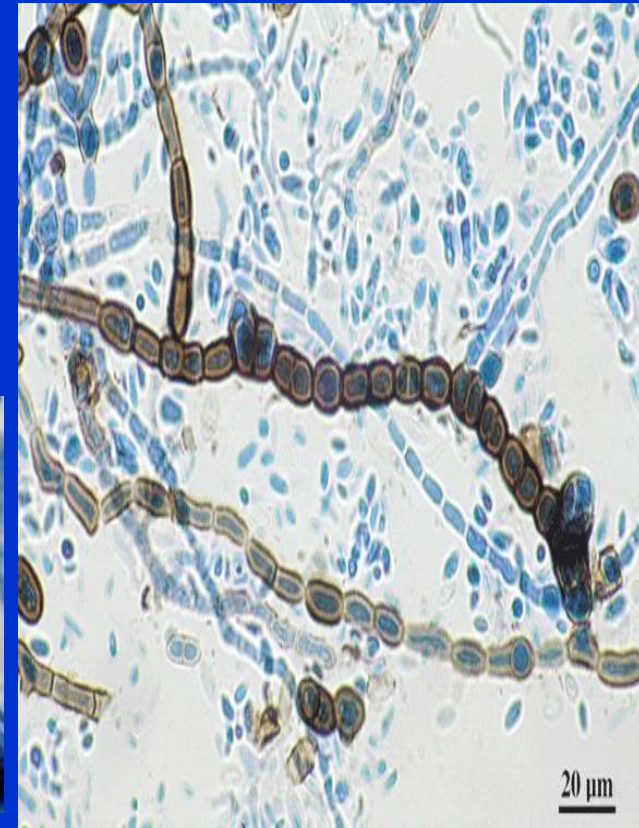
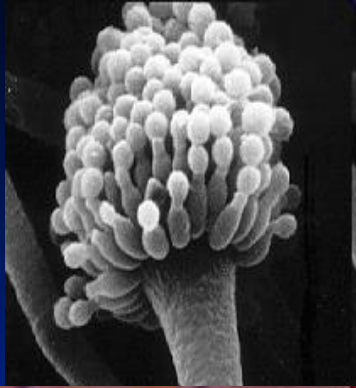
βακτήρια - κόκκοι



- Από αριστερά: *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces*, χρωματισμένα Gram- βακτήρια

Μορφολογία μικροοργανισμών

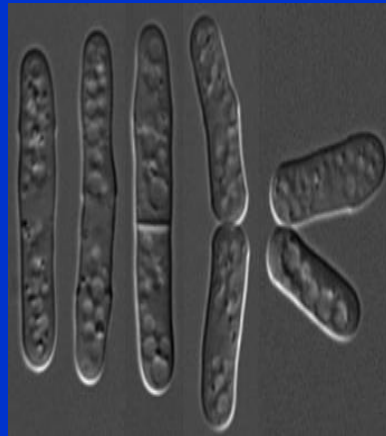
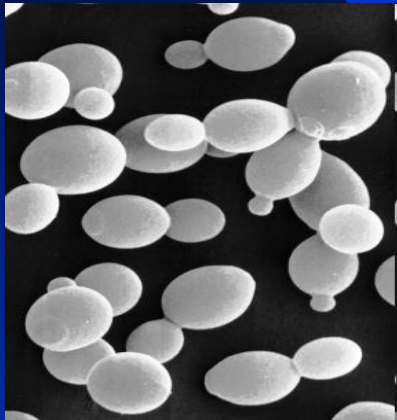
Μύκητες



- Από αριστερά: *Aspergillus fumigatus* conidia (πάνω), *Penicillium* conidia (κάτω), *Mucor ascosporus* (πάνω), *Rhizopus* sporiangia (κάτω), άλλα ασκοσπόρια (πάνω), τυπικό μυκήλιο μύκητα (κάτω), υφές του *Aureobasidium pullulans* με septa

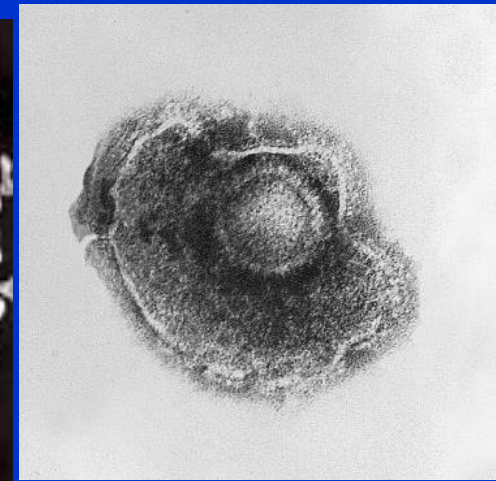
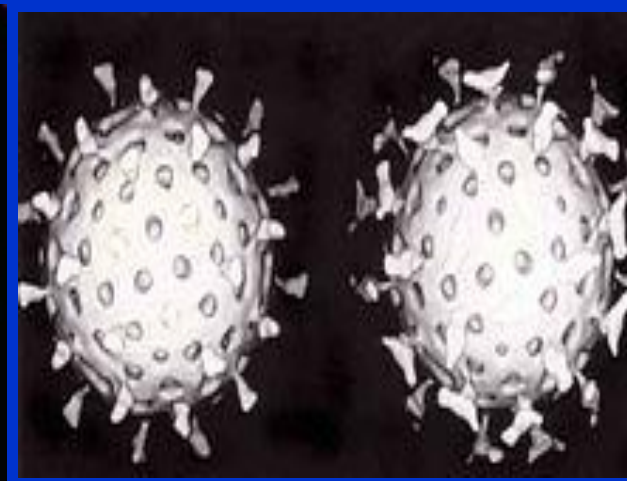
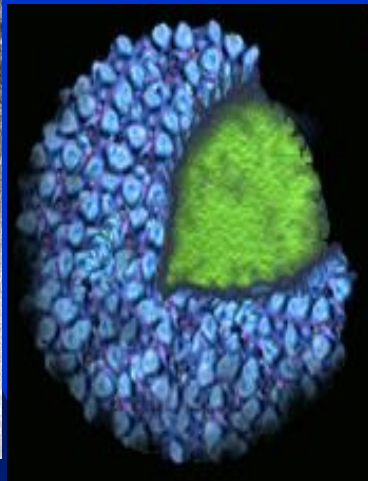
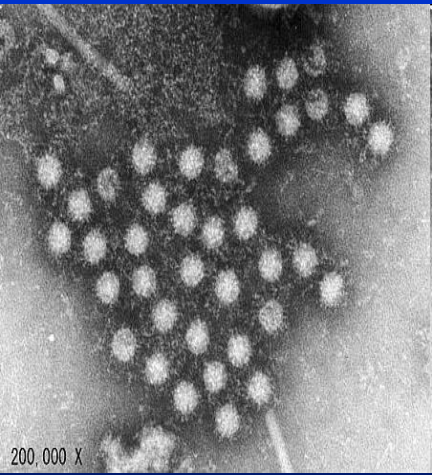
Μορφολογία μικροοργανισμών

Ζύμες

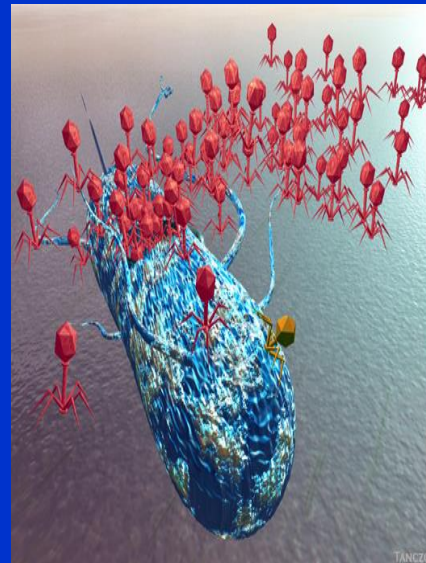
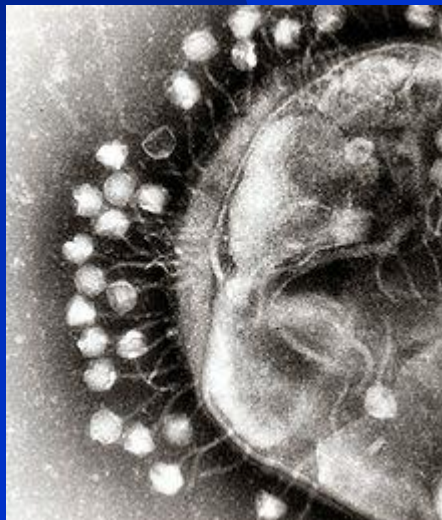


- Από αριστερά: *Saccharomyces* σε αναπαραγωγή (budding), *Rhodotorula* (budding), διχοτόμηση κυττάρων *Schizosaccharomyces* , ασκοσπόρια ζυμών

Μορφολογία μικροοργανισμών - Ιοί



■ Από αριστερά: ιός Norwalk , καψίδιο και νουκλεοτίδιο του ιού Norwalk, Rota virus χωρίς και με πρόσδεση αντισωμάτων, ιός του έρπη με λιπώδη φάκελο



■ Αριστερά: βακτηριοφάγοι (coliphages), Δεξιά: βακτηριοφάγοι εισβάλουν σε βάκιλο¹⁴

Ταξινομικές βαθμίδες στο Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

- Kingdom(Βασίλειο):Procaryote
- Division(Διαίρεση):Bacteria
- Part No: π.χ 14
- Order(Τάξη): Gram⁺ cocci
- Family (Οικογένεια):Streptococcaceae
- Genus (Γένος): Streptococcus
- Species (Είδος): thermophilus
- Subspecies (Υποείδος): ---

Βασικό διωνυμικό σύστημα ονοματολογίας (Γένος-είδος)

Λοιποί όροι Ταξινόμησης

- Ομάδα (Group)
- Ποικιλία (Variation)
- Ορότυπος (Serotype)
- Βιότυπος (Biotype)
- Λυσίτυπος (Lysotype)
- Στέλεχος (strain)

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology-

Σημαντικές ομάδες (group) ταξινόμησης για τα τρόφιμα

GROUP 4

Description: Gram Negative, Aerobic/Microaerophilic rods and cocci

Key differences : pigments/fluorescent, motility, growth requirements, denitrification, morphology, and oxidase

Examples: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Beijerinckia*, *Acetobacter*

GROUP 5

Description: Facultatively Anaerobic Gram negative rods

Key differences : growth factors, morph., gram rxn., oxidase rxn

Examples: Family Enterobacteriaceae and Vibrionaceae

GROUP 17

Description: Gram-Positive Cocci

Key differences : oxygen requirements, morph., growth requirements (45°C and supplements)

Examples: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*

GROUP 18

Description: Endospore-Forming Gram positive rods and cocci

Key differences : oxygen requirements, motility, morph, catalase. Examples: *Bacillus*, *Clostridium*

GROUP 19

Description: Regular, Nonsporulating Gram positive rods

Key differences : morph., oxygen require, catalase. Examples: *Lactobacillus*, *Listeria*

GROUP 20

Description: Irregular, Nonsporulating Gram-positive rods

Key differences : catalase, motility, morph. Examples: *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Propionibacterium*

GROUP 21

Description: Weakly Gram-Positive Nonsporulating Acid Fast Slender Rods

Key differences : acid fast, growth. Examples: *Mycobacterium*

Σύστημα Ταξινόμησης Βακτηρίων σε Gram+ και Gram-

GRAM- ΒΑΚΤΗΡΙΑ

- Spirochaetes:
(Spirochaeta, Treponema, Leptospira):
Σπειροειδή βακτήρια του νερού με περιπλασματικά μαστίγια . Καποια παθογόνα.
- Σπειροειδή και καμπυλωτά βακτήρια:
(Spirillum, Campylobacter, Helicobacter, Bdellovibrio):
Μαστιγιοφόρα, σπειροειδή, καμπυλωτά, συνήθως μικροαερόφιλα χωρίς αξονικά νημάτια
- Gram- κόκκοι και ραβδιά:
(Pseudomonas, Xanthomonas, Azotobacter, Agrobacterium, Halobacterium, Alcaligenes, Brucella)
Αερόβια με δυνατότητα κίνησης, συνήθως με παραγωγή εξωπολυσακχαριτών.
- Gram- αναερόβια ραβδιά (βάκιλλοι):
Οικογένειες Enterobacteriaceae (Escherichia, Salmonella, Shigella, Yersinia, Proteus, Erwinia, Enterobacter) , Vibrionaceae (Vibrio, Aeromonas, Photobacterium, Lucibacterium), λοιπά ανεξάρτητα γένη (Zymomonas, Haemophilus, Flavobacterium)
- Gram- αναερόβιοι καμπυλωτοί βάκιλλοι:
Bacteriodes(Εντερική χλωρίδα)

Σύστημα Ταξινόμησης Βακτηρίων σε Gram+ και Gram-

GRAM- ΒΑΚΤΗΡΙΑ

- Θειοαναγωγικά Gram- :
(Desulfonibrio, Desulfotomaculum). Ανάγουν το S ή το SO₂ προς H₂S. Υποχρεωτικά αναερόβια.
- Gram- αναερόβιοι κόκκοι:
(Rickettsiales, Chlamydiales, Mycoplarmatales)
- Gram- φωτοσυνθετικά βακτήρια: R κυανοβακτήρια
a) Ανοξυγενή φωτοσυνθετικά (οικ. Rhodospirillaceae, Chromatiaceae, Chlorobiaceae)
b) Οξυγενή φωτοσυνθετικά (κυανοβακτήρια)
- Νιτροποιά βακτήρια:
(Nitrobacter, Nitrosomonas, Nitrospira)
- Αερόβια θειοβακτήρια:
(Thiobacillus, Thiothrix): οξειδώνουν το H₂S.

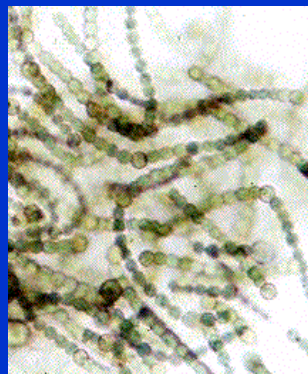
Σύστημα Ταξινόμησης Βακτηρίων σε Gram+ και Gram-

GRAM+ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

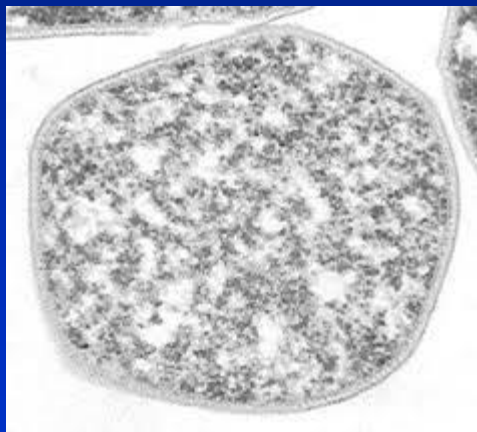
- Gram+κόκκοι: (Micrococcus, Staphylococcus, Enterococcus, Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc)
- Βάκιλλοι σπορογόνοι: (Bacillus, Clostridium)
- Βάκιλλοι μη σπορογόνοι: (Lactobacillus, Listeria)
- Mycobacteriaceae (mycobacterium): αερόβια,καμπυλωτά
- Ακτινομύκητες: βάκιλλοι με διακλαδώσεις μυκητιακής υφής(Actinomyces, Streptomyces, Mycobacterium, οικ. Propionibacteriaceae: Pripionibacterium, Bifidobacterium)
- Αρχαιοβακτήρια: (Halococcus, Sulfolobus)

Η απαρχή της ζωής

Προκαρυωτικά κύτταρα: Φωτοσυνθετικά βακτήρια, αρχαιοβακτήρια



Διαφορετικά είδη φωτοσυνθετικών βακτηρίων



- Sulfolobus από ηφαιστειακές θερμές πηγές

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

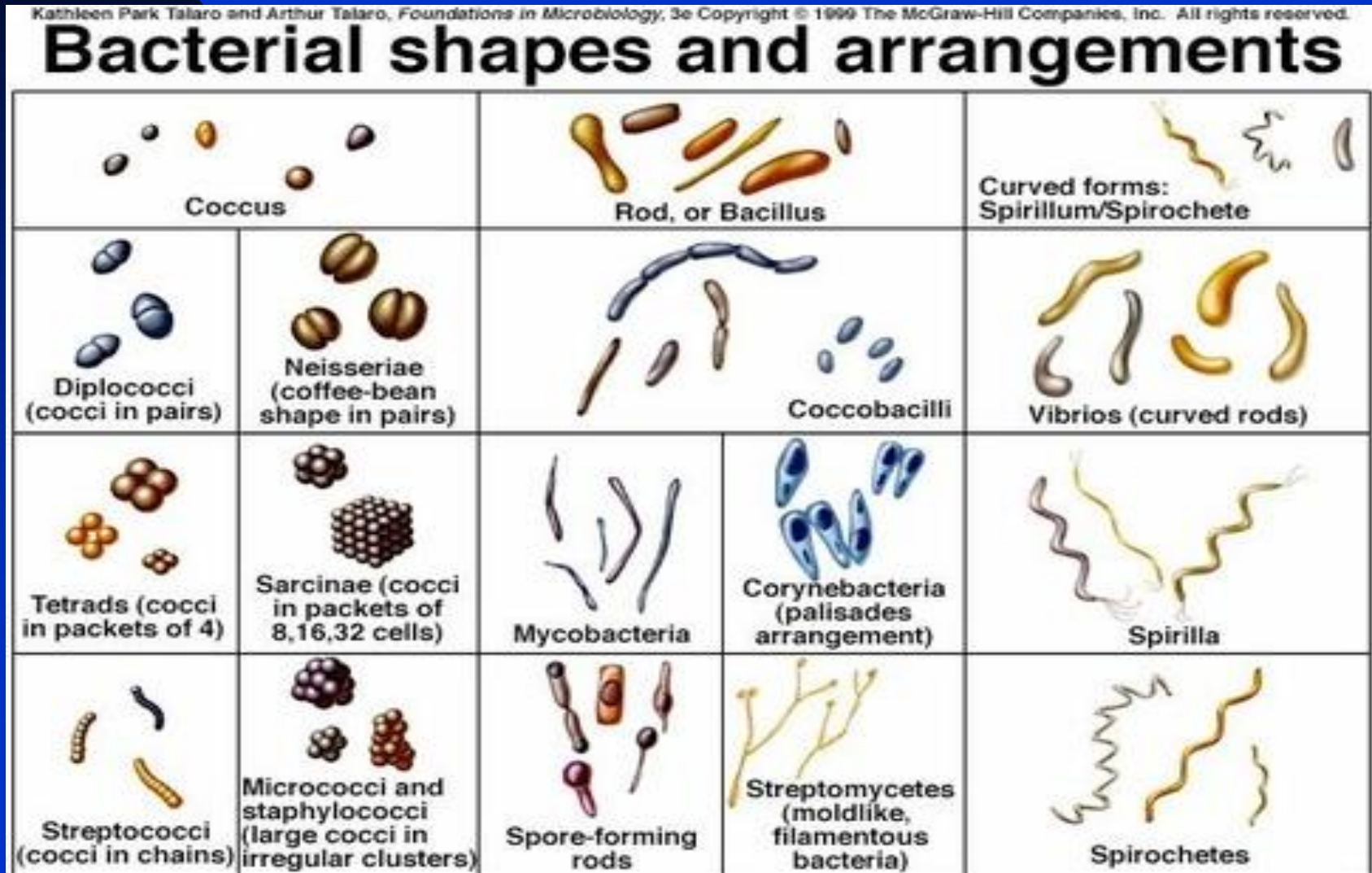
Μορφολογικά, διατροφικά, φυσιολογικά, βιοχημικά, αντιγονικά, γενετικά κριτήρια ταξινόμησης

- Μορφολογία (κόκκοι, ραβδιά, σπειροειδή, κλπ)
- Χρώση Gram (θετικά/αρνητικά)
- Διατροφικά χαρακτηριστικά (απαιτήσεις σε οργανικές πηγές άνθρακα-σάκχαρα, άζωτο-αμινοξέα, βιταμίνες, άλατα)
- Απαιτήσεις σε οξυγόνο (αερόβια, αναερόβια, προαιρετικά αναερόβια, μικροαερόφιλα)
- Χρησιμοποίηση (μεταβολισμός) γλυκόζης ή άλλων σακχάρων (ζυμωτικά ή οξειδωτικά)
- Φυσιολογία μικροοργανισμών και περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή ανάπτυξη (pH, °C ανάπτυξης, ενεργότητα νερού, ωσμωτική και υδροστατική πίεση, συγκέντρωση αλάτων)
- Παραγωγή ενζύμων (καταλάση, οξειδάση, αμινοπεπτιδάση, αμυλάση, β-γαλακτοσιδάση, κλπ)
- Παραγωγή χρωστικών ή φθορισμού
- Παραγωγή αερίων
- Κινητικότητα
- Σύνθεση (βάσεων) DNA, Ριβοσωμικό RNA
- Αντιγονικά χαρακτηριστικά (παθογένεια)

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Μορφολογικά κριτήρια ταξινόμησης

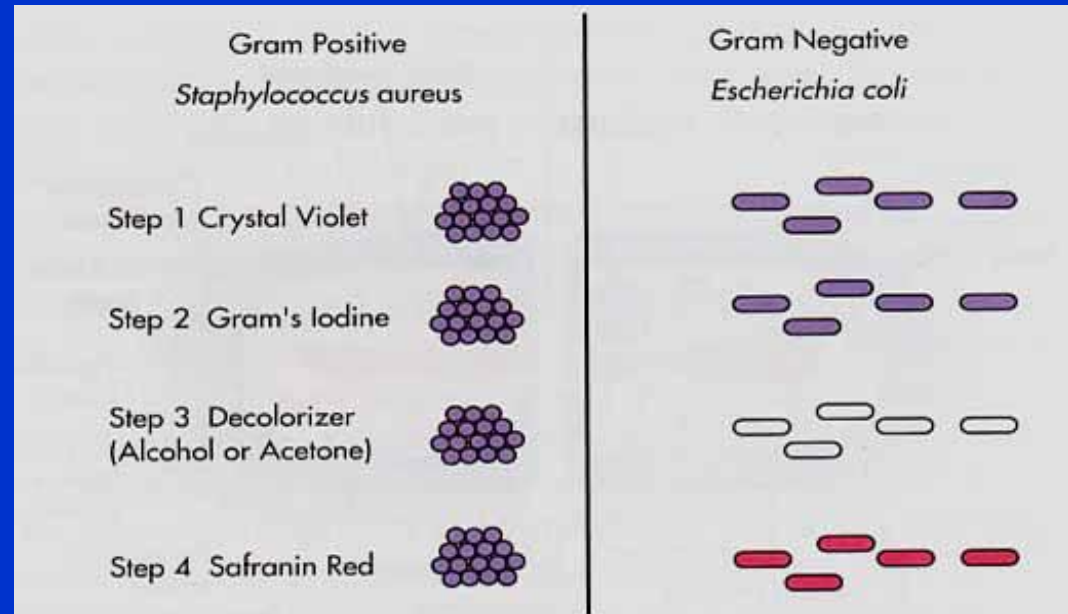
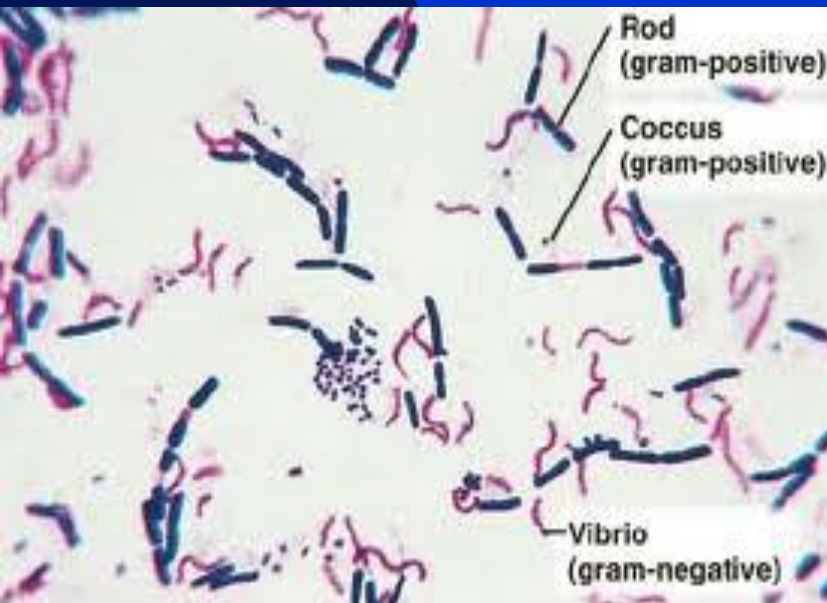
- Μορφολογία (κόκκοι, ραβδιά, σπειροειδή, κλπ).
- Υπό συνθήκες στρες μπορεί να αλλάξει (συρρίκνωση βακίλλων σε κόκκους!)



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

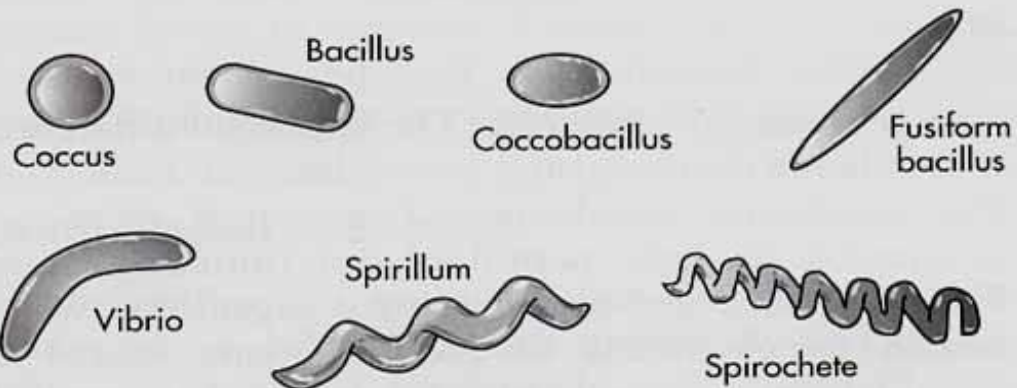
Μορφολογικά κριτήρια ταξινόμησης

- Χρώση Gram (θετικά/αρνητικά)



A

Bacterial Morphology Shapes



B

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Μορφολογικά κριτήρια ταξινόμησης

■ Gram θετικά/αρνητικά βακτήρια

Διαφορές στη μορφολογία και τη σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος

Gram +	Gram -
Περιέχει γλυκοπρωτεΐνες και πρωτεογλυκάνες	Περιέχει λιποπρωτεΐνες και γλυκολιπίδια
Πολυσακχαρίτες 35-60%	Πολυσακχαρίτες 15-20%
Λιπίδια (0-2%)	Λιπίδια 10-20%
Περιέχει τειχοϊκό οξύ	Δεν περιέχει τειχοϊκό
Περιέχει μουραμικό οξύ	Περιέχουν λίγο ή καθόλου μουραμικό
Δεν περιέχει αρωματικά ή θειούχα αμινοξέα	Περιέχει πολλά αρωματικά ή θειούχα αμινοξέα
Αποτελείται από παχύ, σκληρό ομοειδές στρώμα	Αποτελείται από λεπτές, ελαστικές πολύφυλλες στρώσεις

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

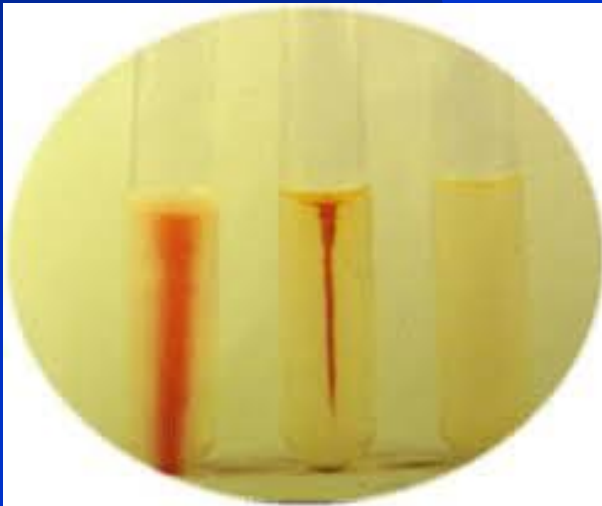
Μορφολογικά κριτήρια ταξινόμησης

Κινητικότητα με:

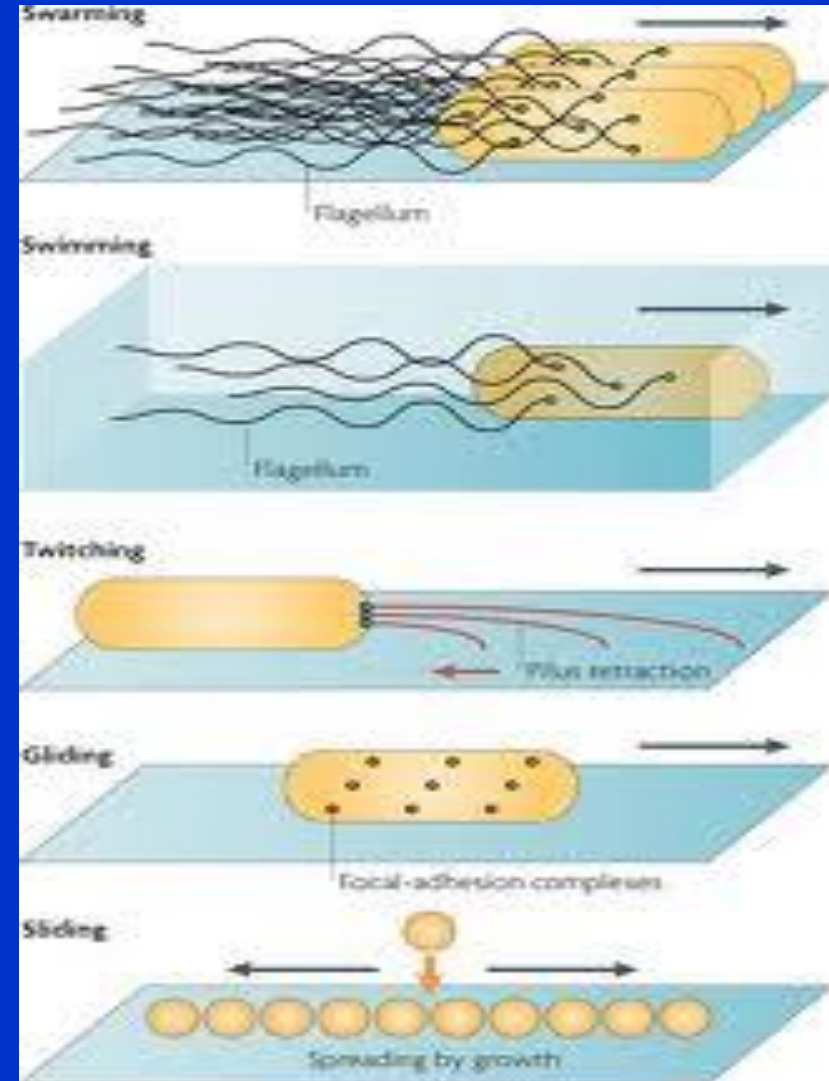
- Μαστίγια (μονότριχα, δίτριχα, πολύτριχα)
- Βλεφαρίδες-φίμπριες
- Με συγγολητικές πρωτεΐνες (gliding bacteria)

Τεστ κινητικότητας:

- Παρατήρηση στο μικροσκόπιο
- Ανάπτυξη σε soft agar (agar motility test with TTC)



Μέθοδοι κίνησης βακτηρίων



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Μορφολογικά κριτήρια ταξινόμησης

Κινητικότητα βακτηρίων:

A) κινητικότητα διαφορετικών βακτηρίων στο νερό (περιβαλλοντικό δείγμα):



Bacterial motility 2.mov

B) Διαφορετικά είδη κινητικότητας (και περιπτώσεις μη κινητικότητας)



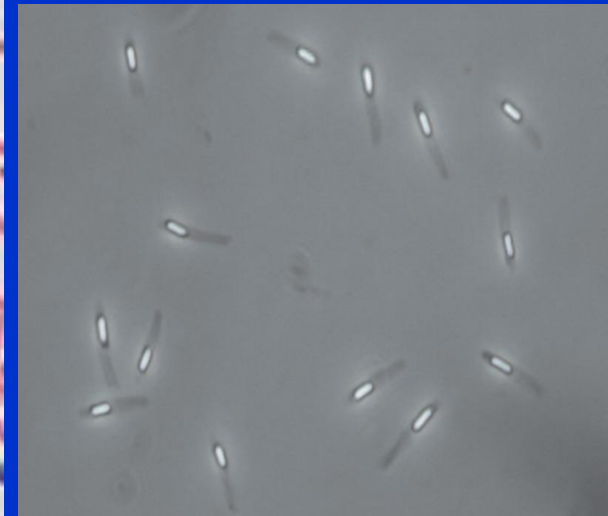
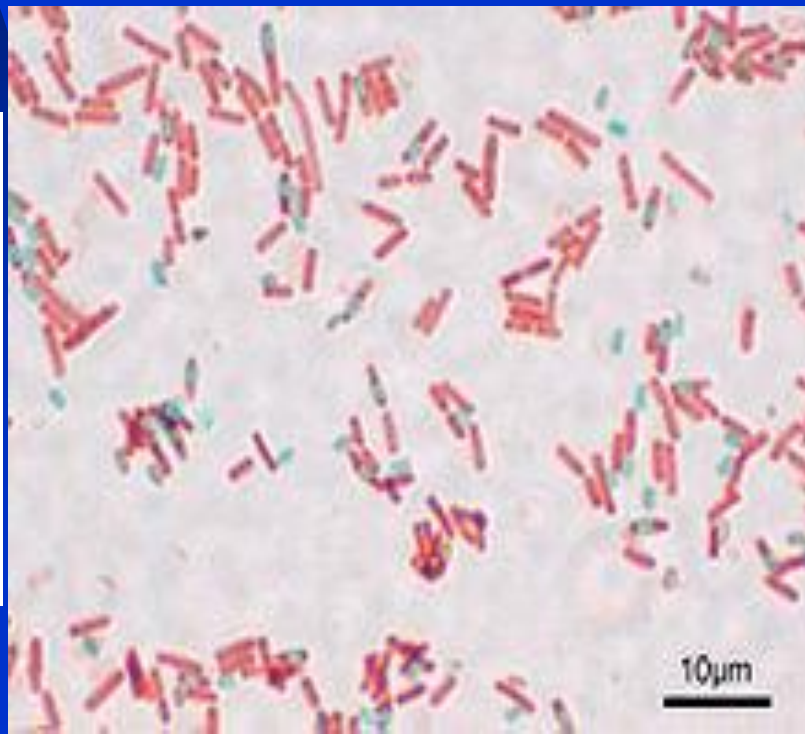
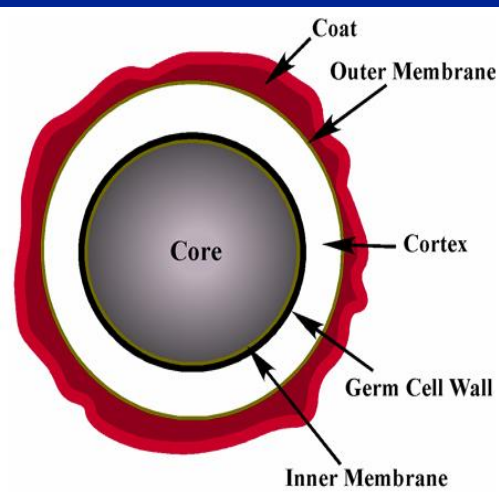
Bacterial motility.mov

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Μορφολογικά κριτήρια ταξινόμησης

Παρουσία ενδοσπορίων (σπορογονία)

- Σπόρια βακτηρίων Bacillus, Clostridium (εντοπισμός στο μικροσκόπιο με χρώση με πράσινο του μαλαχίτη και σαφρανίνη- **χρώση Schaeffer–Fulton**)
- Πολύ ανθεκτικές και αφυδατωμένες μορφές κυτταρικής οργάνωσης με πολλαπλά στρώματα μεμβρανών που επιβιώνουν μετά τη θανάτωση των βλαστικών (μητρικών) κυττάρων, και διατηρούνται σε αδρανή μορφή, μέχρις ότου ενυδατωθούν και βρεθούν σε κατάλληλο περιβάλλον για να αναπτυχθούν
- Δεν έχουν μεταβολισμό, μπορούν να συντηρηθούν αδρανή για πάρα πολλά χρόνια!



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Διατροφικά κριτήρια ταξινόμησης

Απαιτήσεις σε οργανικές πηγές άνθρακα-σάκχαρα, άζωτο-αμινοξέα, βιταμίνες, άλατα)






- **Αυτότροφοι μ/ο:** λαμβάνουν άνθρακα και παράγουν ενέργεια από ανόργανες πηγές (CO_2)
- **Ετερότροφοι:** λαμβάνουν άνθρακα και παράγουν ενέργεια από οργανικές πηγές (σάκχαρα, λιπίδια)
- **Χημειότροφοι :** τρέφονται με οργανικά (χημειοργανότροφοι) ή ανόργανα (χημειολιθότροφοι) συστατικά στο περιβάλλον
- **Φωτότροφοι :** φωτοσυνθετικοί μ/οι, δεσμεύουν CO_2 από την ατμόσφαιρα και νερό από το περιβάλλον, και μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε χημική (ATP)
- **Τα βακτήρια** απαιτούν εκτός από πηγές άνθρακα και αρκετές πηγές αζώτου και φωσφόρου-θείου (αμινοξέα, NH_3 , NO_3^-) για να συνθέσουν πρωτεΐνες
- **Οι ζύμες και ιδίως οι μύκητες** δεν απαιτούν πολλές αζώτου-φωσφόρου-θείου (έχουν χαμηλή κυτταρική σύσταση σε πρωτεΐνες και διαθέτουν πολύ περισσότερα βιοσυνθετικά ένζυμα από ότι τα βακτήρια \implies μεγάλη διατροφική αυτονομία-ευελιξία
- **Απαιτήσεις σε αυξητικούς παράγοντες:** Αρκετά βακτήρια απαιτούν την ύπαρξη αμινοξέων ή/και βιταμινών για να αναπτυχθούν (π.χ. *Bifidobacterium* \implies ανάγκη παρουσία κυστεΐνης, ριβοφλαβίνης)
- **Αλόφιλοι μ/οι:** απαιτούν NaCl (2-30%) για να αναπτυχθούν
- **Αλόφιλα βακτήρια** (*Halococcus*, *Halobacterium*, *Salinibacter*), Αλόφιλοι Μύκητες : *Wallemia ichthyophaga*, Αλόφιλα άλγη: *Dunaliella salina*

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Φυσιολογικά κριτήρια ταξινόμησης

- Απαιτήσεις σε οξυγόνο (αερόβια, αναερόβια, προαιρετικά αναερόβια, μικροαερόφιλα)

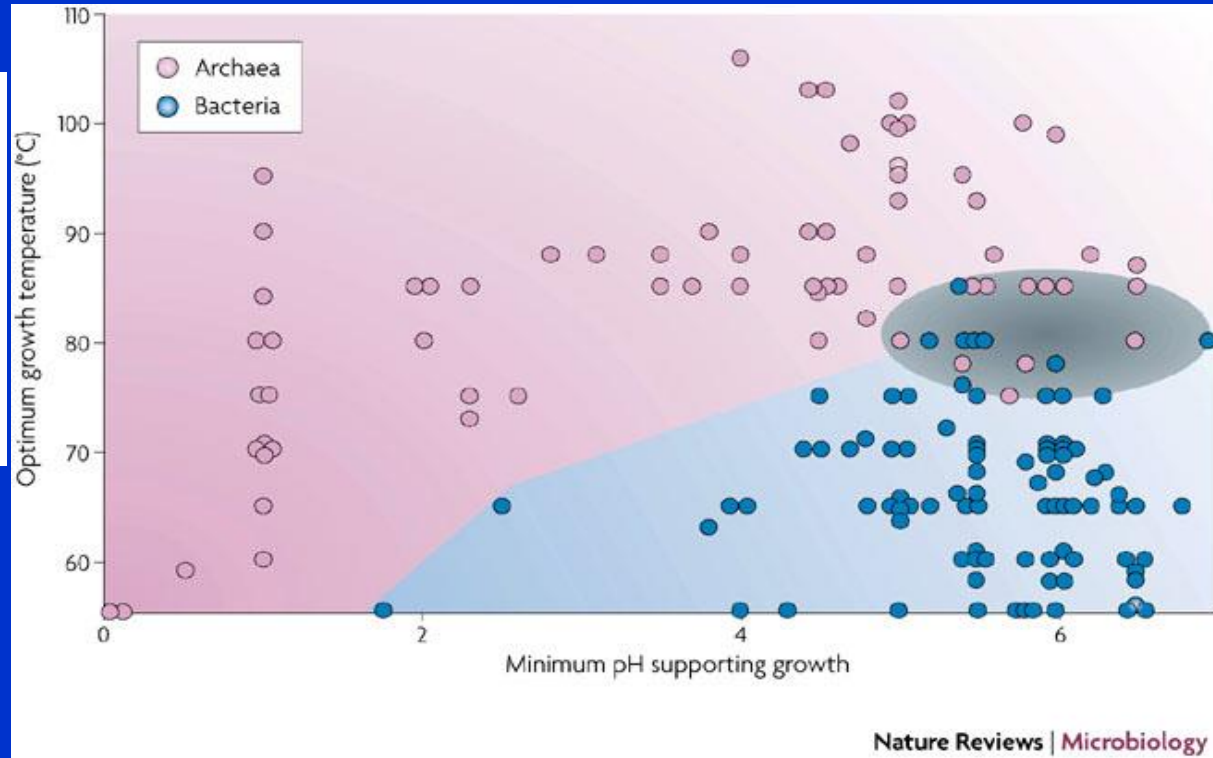
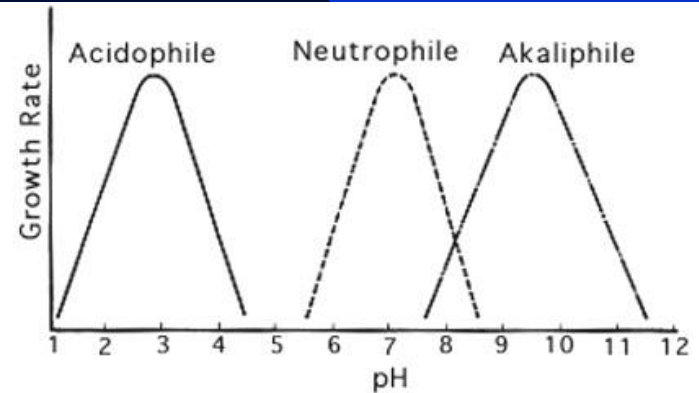
TABLE 6.1 The Effect of Oxygen on the Growth of Various Types of Bacteria

	a. Obligate Aerobes	b. Facultative Anaerobes	c. Obligate Anaerobes	d. Aerotolerant Anaerobes	e. Microaerophiles
Effect of Oxygen on Growth	Only aerobic growth; oxygen required.	Both aerobic and anaerobic growth; greater growth in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; ceases in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; but continues in presence of oxygen.	Only aerobic growth; oxygen required in low concentration.
Bacterial Growth in Tube of Solid Growth Medium					
Explanation of Growth Patterns	Growth occurs only where high concentrations of oxygen have diffused into the medium.	Growth is best where most oxygen is present, but occurs throughout tube.	Growth occurs only where there is no oxygen.	Growth occurs evenly; oxygen has no effect.	Growth occurs only where a low concentration of oxygen has diffused into medium.
Explanation of Oxygen's Effects	Presence of enzymes catalase and superoxide dismutase (SOD) allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Presence of enzymes catalase and SOD allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Lacks enzymes to neutralize harmful forms of oxygen; cannot tolerate oxygen.	Presence of one enzyme, SOD, allows harmful forms of oxygen to be partially neutralized; tolerates oxygen.	Produce lethal amounts of toxic forms of oxygen if exposed to normal atmospheric oxygen.

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Φυσιολογικά κριτήρια ταξινόμησης

- pH ανάπτυξης : Οξεόφιλα, οξυάντοχα, ουδετερόφιλα, αλκαλόφιλα, αλκαλοάντοχα



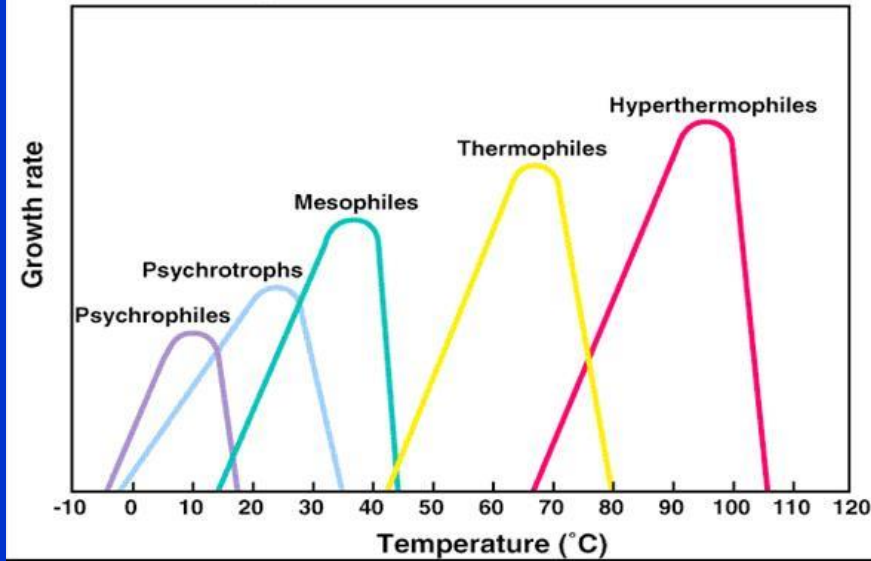
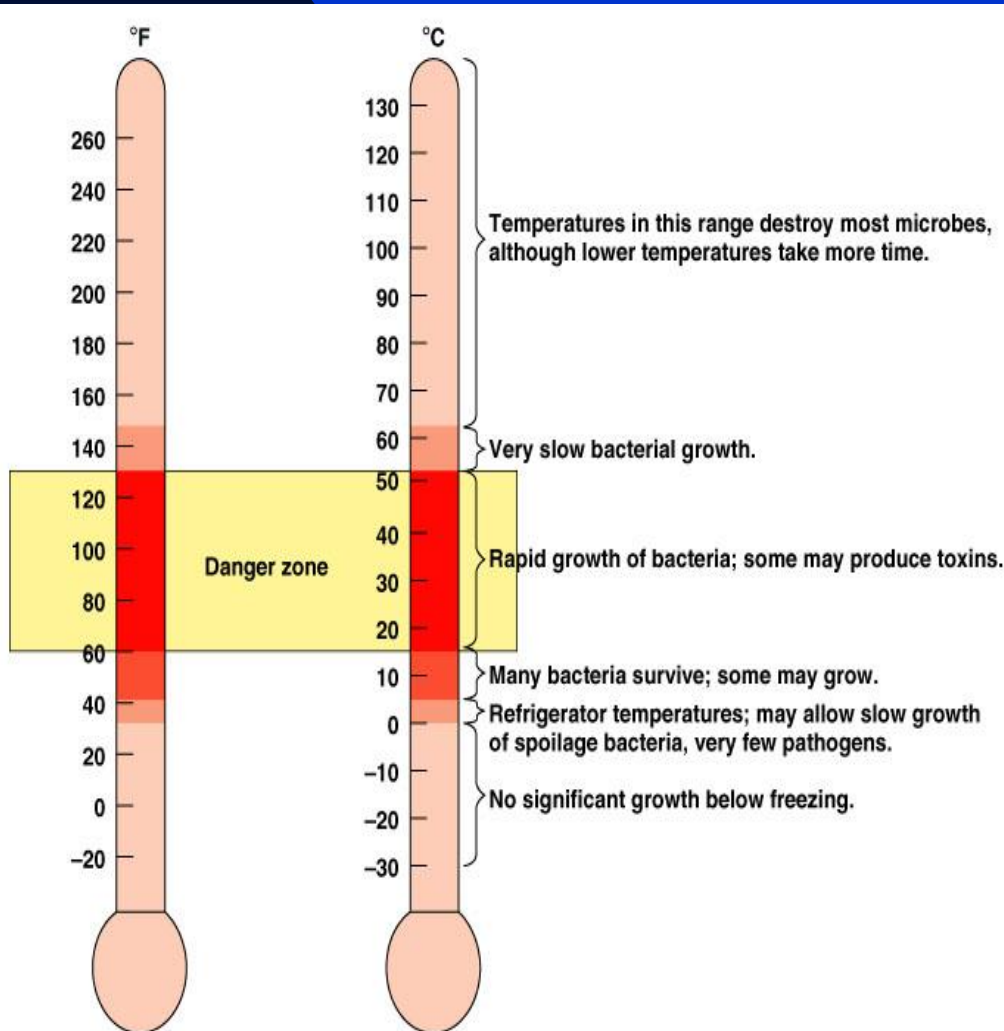
Nature Reviews | Microbiology

- Βακτήρια: ουδετερόφιλα, λίγα οξυάντοχα (γαλακτικά βακτήρια, Acetobacter)
- Ζύμες-Μύκητες: οξεόφιλοι, ή οξυάντοχοι μ/οι
- Μύκητες: αλκαλόφιλοι/αλκαλοάντοχοι

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Φυσιολογικά κριτήρια ταξινόμησης

- Θερμοκρασία (°C) ανάπτυξης: ψυχρόφιλα, ψυχρότροφα, μεσόφιλα, θερμόφιλα, θερμοάντοχα



Κατηγορία	θ°C ανάπτυξης	Άριστη θ°C
Ψυχρόφιλα	-2 έως 18	~ 6,5
Ψυχρότροφα	0 έως 35	~ 21
Μεσόφιλα	12 έως 45	~ 32
Θερμόφιλα	42 έως 75	~ 65
Υπερθερμόφιλα	65 έως 105	~ 95
Θερμοάντοχα	Όσα αντέχουν σε θ°C >65 °C	

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Φυσιολογικά κριτήρια ταξινόμησης

- Ενεργότητα νερού (a_w) & ωσμωτική πίεση: οσμώφιλοι/ξηροφιλικοί μ/οι, οσμωάντοχοι μ/οι
- Σχέση υγρασίας (τιμές 0-100%) με a_w (τιμές 0-1)
- Χαμηλή (a_w) \longleftrightarrow υψηλή ωσμωτική πίεση
- Μείωση a_w με αφυδάτωση/συμπύκνωση, προσθήκη αλάτων, σακχάρων, κλπ.

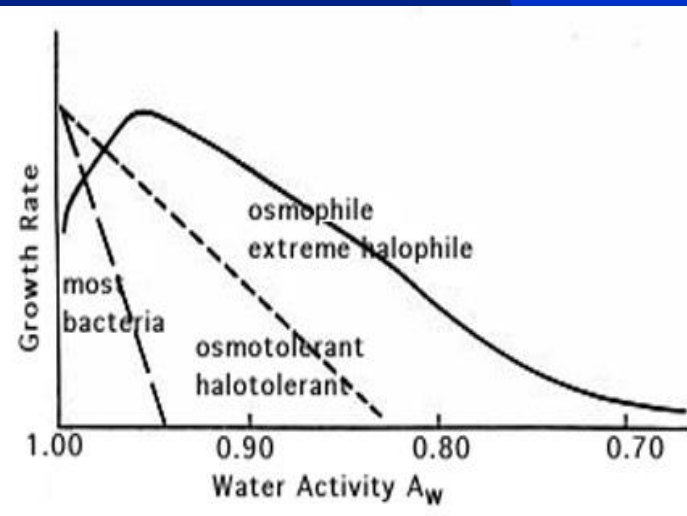
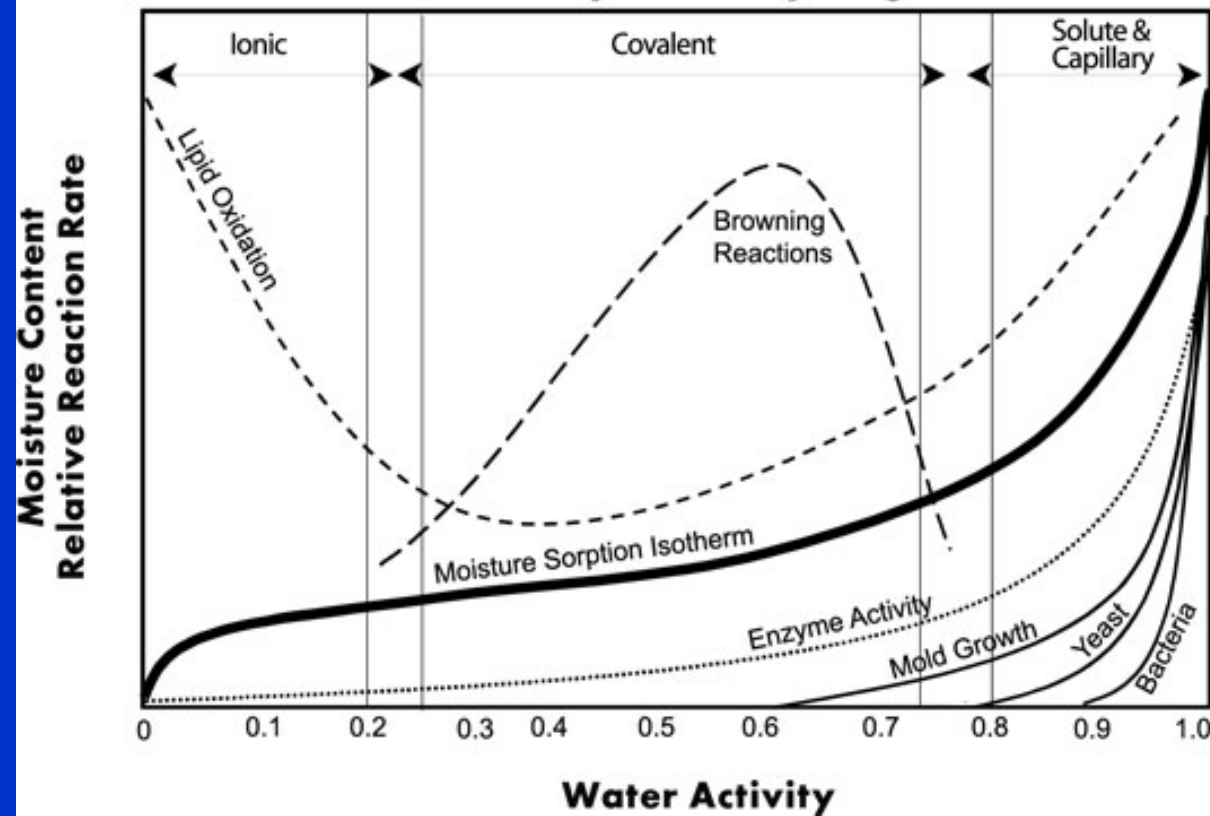


Figure 1

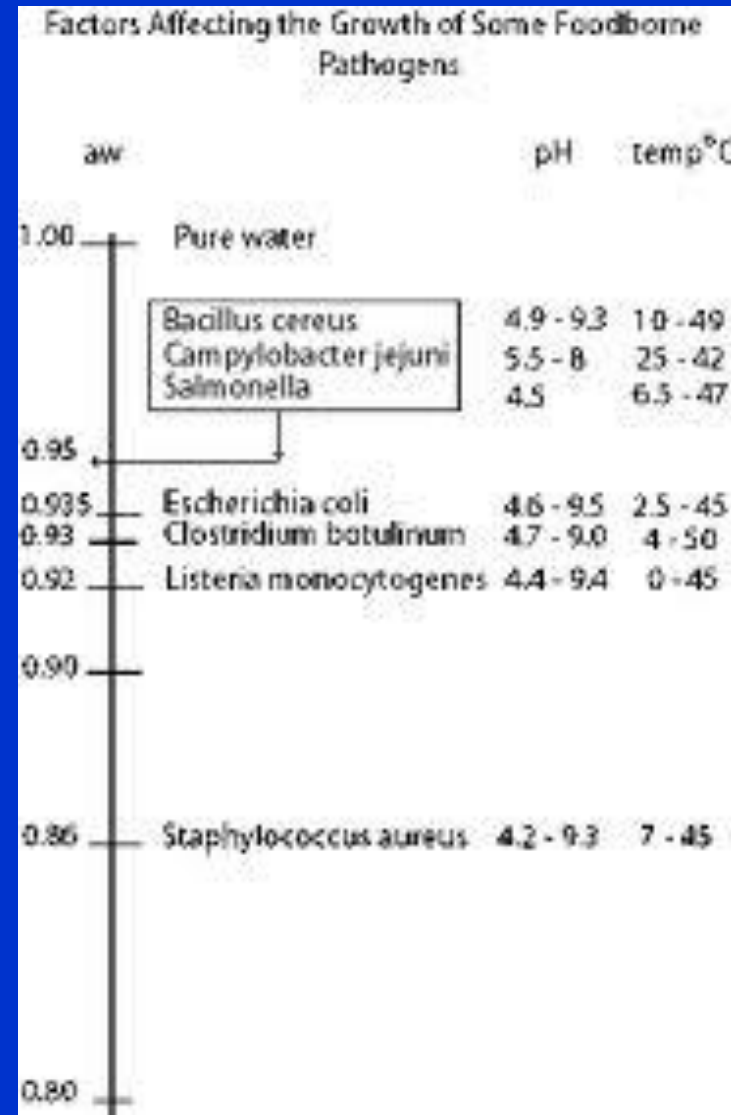
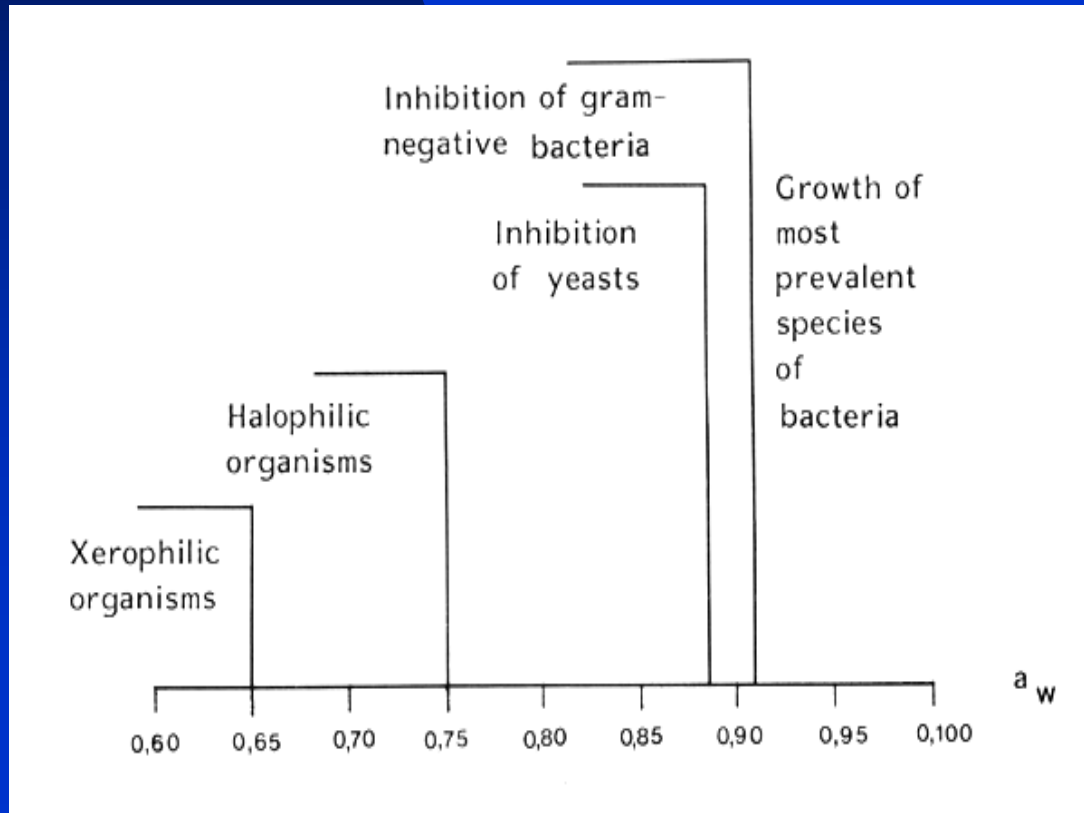
Water Activity - Stability Diagram



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Φυσιολογικά κριτήρια ταξινόμησης

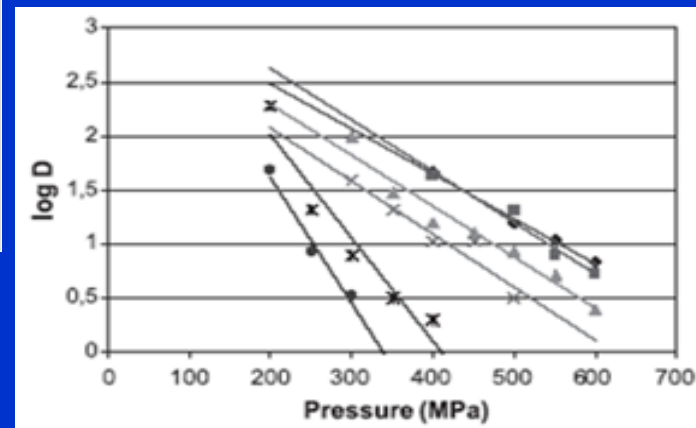
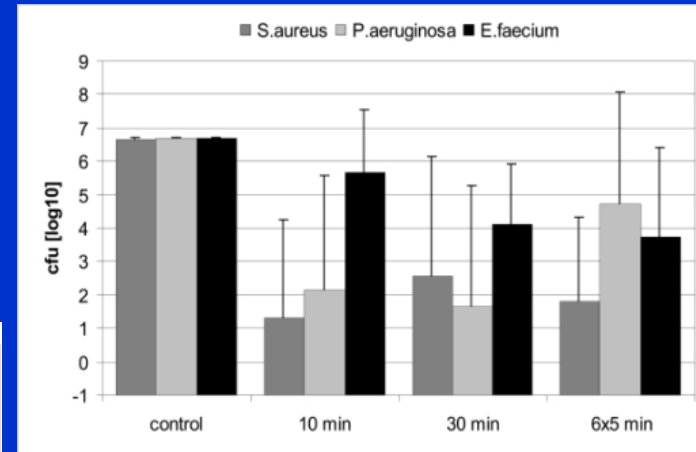
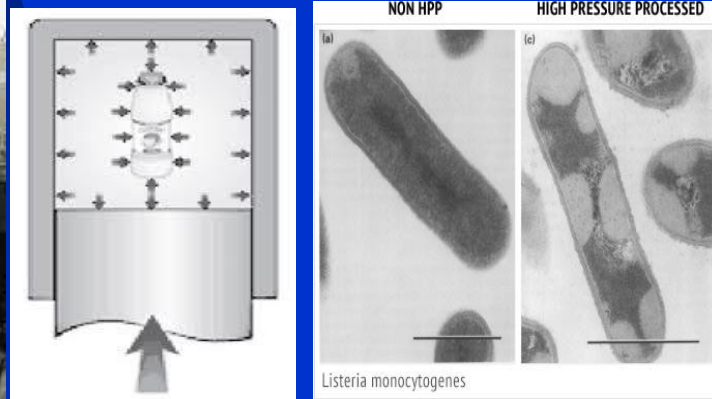
- Ενεργότητα νερού (a_w) & ωσμωτική πίεση: οσμώφιλοι/ξηροφιλικό μ/οι, οσμωάντοχοι μ/οι
- Ζύμες-μύκητες: πιο οσμωάντοχοι από τα βακτήρια
- Το πλέον οσμωάντοχο βακτήριο: *Staphylococcus aureus*
- Οσμωάντοχος ζύμες: *Schizosaccharomyces*
- Ξηροφιλικό μύκητες: *Wallemia*
- Προσοχή: Δεν υπάρχει μικροβιακή ανάπτυξη σε $a_w < 0.62$



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Φυσιολογικά κριτήρια ταξινόμησης

- Υδροστατική πίεση : βαρόφιλοι/βαροάντοχοι μ/οι
- Εφαρμογή πίεσης μέχρι 600mPa για λίγα δευτερόλεπτα ή λεπτά σε υγρά ή στερεά συσκευασμένα τρόφιμα, μέσω του νερού που συμπιέζει το τρόφιμο
- Προκαλεί θανάτωση βακτηρίων (ψυχρή παστερίωση)



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Βιοχημικά

- Μεταβολικά μονοπάτια για παραγωγή ενέργειας και μέθοδος μεταβολισμού σακχάρων (οξειδωτικά/ζυμωτικά)
- Παραγωγή ενζύμων (καταλάση, οξειδάση, αμινοπεπτιδάση, αμυλάση, β-γαλακτοσιδάση, ουρεάση, κλπ)
- Παραγωγή χρωστικών ή φθορισμού
- Παραγωγή αερίων

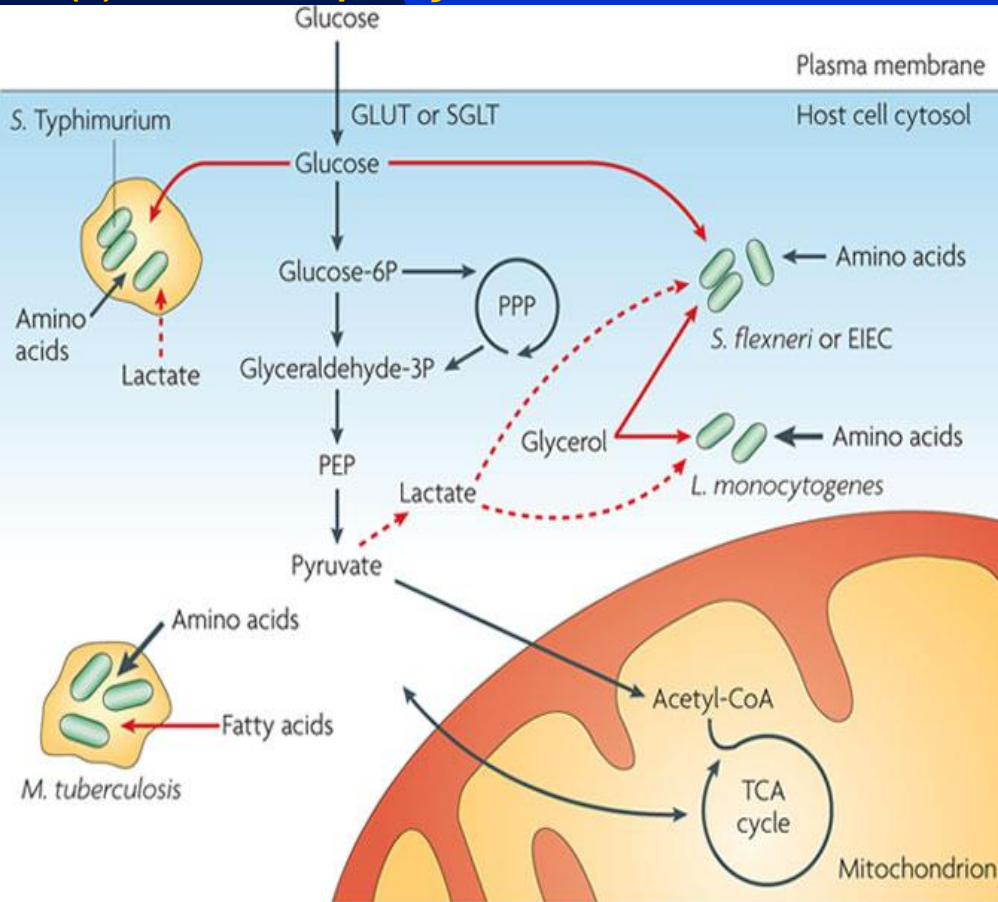
Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Βιοχημικά

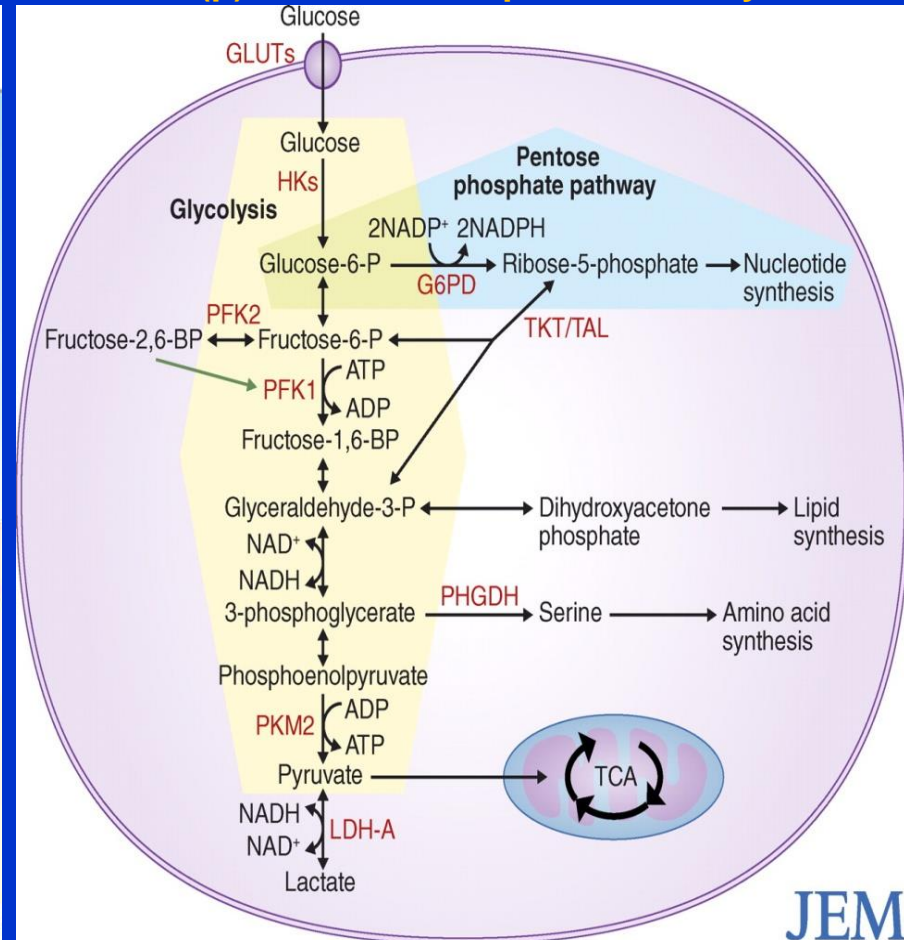
Χρησιμοποίηση (μεταβολισμός) γλυκόζης ή άλλων σακχάρων (ζυμωτικά ή οξειδωτικά)

- Οξειδωτική διάσπαση παρουσία O_2 : χωρίς μείωση του αριθμού ατόμων άνθρακα (μετατροπή γλυκόζης σε πυρροβικό και είσοδος στον κύκλο Krebs \Rightarrow ATP, μέσω **γλυκόλυσης ή Pentose Phosphate Pathway, ή Entner-Doudoroff pathway**)

(α) Γλυκολυτική οδός



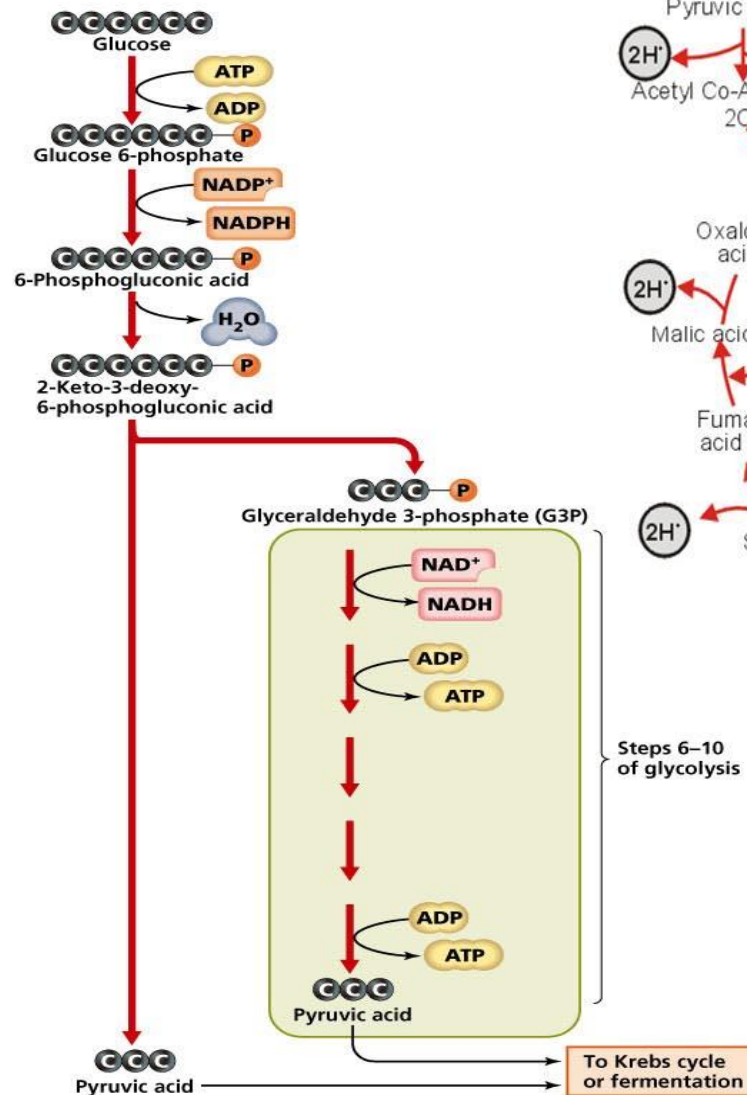
(β) Pentose Phosphate Pathway



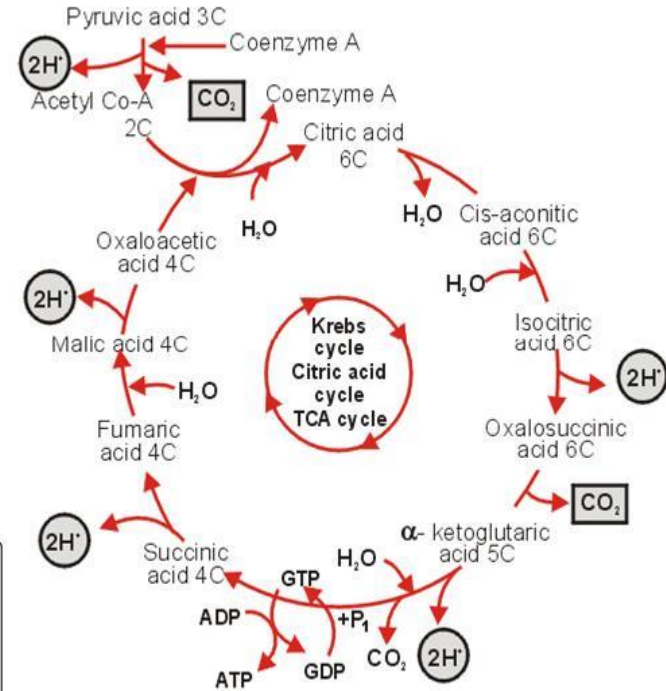
Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Βιοχημικά

(γ) Entner-Doudoroff pathway



Κύκλος TCA (Krebs)

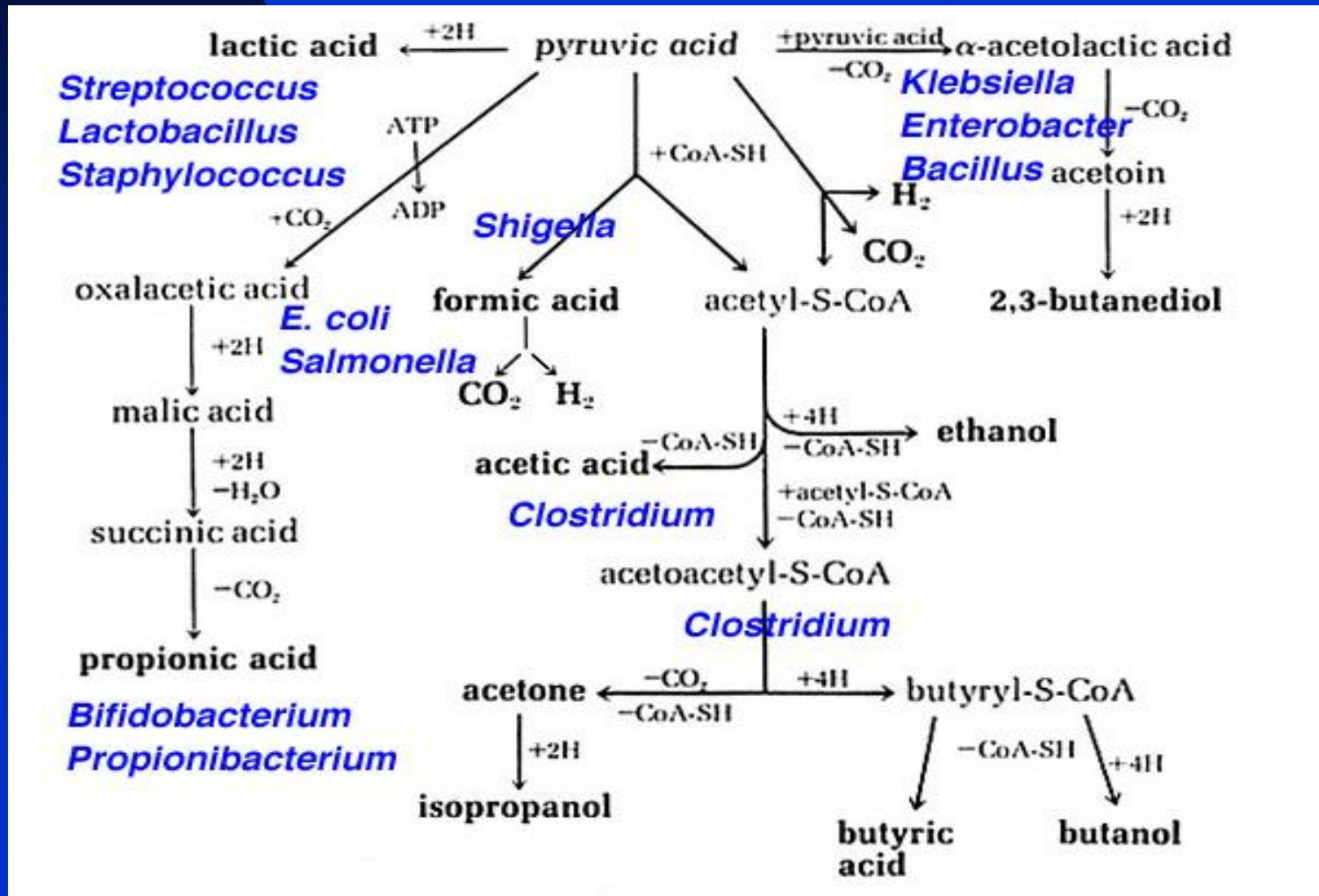


Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Βιοχημικά

Χρησιμοποίηση (μεταβολισμός) γλυκόζης ή άλλων σακχάρων (ζυμωτικά ή οξειδωτικά)

- Ζυμωτική (αναερόβια) διάσπαση σακχάρων απουσία O_2 διάσπαση της ανθρακικής αλυσίδας [π.χ. ζύμωση λακτόζης σε γαλακτικό οξύ και CO_2 , ζύμωση γλυκόζης σε (2x) αιθανόλη και CO_2]

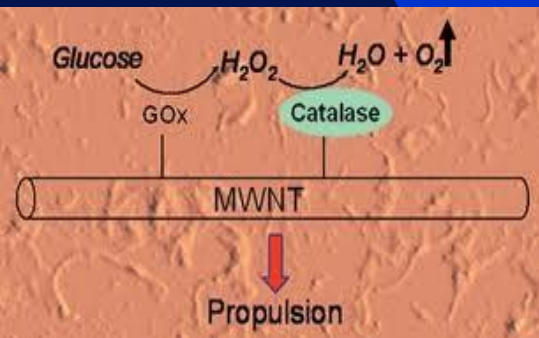


Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Βιοχημικά

- Παραγωγή ενζύμων (καταλάση, οξειδάση, αμινοπεπτιδάση, αμυλάση, β-γαλακτοσιδάση, ουρεάση, τεστ διάσπασης διαφορετικών σακχάρων, π.χ. γλυκόζη, μαλτόζη, σακχαρόζη, λακτόζη, αραβινόζη, άμυλο, κλπ)
- Παραγωγή αερίων ή χρωστικών
- Καταβολισμός (διάσπαση) διαφορετικών ειδών σακχάρων

Τεστ καταλάσης



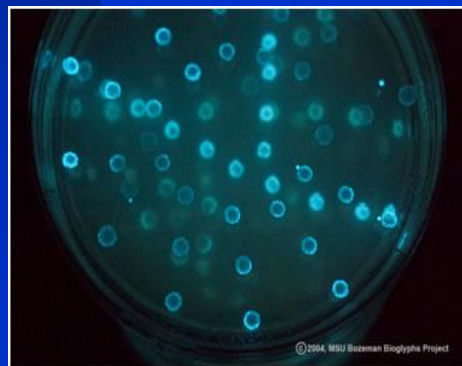
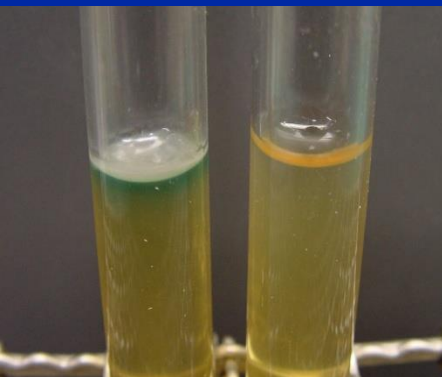
Τεστ ουρεάσης



Τεστ οξειδάσης



Τεστ παραγωγής χρωστικών ή φθορισμού



TSI (triple sugar iron) Test

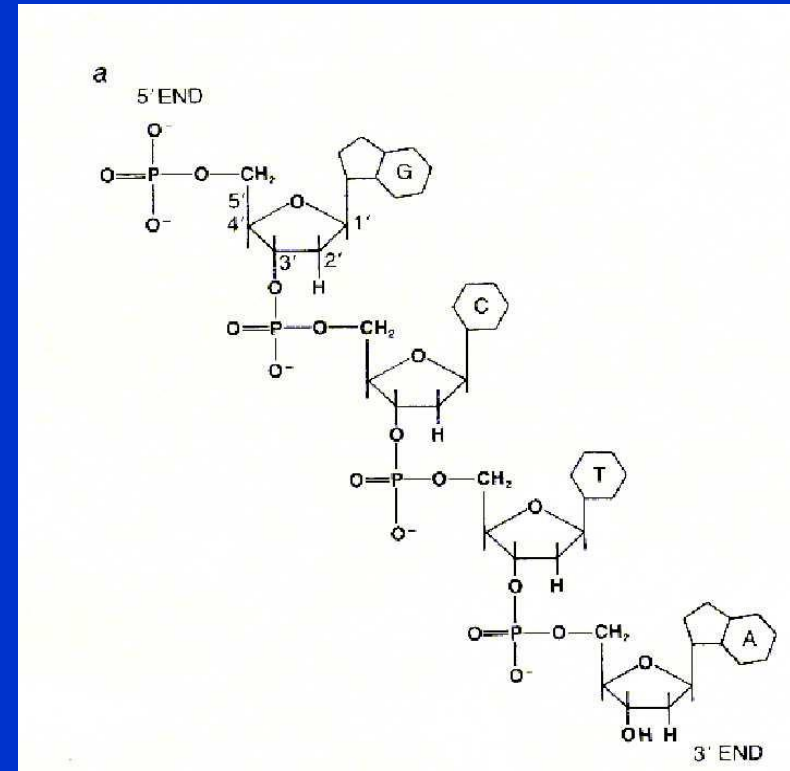
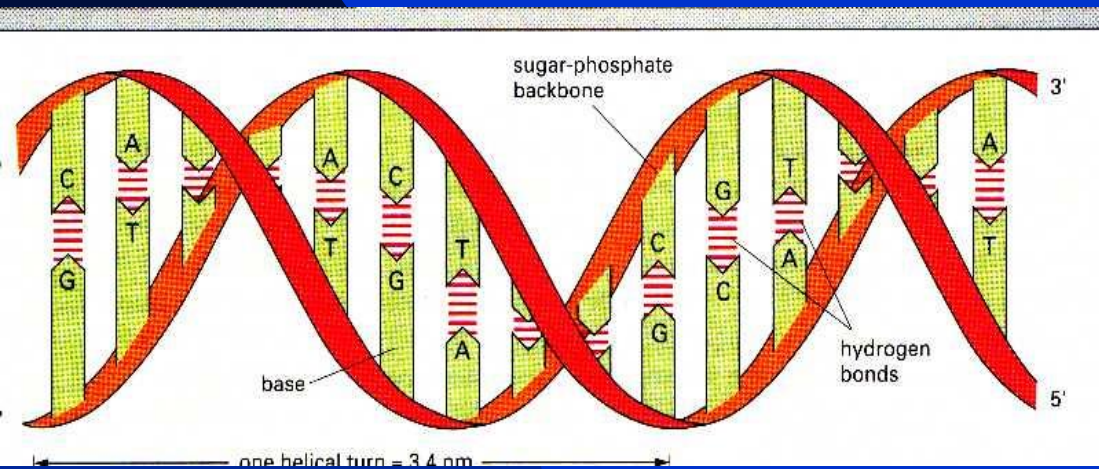


Control	Red Slant Red Butt	Red Slant Yellow Butt	Yellow Slant Yellow Butt	Yellow Slant Yellow Butt	Red Slant Yellow Butt
	No Gas	No Gas	+ Gas	+ Gas	+ Gas
	No H ₂ S	No H ₂ S	No H ₂ S	+ H ₂ S	+ H ₂ S

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Γενετικά κριτήρια ταξινόμησης

- Το DNA αποτελείται από τις βάσεις:
- Αδερίνη (A), Γουανίνη (G), Κυτοσίνη (C), Θυμίνη (T)



- Σύνθεση (βάσεων) DNA (% G+C) ως κριτήριο φυλογενετικής ταξινόμησης (δημιουργία φυλογενετικών δένδρων)

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Γενετικά κριτήρια ταξινόμησης

- Σύνθεση (βάσεων) DNA (% G+C) ως κριτήριο φυλογενετικής ταξινόμησης (δημιουργία φυλογενετικών δένδρων)

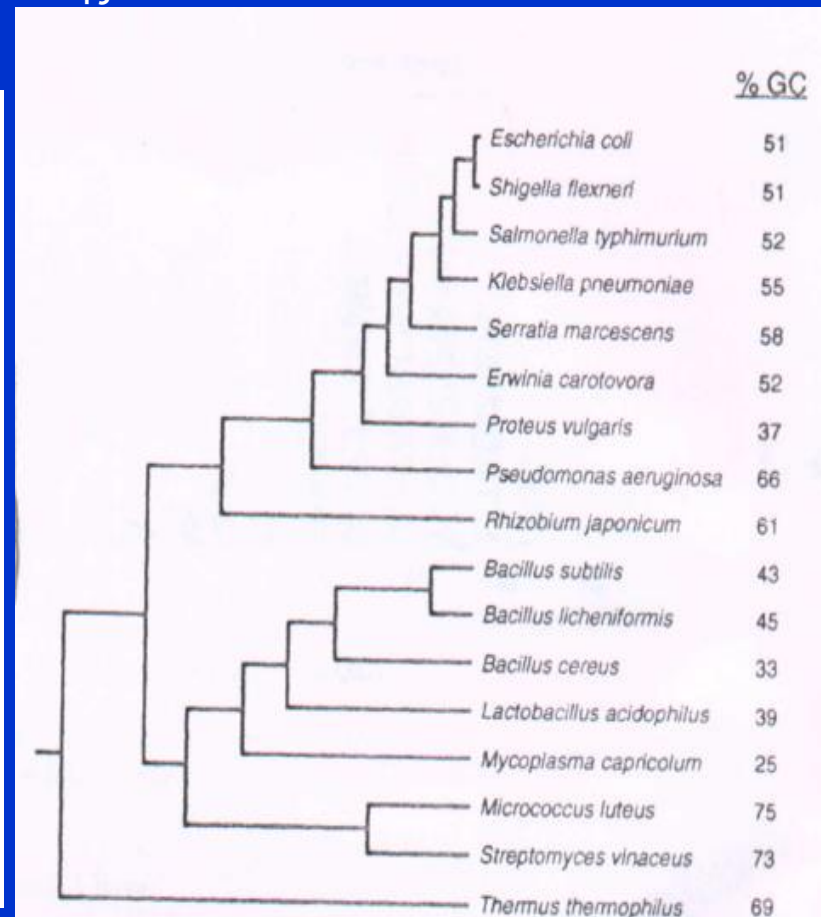
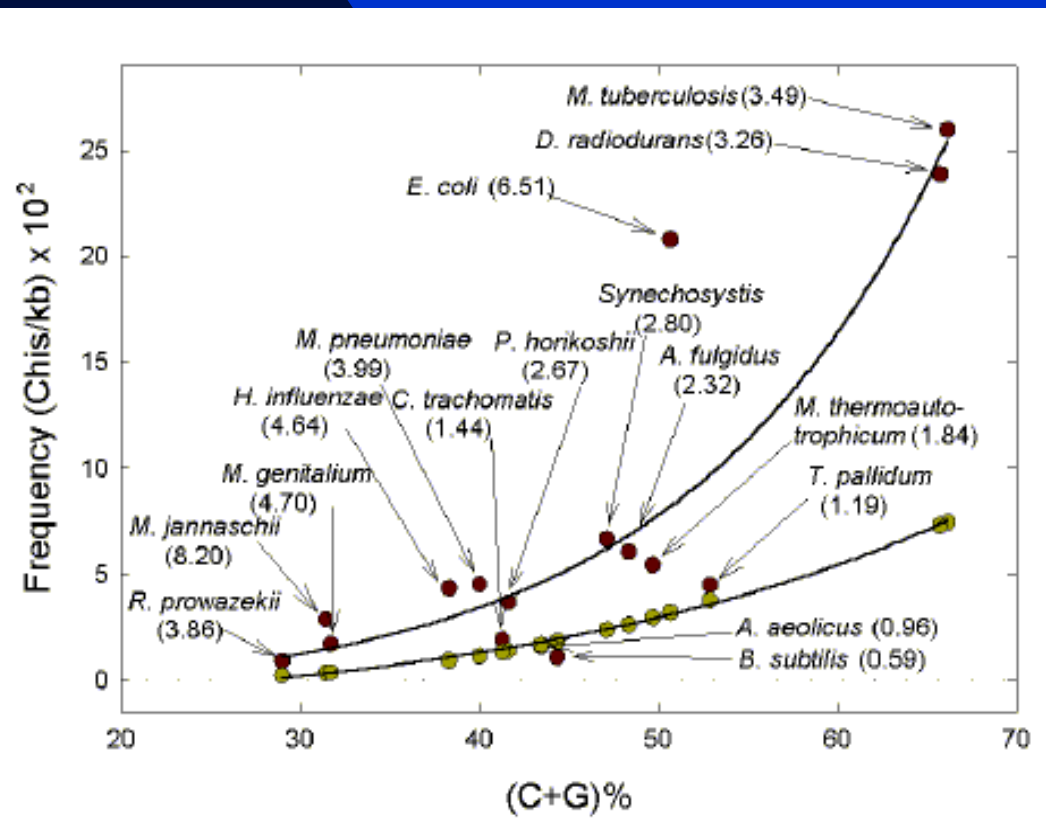
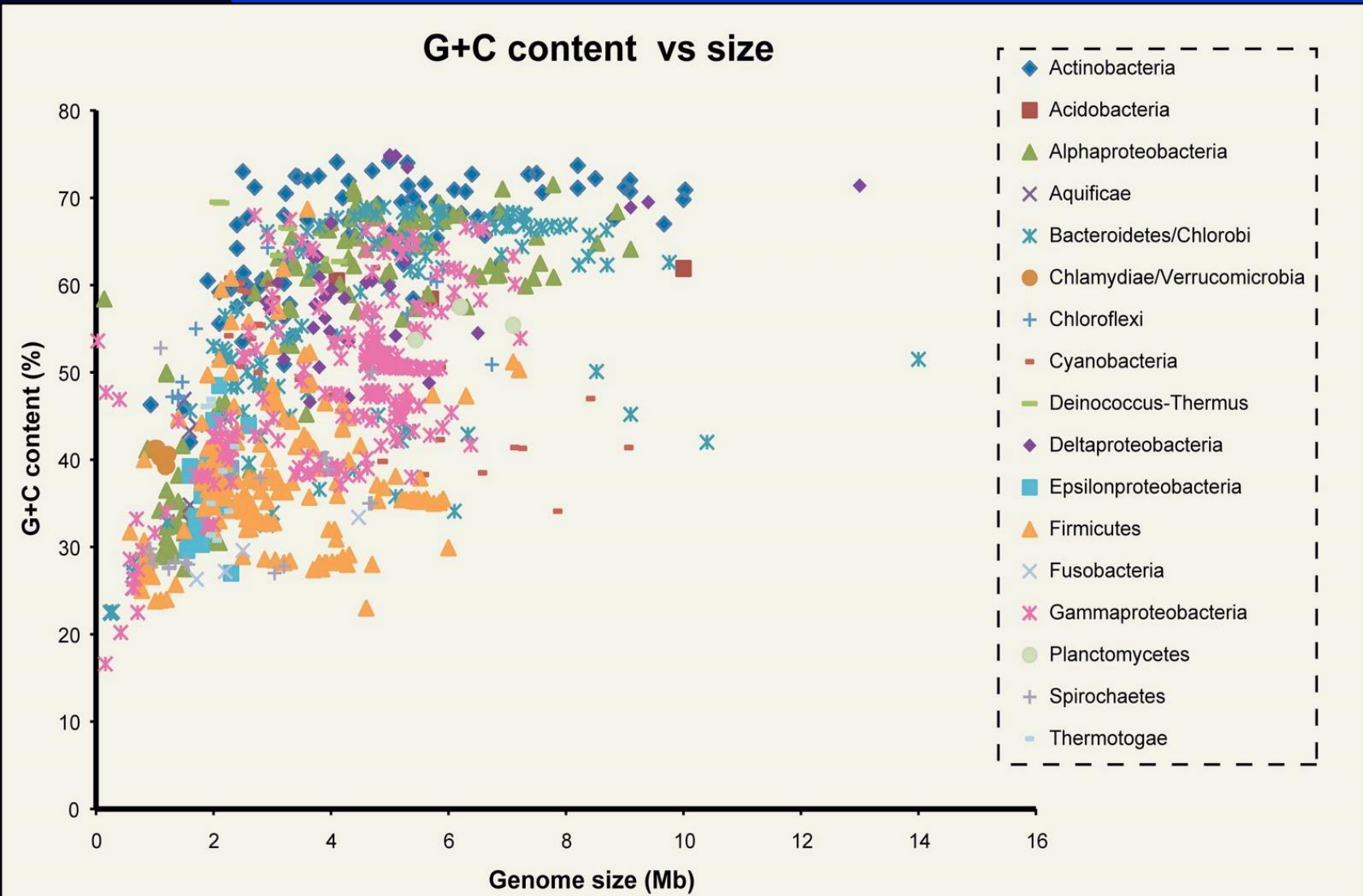


FIGURE 1 Phylogeny of selected bacterial taxa. Genomic base compositions, expressed as percent GC, are indicated.

Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Γενετικά κριτήρια ταξινόμησης

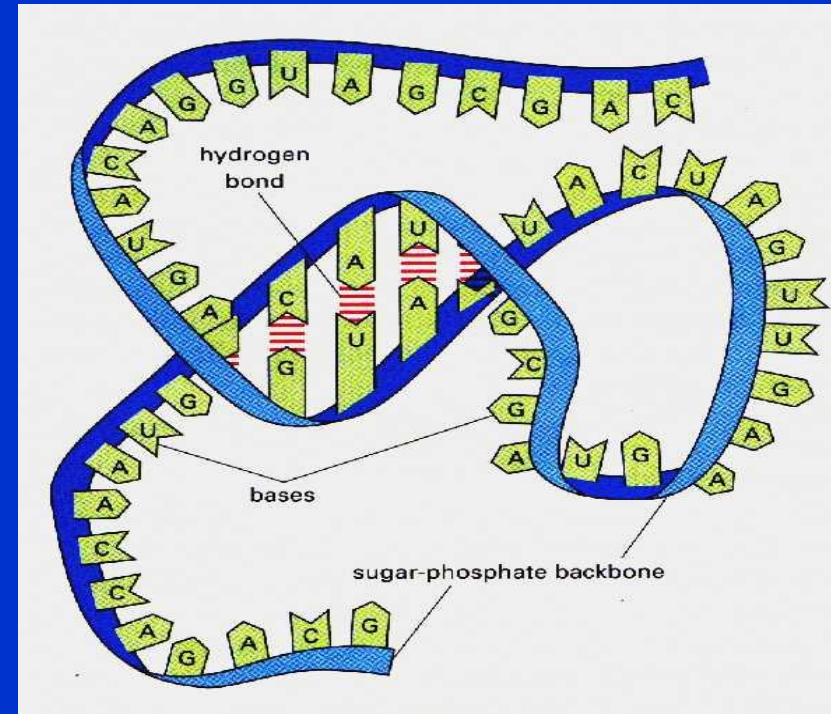
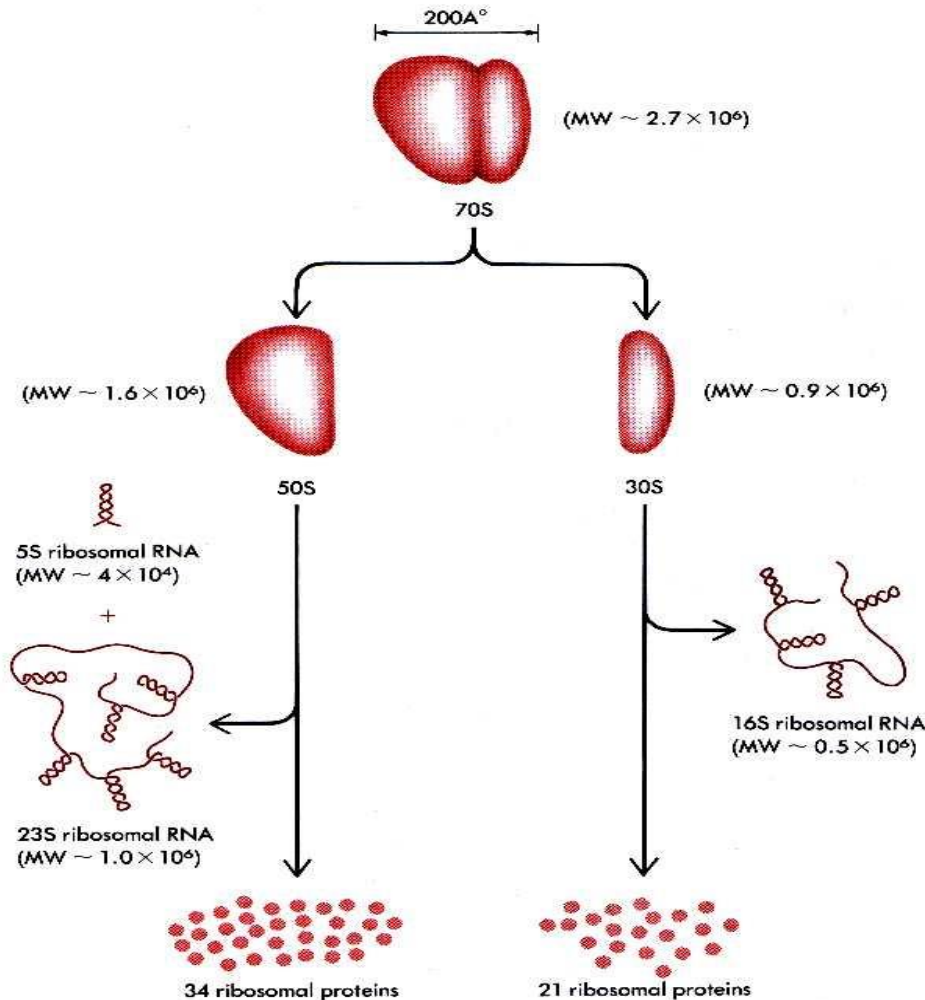
■ Σύνθεση (βάσεων) DNA (%G+C)



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Γενετικά κριτήρια ταξινόμησης

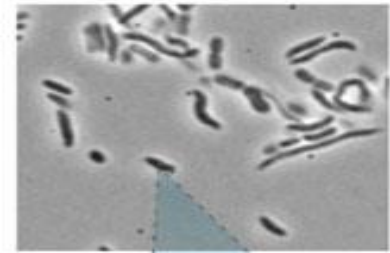
- Το **ριβωσωμικό RNA** είναι σταθερό σε κάθε μ/ο (δεν υπόκειται σε μεταλλάξεις) και δείχνει την εξελικτική πορεία
- Σύνθεση Ριβωσωμικού RNA: το 23S rRNA με ~3000 νουκλεοτίδια και το 16S rRNA με ~1,540 νουκλεοτίδια
- **16S rRNA**: μικρό μόριο και εύκολο να αναπαραχθεί με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Γενετικά κριτήρια ταξινόμησης – Το ριβοσωμικό RNA (rRNA)

- Εκχύλιση DNA από μικροβιακά κύτταρα, αναπαραγωγή και πολυμερισμός του rRNA με PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης), και δημιουργία φυλογενετικών δέντρων



Environmental samples

DNA extraction

Genomic DNA

PCR and sequencing

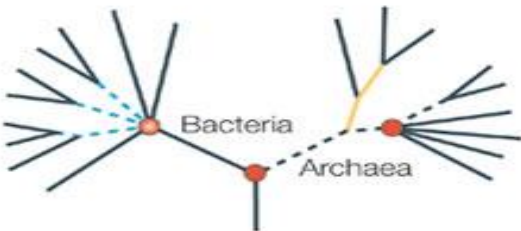
16S rRNA sequencing

Sequence comparison

Phylogenetic trees



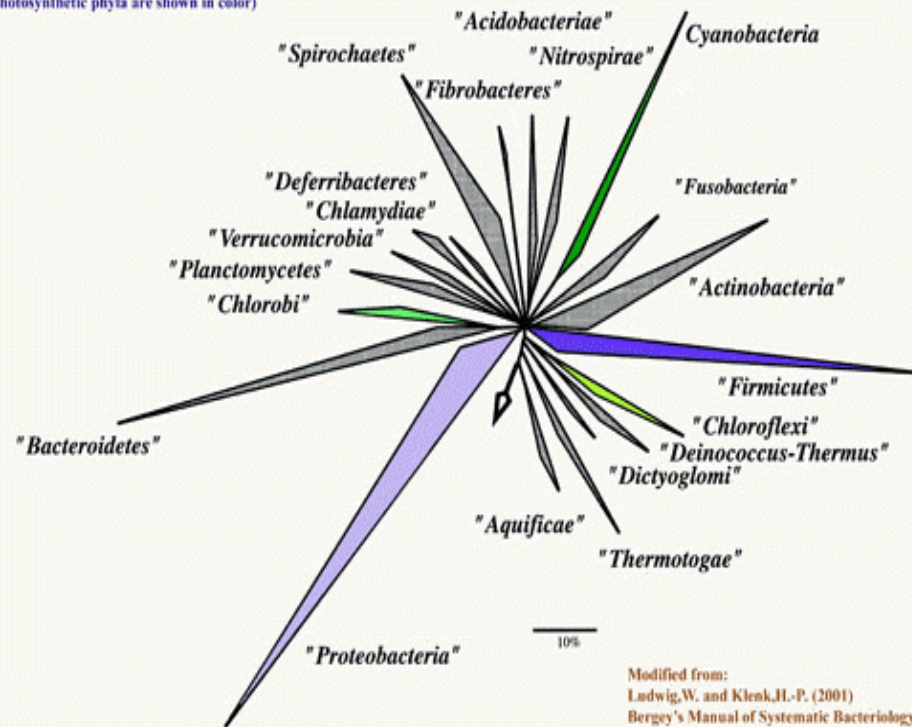
TTTGTAAG-TCTTCAGATAA . . .
TTTGTC AAGTCTTTGGTGAA . . .
TTTGTC AAGTCTTTGGTGAA . . .
...



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Genetics

16S rRNA Tree

(Photosynthetic phyla are shown in color)



Modified from:
Ludwig, W. and Klenk, H.-P. (2001)
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

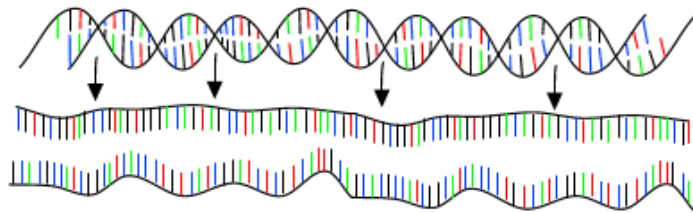
Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Γενετικά κριτήρια ταξινόμησης – Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)

- 1^ο βήμα: αποδιάταξη του δίκλωνου DNA σε δύο αλυσίδες (δημιουργία εκμαγείου)
- 2^ο βήμα: Προσαρμογή των εκκινητών (ολιγονουκλεοτίδια) στο DNA εκμαγείο
- 3^ο βήμα: Επιμήκυνση των εκκινητών από μία θερμοάνοτχη πολυμεράση

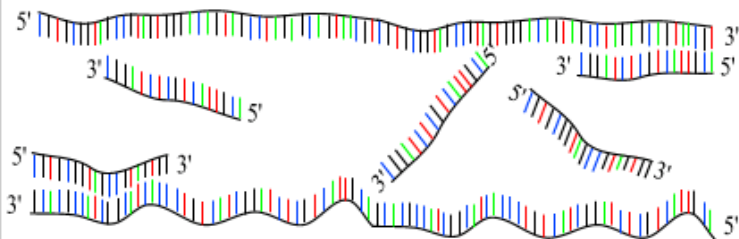
PCR : Polymerase Chain Reaction

30 - 40 cycles of 3 steps :



Step 1 : denaturation

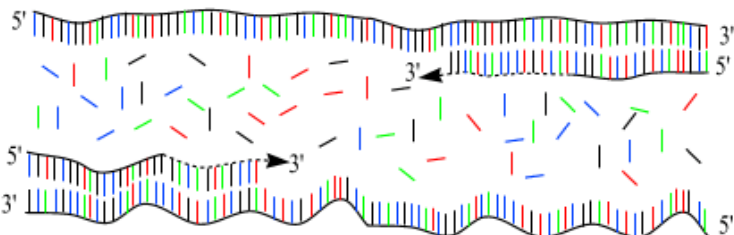
1 minut 94 °C



Step 2 : annealing

45 seconds 54 °C

forward and reverse primers !!!



Step 3 : extension

2 minutes 72 °C
only dNTP's

(Andy Vierstraete 1999)

Συσκευή PCR

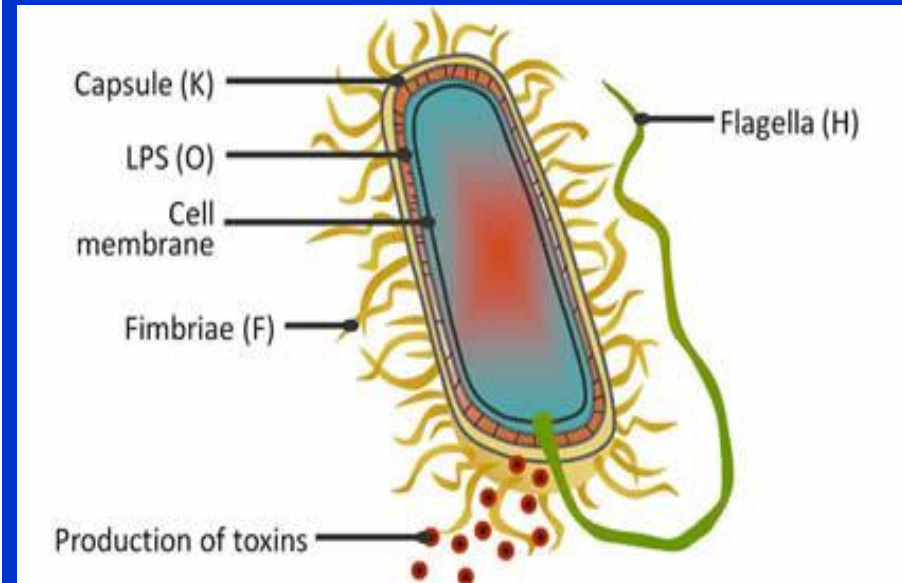
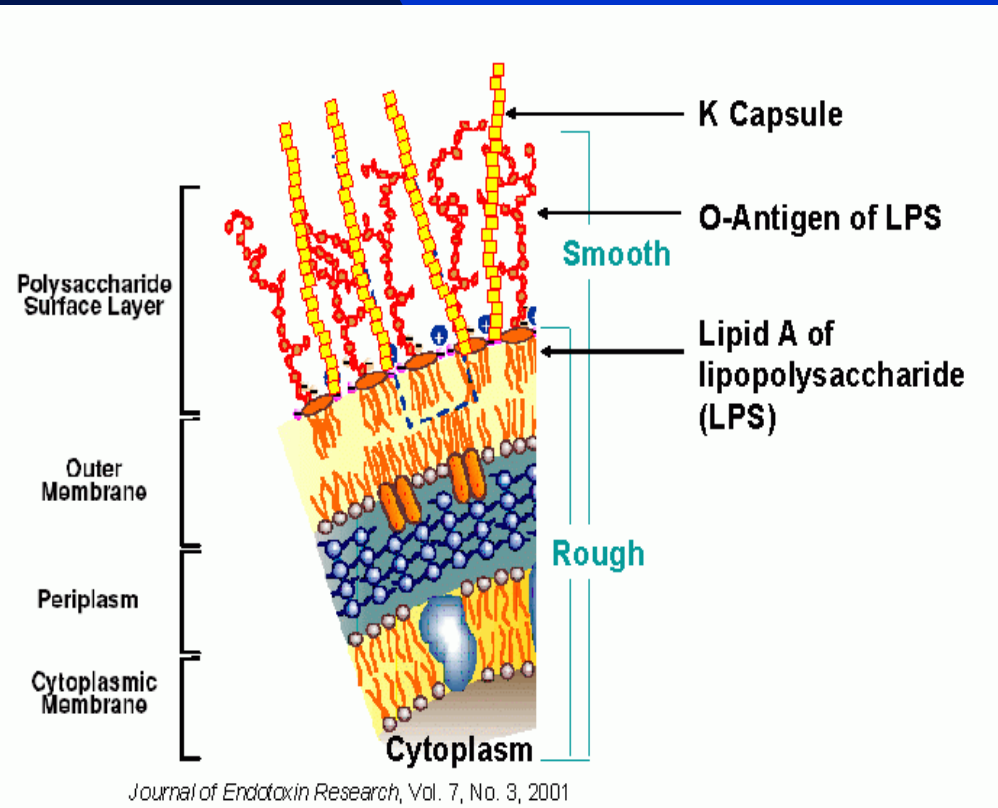


Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Αντιγονικά κριτήρια ταξινόμησης

Τρόποι έκφρασης παθογένειας

- Παραγωγή τοξινών
- Έκκριση αντιγόνων από το έλυτρο / κάψουλα
- Αντιγονικά χαρακτηριστικά σε μαστίγια-βλεφαρίδες (πρωτεΐνες, λιποπολυσακχαρίτες)



Χαρακτηριστικά ταξινόμησης (βακτηρίων)

Αντιγονικά κριτήρια ταξινόμησης

Μέθοδοι δράσης των βακτηριακών τοξινών

Actions of Bacterial Protein Toxins

Plasma membrane

S. aureus α toxin
S. aureus leukocidine
Perfringolysin
E. coli α toxin
C. perfringens enterotoxin
V. parahemolyticus hemolysin

Signal transduction

E. coli LT/ST
Clostridial cytotoxin
Cholera toxin
Pertussis toxin
Bordetella DNT
Anthrax toxins
Super antigens

Cytoskeleton

C. botulinum C2 toxin
C. perfringens ι toxin
V. cholerae RTX

Cell-cell adhesion

Staphylococcal exfoliatin
B. fragilis toxin

Protein synthesis

Diphtheria toxin
Pseudomonas exotoxin
Shiga toxin

Vesicular trafficking

H. pylori Vac A toxin
Aerolysin

Cell cycle

Cytotoxic Distending toxins

Exocytosis

C. botulinum neurotoxins
Tetanus toxin

Οι μ/οι και ο ρόλος τους στο περιβάλλον

Επίδραση στο περιβάλλον

- Παραγωγή O₂, κατανάλωση CO₂
- Διάσπαση ή δέσμευση ρυπογόνων ουσιών (διάσπαση υδρογοναθράκων, δέσμευση βαρέων μετάλλων, κλπ)
- Αποικοδόμηση οργανικών ενώσεων (πολυσακχαριτών, πρωτεϊνών, λιπαρών ουσιών, κύκλος C, κύκλος N)

Επίδραση στη γεωργία

- Φυσική λίπανση του εδάφους με την αποικοδόμηση ουσιών
- Συμβίωση με φυτά προς όφελος και των δύο (π.χ. μυκόριζες)
- Προστασία από φυτοπαθογόνους οργανισμούς (έντομα, βακτήρια, μύκητες)

Επίδραση στην υγεία

- Λοιμώξεις και μολύνσεις από παθογόνα μικρόβια
- Παραγωγή αντιβιοτικών και άλλων θεραπευτικών ουσιών (π.χ. ορμόνες, αντικαρκινικοί πολυσακχαρίτες, πεπτίδια, κλπ)

Επίδραση στα τρόφιμα

- Αλλοίωση τροφίμων
- Τροφοπαθογόνα μικρόβια-τροφικές δηλητηριάσεις
- Παραγωγή ζυμούμενων και προβιοτικών τροφίμων

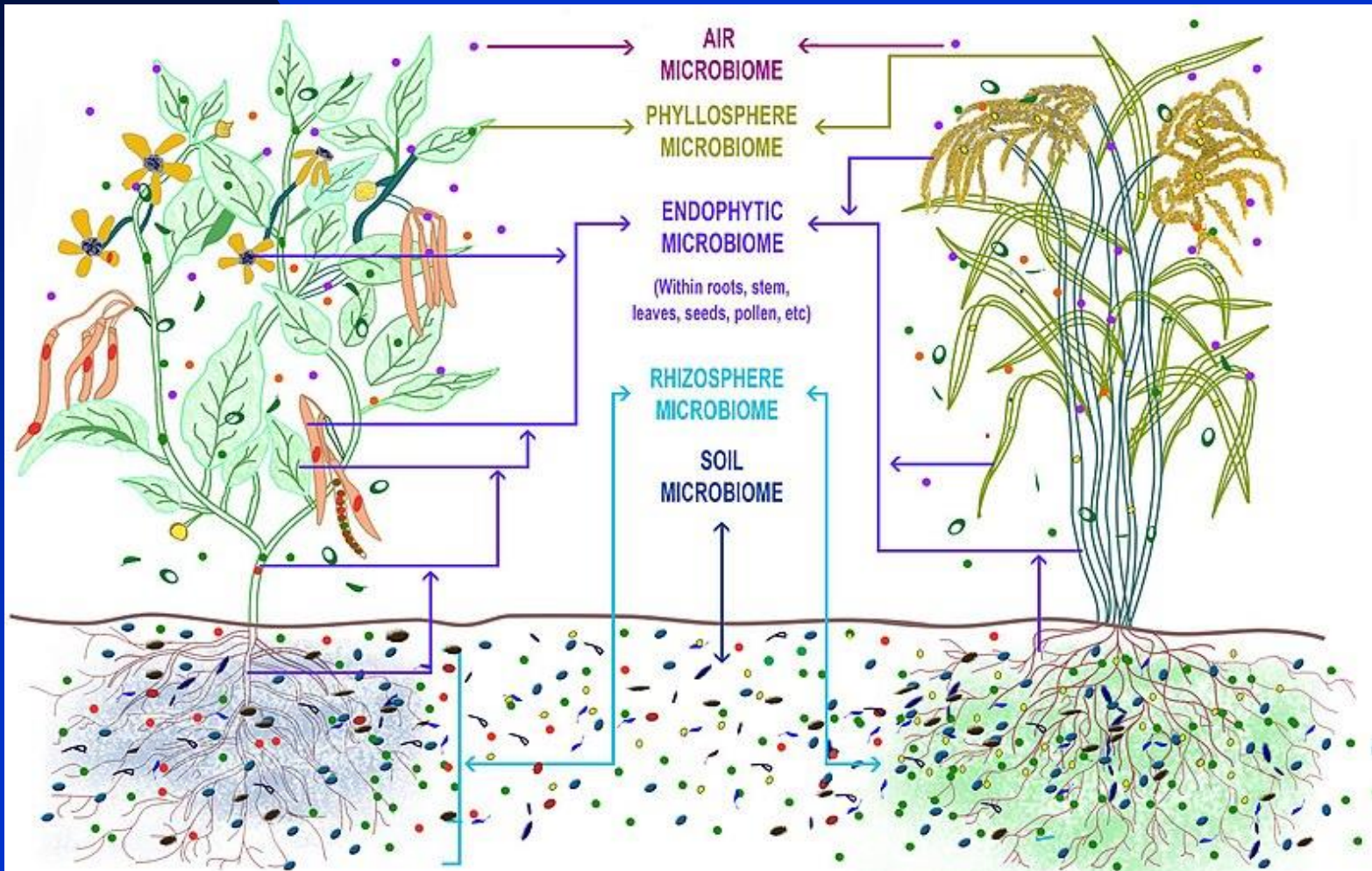
Επίδραση στην παραγωγή ενέργειας

- Παραγωγή βιοαιθανόλης, βιοαερίου, λιπιδίων για παραγωγή βιοντήζελ

Οι μ/οι και ο ρόλος τους στο περιβάλλον

Βιότοποι-οικοσυστήματα μ/ων-πηγές προέλευσης μικροοργανισμών

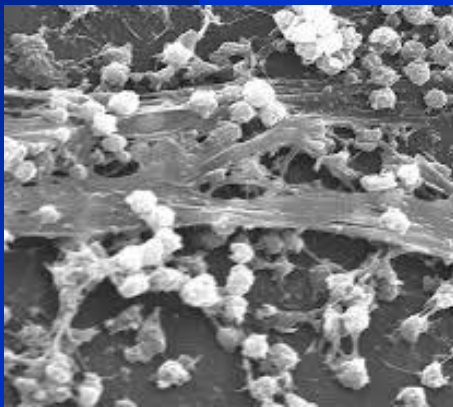
- Προέλευση **Μικροβιώματος** τροφίμων: νερό, αέρας, έδαφος, φυτά, έντερο, δέρμα, στόμα και βλενογόνοι (μύτη, μάτια) ανθρώπων και ζώων
- Προέλευση **Μικροβιώματος** φυτών:



Οι μ/οι και ο ρόλος τους στο περιβάλλον

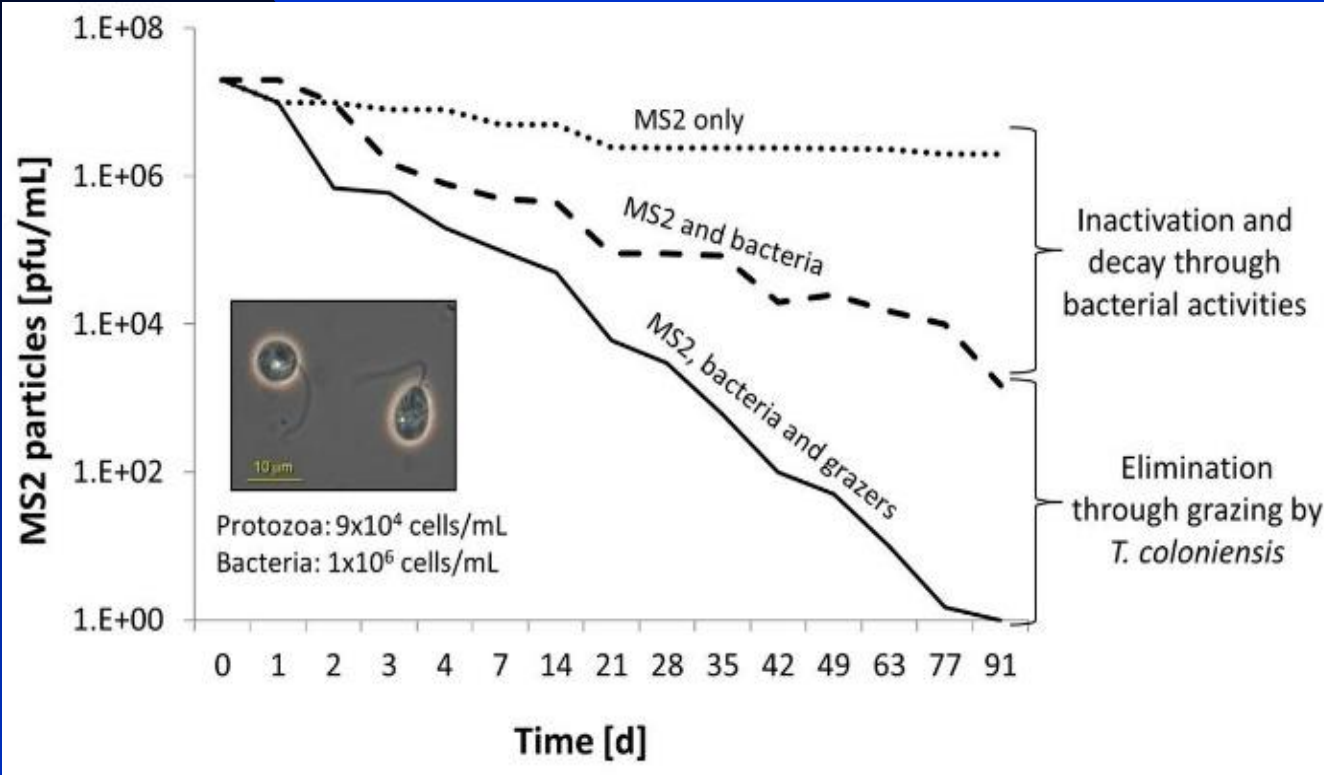
Μικροβιακές κοινότητες-βιοφίλμ (συμβιωτική σχέση)

- Οι μικροοργανισμοί έχουν την τάση να συσσωματώνονται σε μεγάλες κοινότητες του ίδιου ή διαφορετικού είδους κυττάρων που λειτουργούν συνεργιστικά
- Τα βιοφίλμ (π.χ. σε μια αδρανή επιφάνεια) είναι πολύ ανθεκτικά και δύσκολο να καταστραφούν (π.χ. αδυναμία απολύμανσης σε βρώμικες επιφάνειες όπου έχει σχηματιστεί βιοφίλμ)
- Στον εντερικό σωλήνα το βιοφίλμ των κυττάρων ευνοεί την επιβίωση προβιοτικών (αλλά και δυνητικά παθογόνων βακτηρίων)



Οι μ/οι και ο ρόλος τους στο περιβάλλον

■ Μικροβιακός ανταγωνισμός



Οι μικροοργανισμοί ως κύτταρα

Δομή κυττάρων:

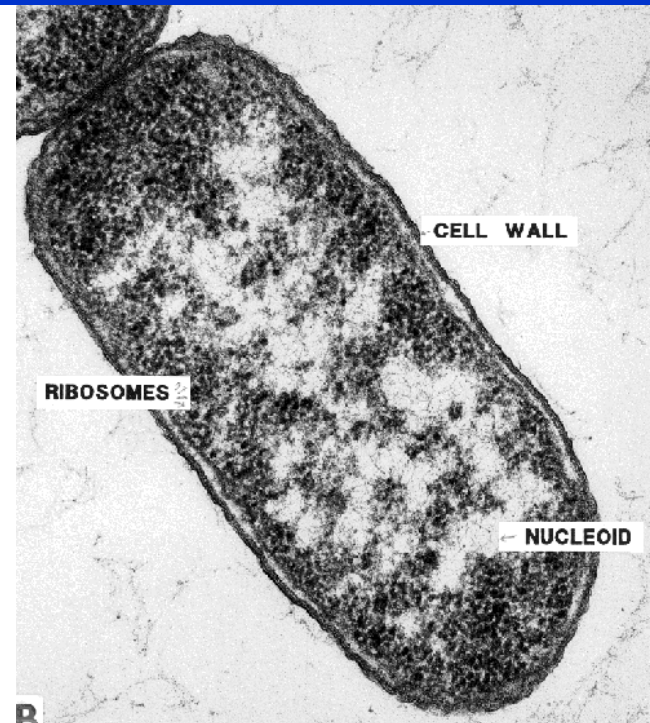
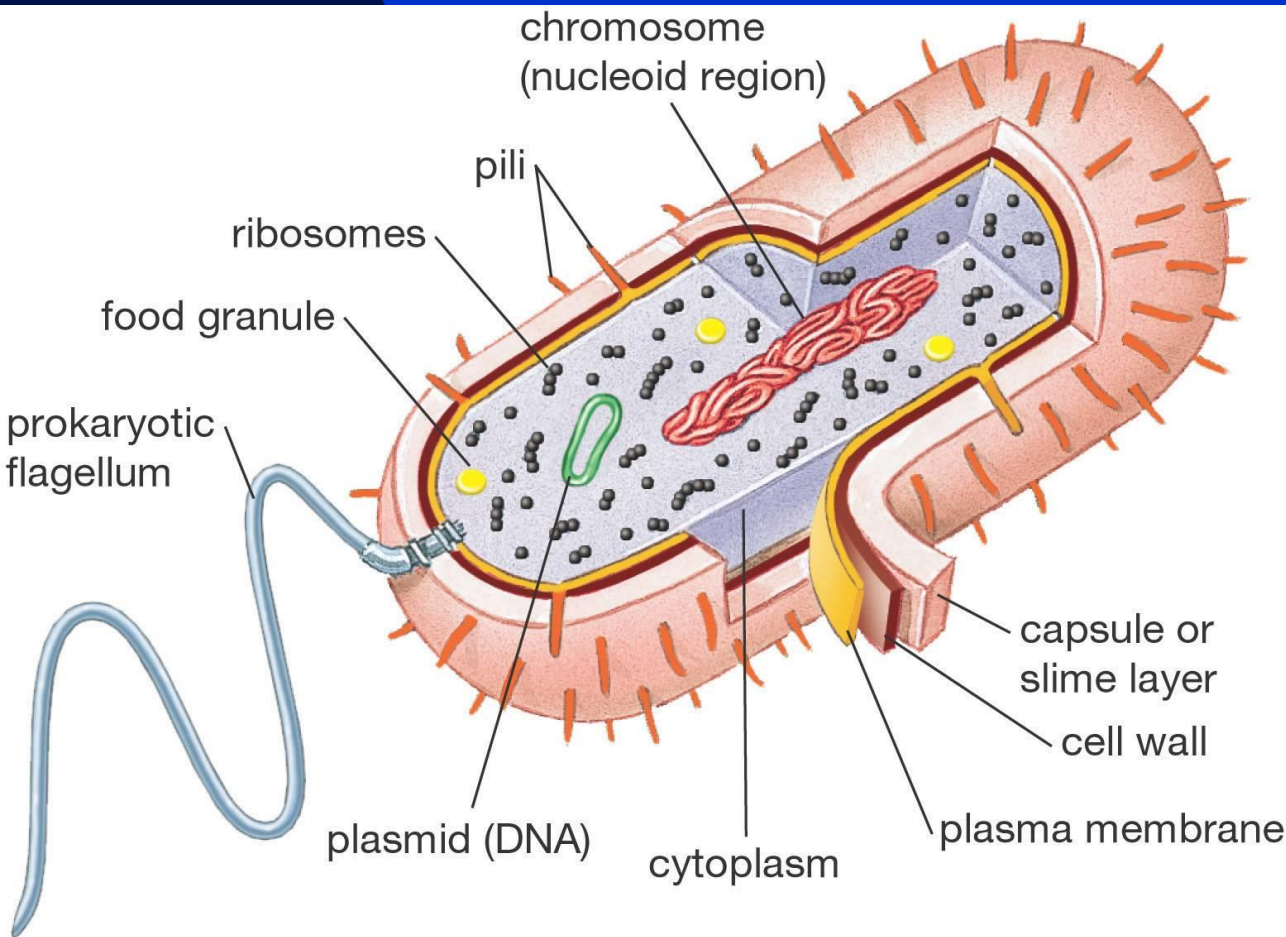
- Προκαρυωτικών
- Ευκαρυωτικών

Βασικές λειτουργίες κυττάρων:

- Μεταβολισμός
- Αναπαραγωγή
- Διαφοροποίηση-εξέλιξη
- Επικοινωνία
- Κίνηση
- Λοιπές Λειτουργίες

Οι μ/οι ως κύτταρα

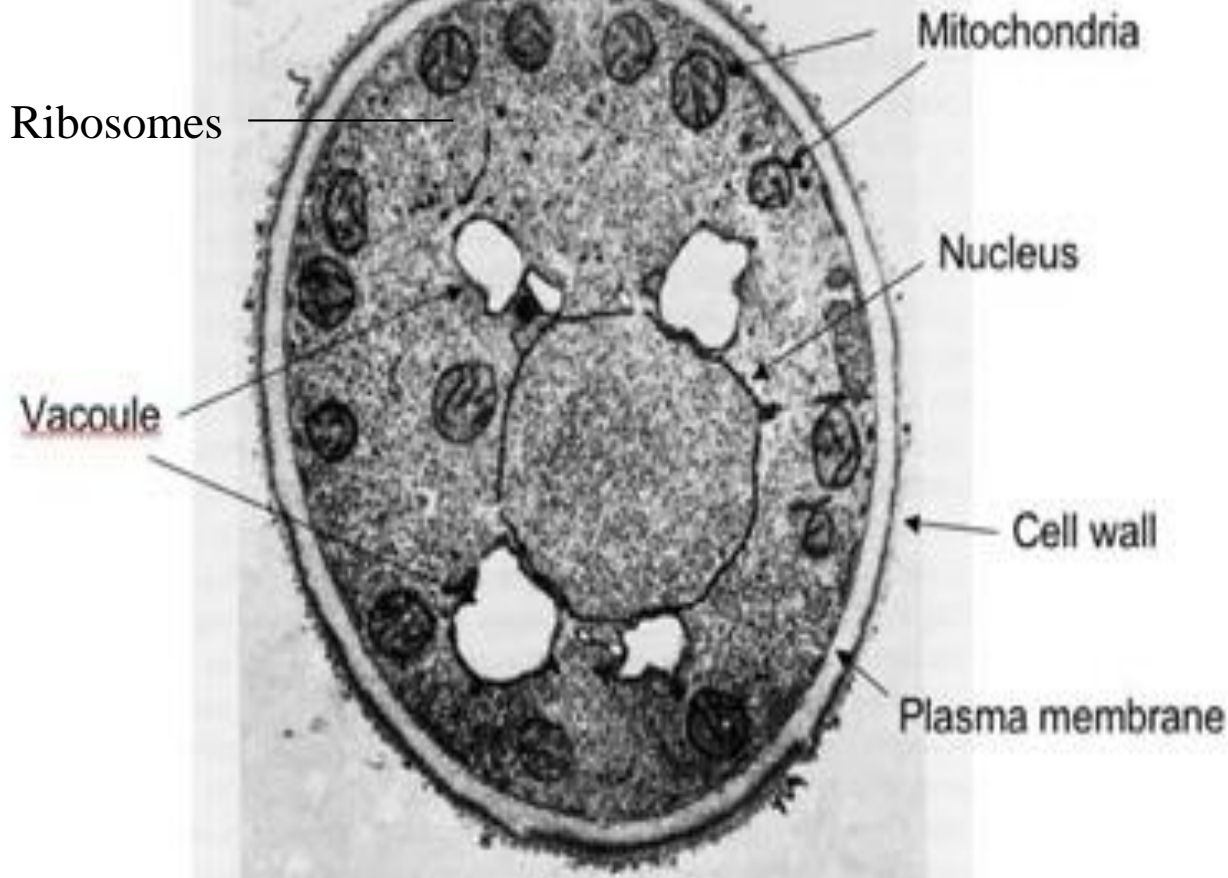
Δομή προκαρυωτικών κυττάρων (βακτήρια):



Οι μ/οι ως κύτταρα

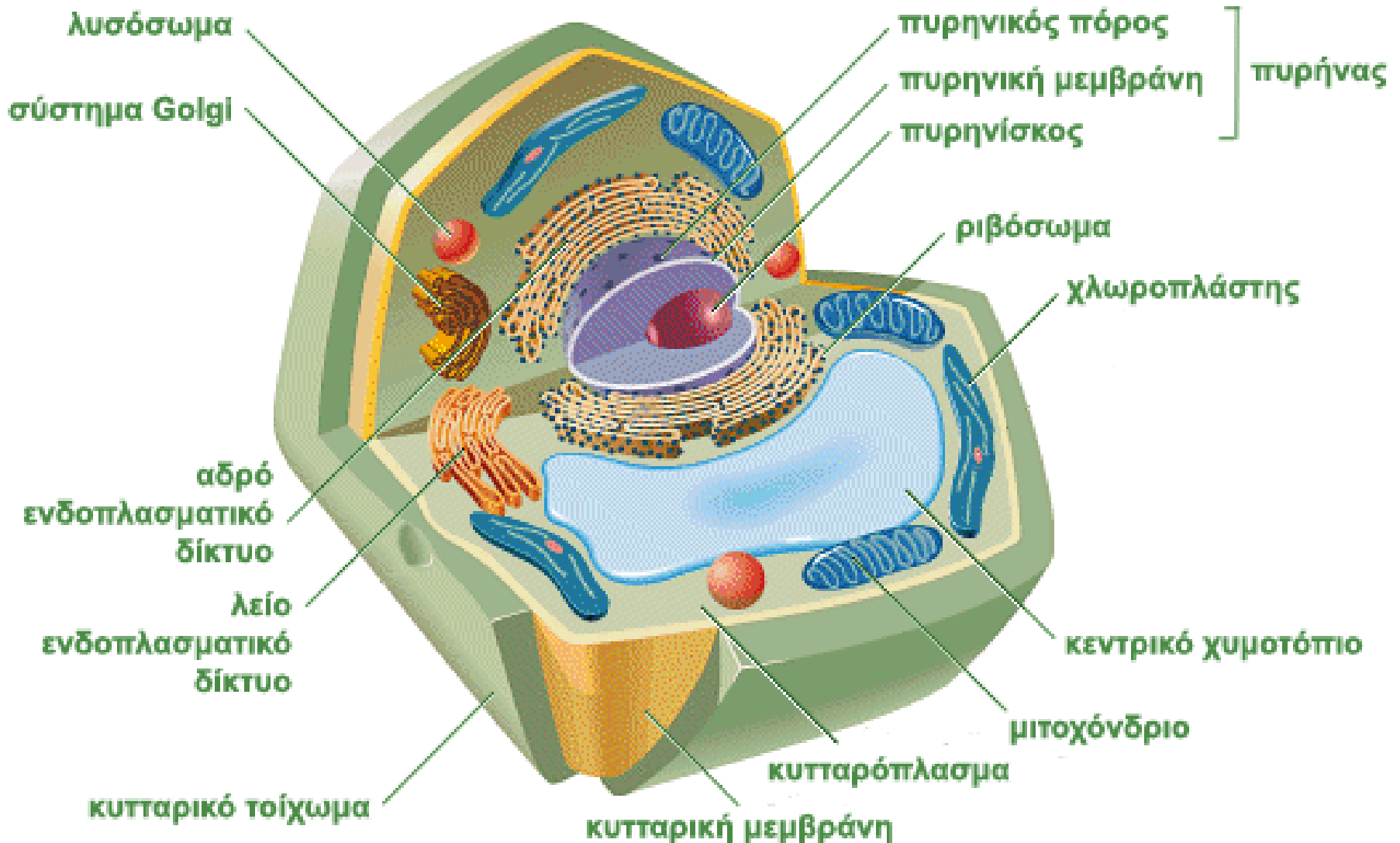
Δομή ευκαρυωτικών κυττάρων (ζύμες):

EM section of yeast



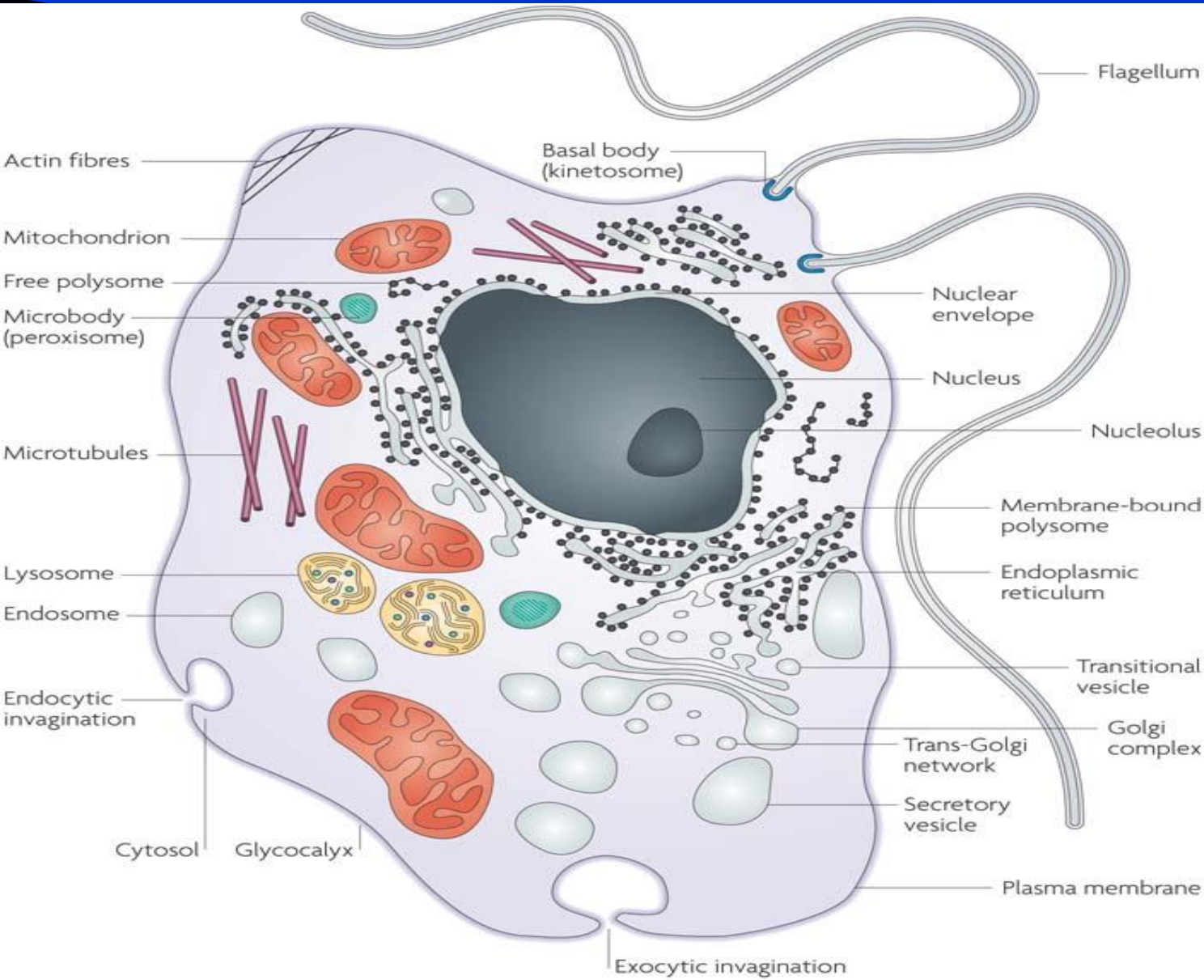
Οι μ/οι ως κύτταρα

Δομή ευκαρυωτικών κυττάρων (μύκητες):



Οι μ/οι ως κύτταρα

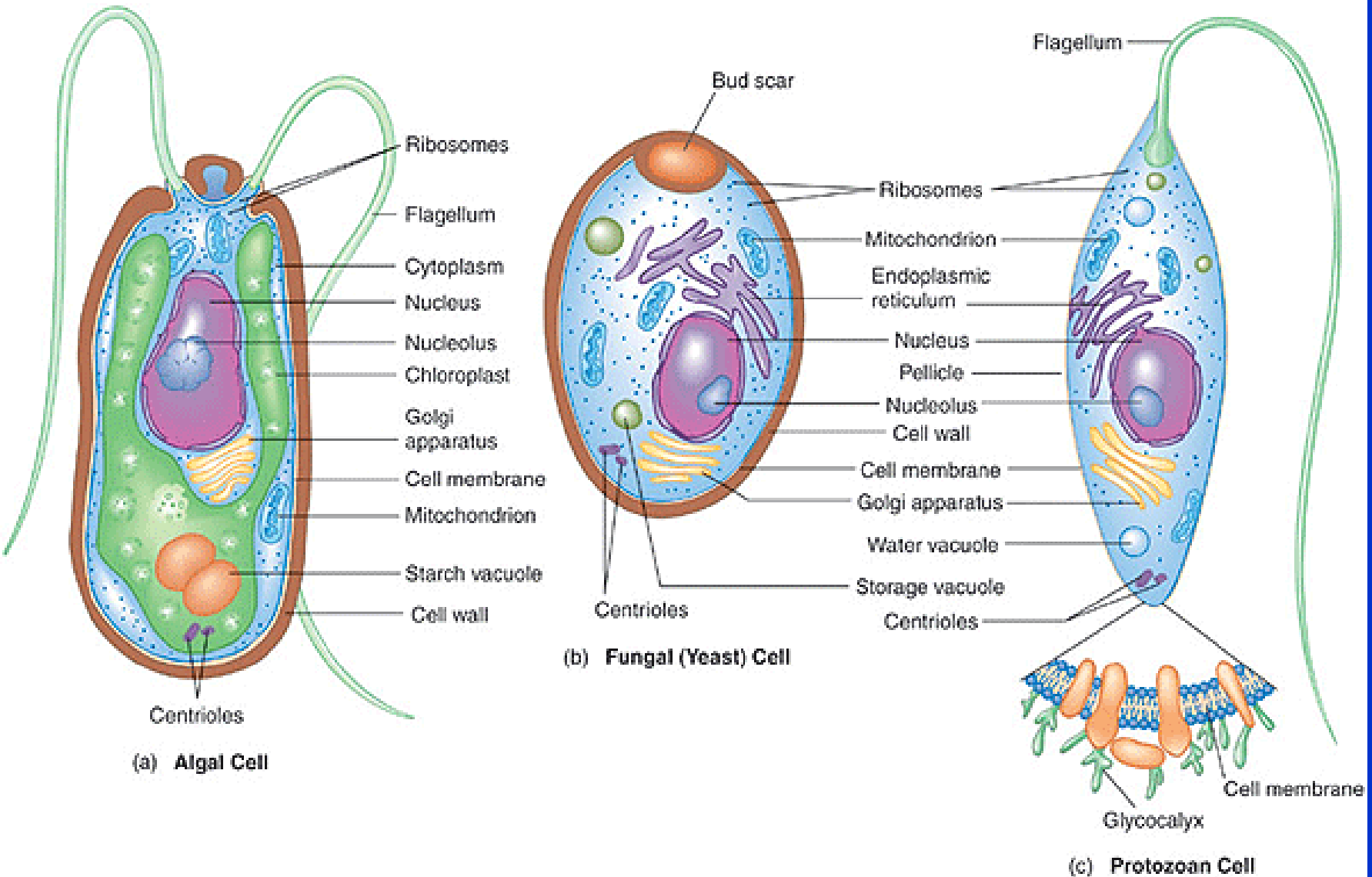
Δομή ευκαρυωτικών κυττάρων (πρωτόζωα):



Οι μ/οι ως κύτταρα

Δομή ευκαρυωτικών κυττάρων (πρωτόζωα):

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

- Μέγεθος βακτηρίων:μήκος:περίπου 0,5-5μm
- Χημική σύσταση κυττάρων:
- H₂O (75-80%)
- Πρωτεΐνες(περίπου 50% επί ξηρού)
- Υδατάνθρακες(20-60% επί ξηρού)
- Λίπη(2-60% επί ξηρού)
- Άλατα, χρωστικές, βιταμίνες

ΔΟΜΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

- Α.Κυτταρικό τοίχωμα: (20-25% ξηρού βάρους κυττάρου)

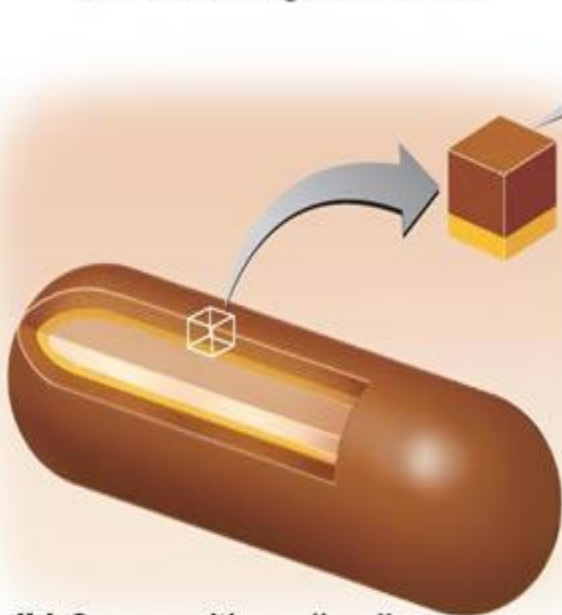
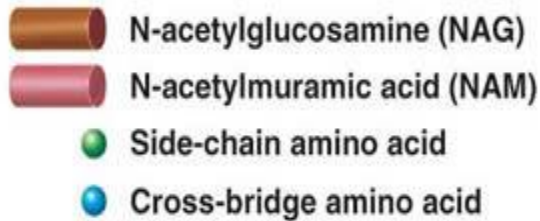
Σύσταση κυτταρικού τοιχώματος:

- Μουκοπεπτίδια (N-ακέτυλο-γλυκοζαμίνη)
- Γλυκοπεπτίδια (N-ακέτυλο-μουραμικό)
- Πεπτιδογλυκάνες (N-ακέτυλο-μουραμικό)
- Μεμβρανικές πρωτεΐνες (πορίνες, μεταφορικές πρωτεΐνες, κλπ) : συμμετέχουν στην μεταφορά ουσιών εντός του κυτταροπλάσματος
- τειχοϊκό οξύ: gram⁺ (πολυμερή φωσφογλυκερόλης/φωσφοριβιτόλης)
- λιποπολυσακχαρίτες: gram⁻

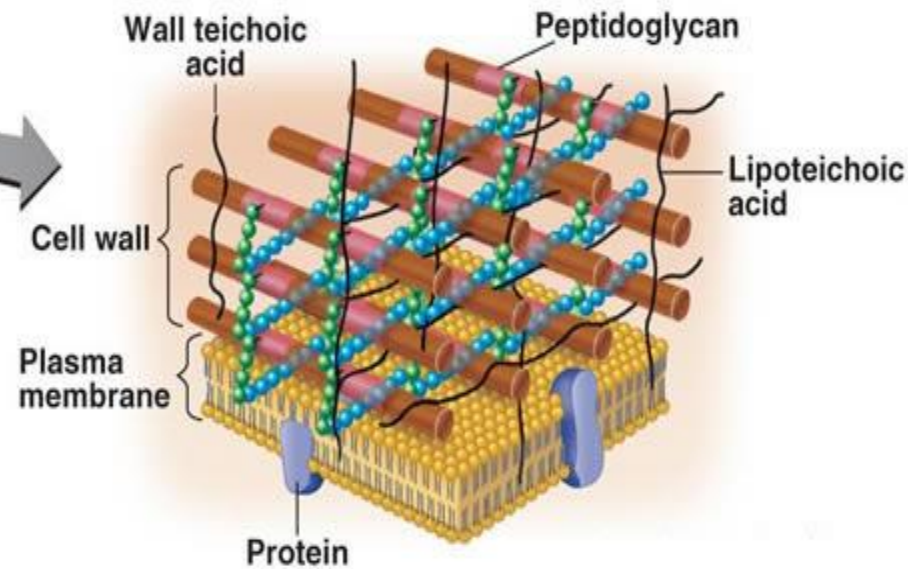
ΔΟΜΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

Κυτταρικό τοίχωμα Gram+ βακτηρίων:

- Συμπαγές στρώμα πεπτιδογλυκάνης (N-ακετυλογλυκοζαμίνης και N-ακετυλομουραμικού), ενισχυμένο με αμινοξέα και τειχοϊκό οξύ (ή/και λιποτειχοϊκό οξύ)

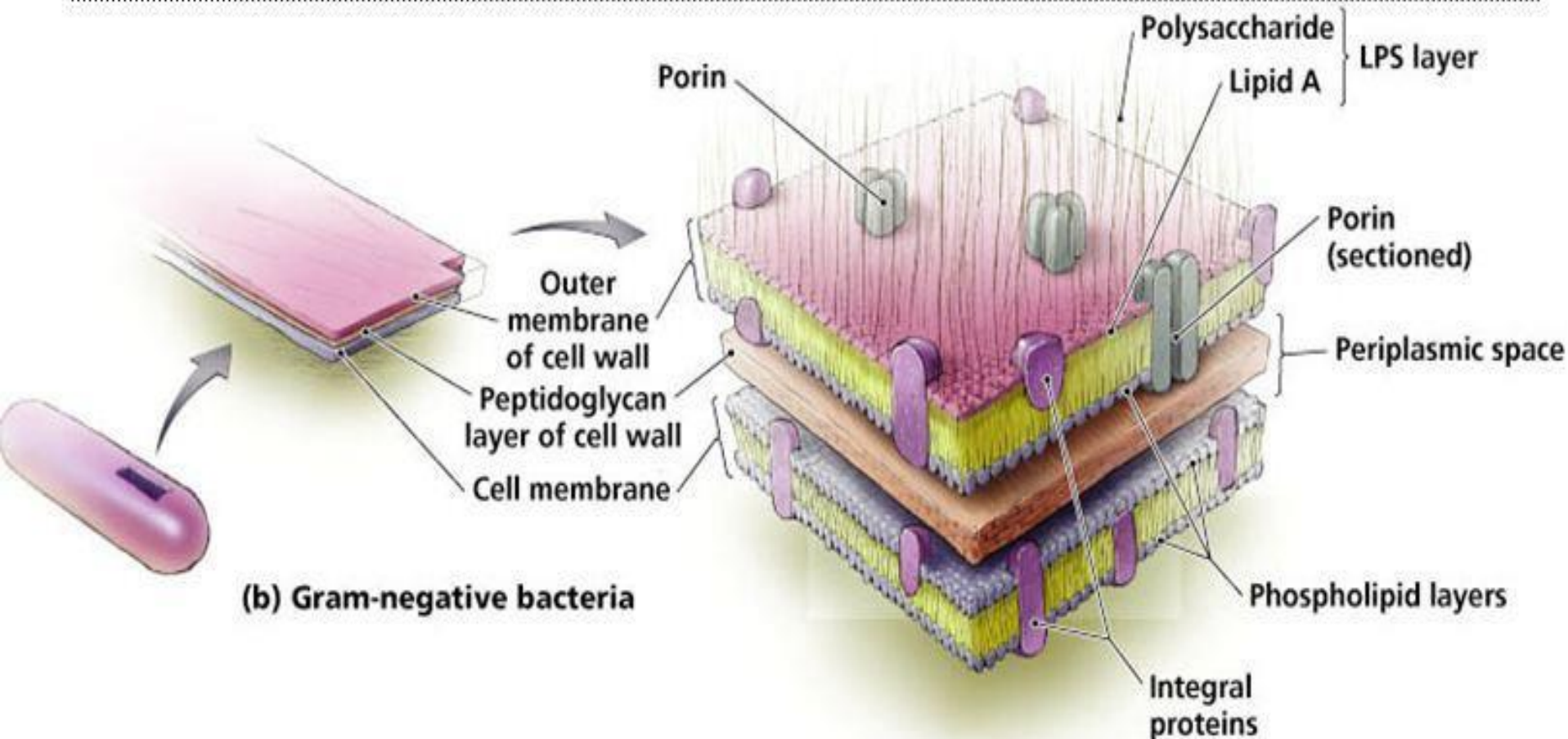


(b) Gram-positive cell wall



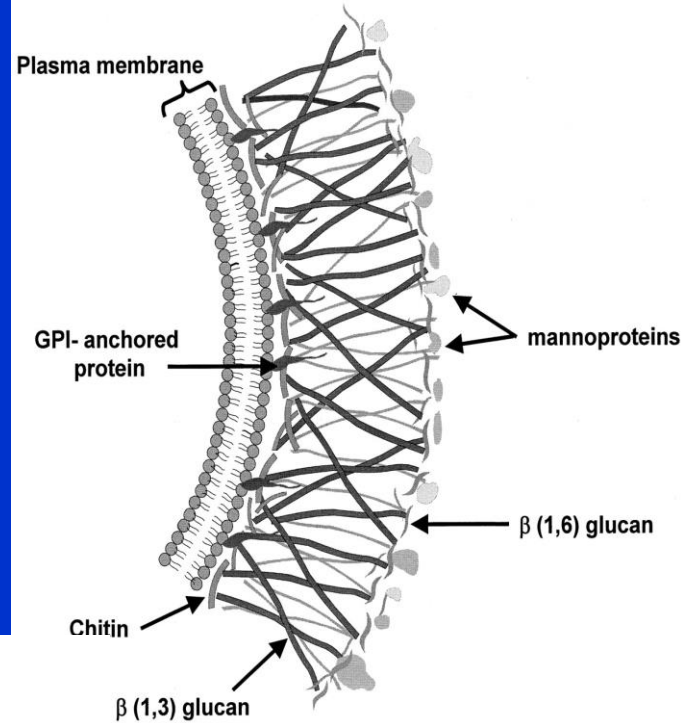
ΔΟΜΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

- Κυτταρικό τοίχωμα Gram- βακτηρίων:
- Πολύφυλλο στρώμα μεμβρανών από πεπτιδογλυκάνες, λιποπολυσακχαρίτες, φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια, χωρίς τειχοϊκό οξύ

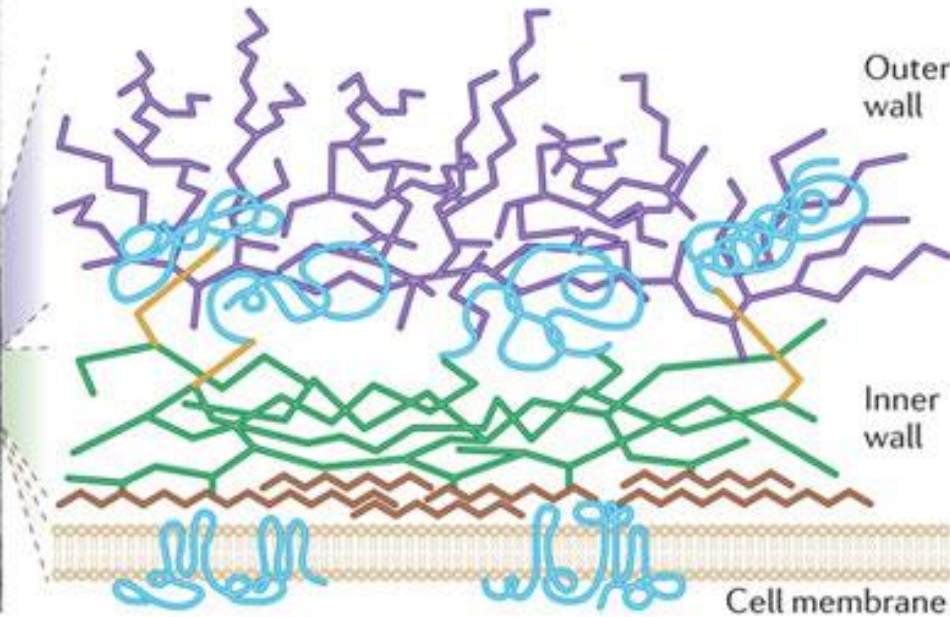
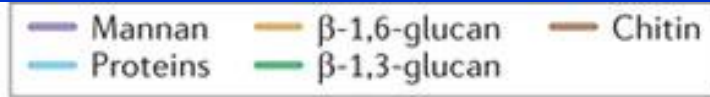
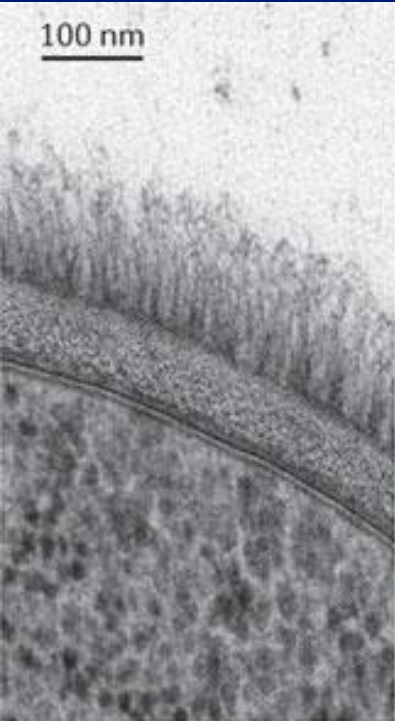


ΔΟΜΗ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

- Κυτταρικό τοίχωμα μυκήτων: αποτελείται από γλυκάνες, μαννάνες, χιτίνη, γλυκοπρωτεΐνες

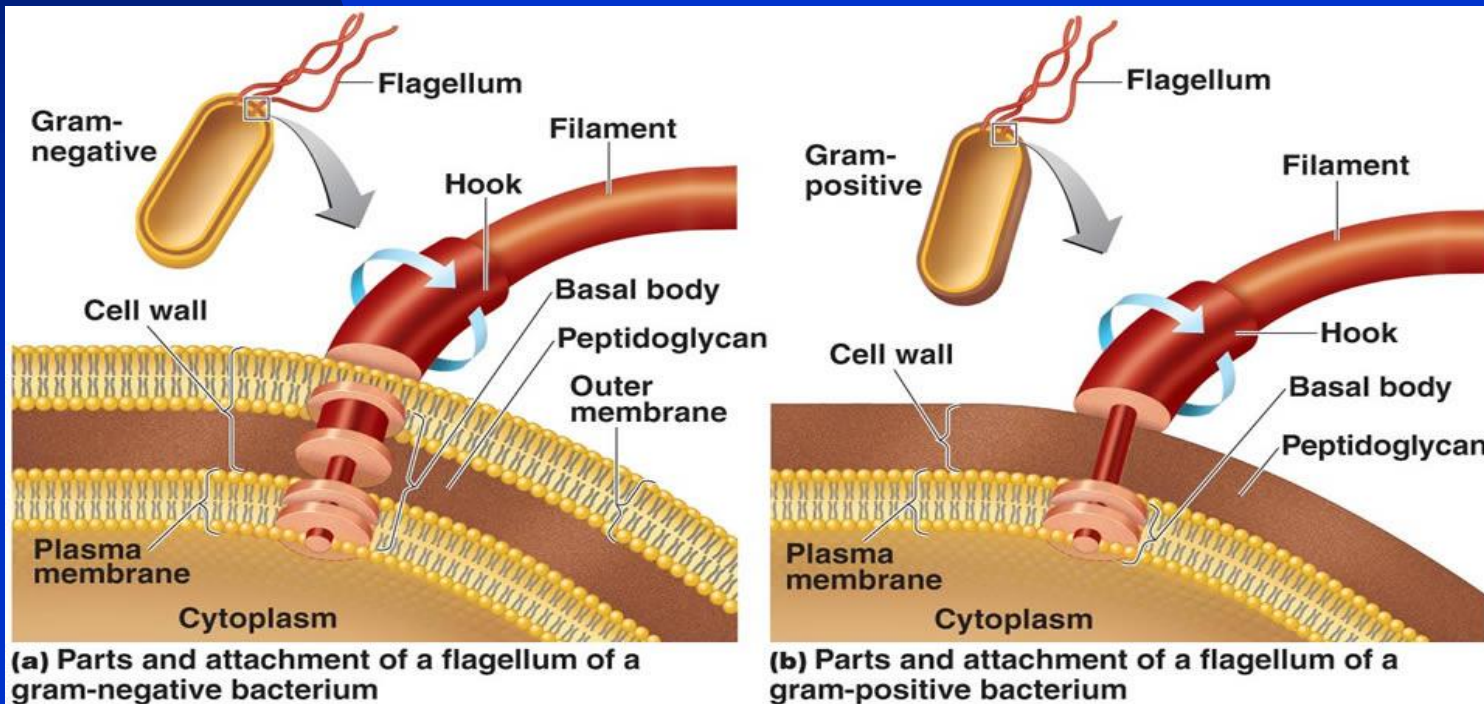


100 nm



Λειτουργίες κυτταρικού τοιχώματος:

- Διατήρηση μορφής του κυττάρου
- Προστασία από ωσμωτική πίεση, τοξικές ουσίες, αλλαγές pH κ.λ.π.
- Συμμετέχει στον μεταβολισμό (δίοδος ουσιών)
- Συμμετέχει στην κυτταρική διαίρεση και επικοινωνία
- Απαραίτητο για προσκόλληση σε επιφάνειες άλλων κυττάρων
- Απαραίτητο για κίνηση (σημείο πρόσδεσης για βλεφαρίδες, μαστίγια)
- Πιθανός ρόλος στην τοξικότητα (πολυσακχαρίτες παθογόνων βακτηρίων)



Μελέτη της σύστασης του κυτταρικού τοιχώματος

Η απομόνωση του κυτταρικού τοιχώματος γίνεται με:

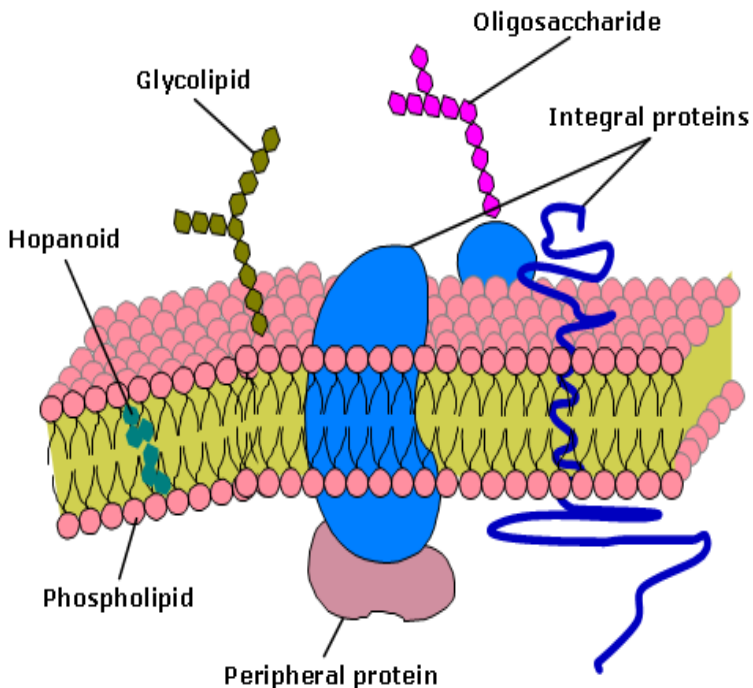
- Αυτόλυση με τουλουένιο + πέψη με θρυψίνη
- Θέρμανση
- Υπέρηχους
- Κατάψυξη-απόψυξη

Β.ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

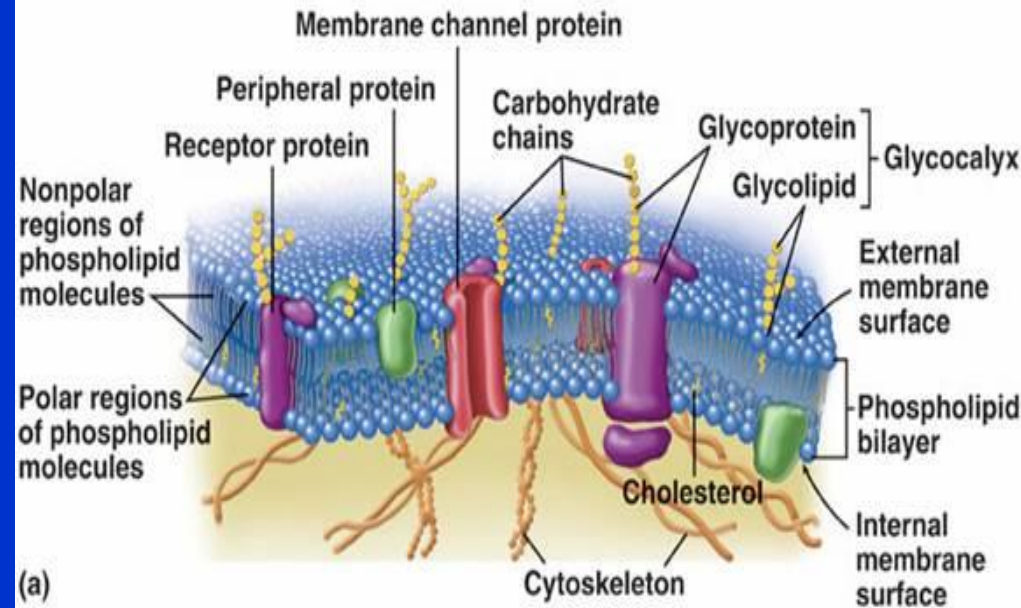
- Αποτελείται από φωσfolιπίδια, πρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες, γλυκολιπίδια
- ΜΟΝΤΕΛΟ ΥΓΡΟΥ ΜΩΣΑΙΚΟΥ

Biological education. Microbiology. Bacterial cell structure.

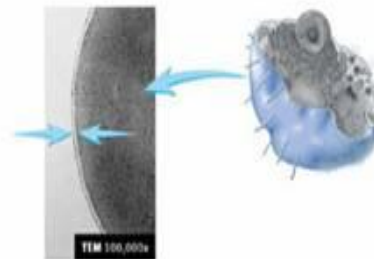
The bacterial cytoplasmic membrane



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(a)

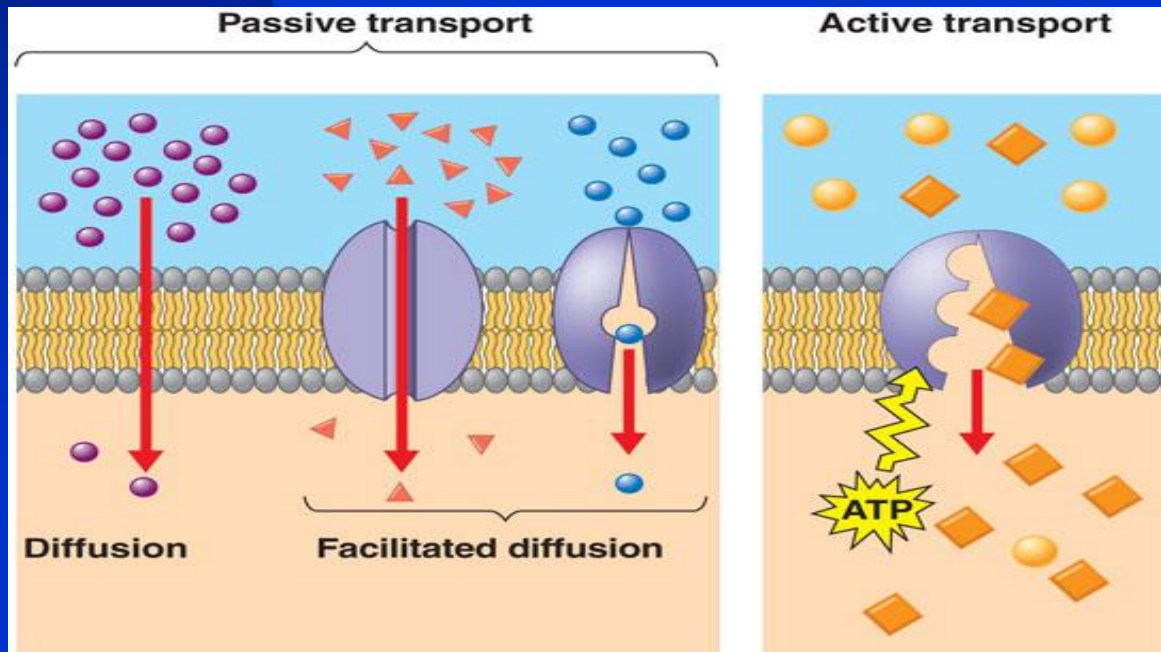


(b)

Β.ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

Λειτουργίες κυτταροπλασματικής μεμβράνης

- Εκλεκτική διαπερατότητα και μεταφορά ουσιών δια μέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης με:
- **Απλή διάχυση** (diffusion) μικρών μορίων-αερίων, H_2O με βάση τη διαβάθμιση συγκέντρωσης εντός και κτός της μεμβράνης
- **Βοηθούμενη διάχυση** (facilitated diffusion) → με βάση τη διαβάθμιση συγκέντρωσης και με τη βοήθεια μεταφορέα. Π.χ διάχυση O_2 , CO_2 , λιπιδίων
- **Ενεργός μεταφορά** (active transport) → Με κατανάλωση ενέργειας (ωθείται από το ATP και ένζυμα (περμεάσες, αφυδρογονάσες) για έλεγχο διόδου π.χ. σακχάρων-αμινοξέων ή αλάτων ενάντια στην διαβάθμιση συγκέντρωσης



Β.ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ

Λειτουργίες κυτταροπλασματικής μεμβράνης

- Πολλές ενζυμικές λειτουργίες(ενσωματωμένα μεμβρανικά ένζυμα) Π.χ αφυδρογονάσεις, συνένζυμα NAD,FAD, κυτοχρώματα, οξειδάσες
- Κινητική λειτουργία (συντονίζει βλεφαρίδες-μαστίγια)
- Εκκριτική λειτουργία
- Σχηματισμός κυτταρικού τοιχώματος, ελύτρου-κάψουλας, βλεφαρίδων
- Καταστροφή/λύση κυτταρικής μεμβράνης → θάνατος κυττάρου

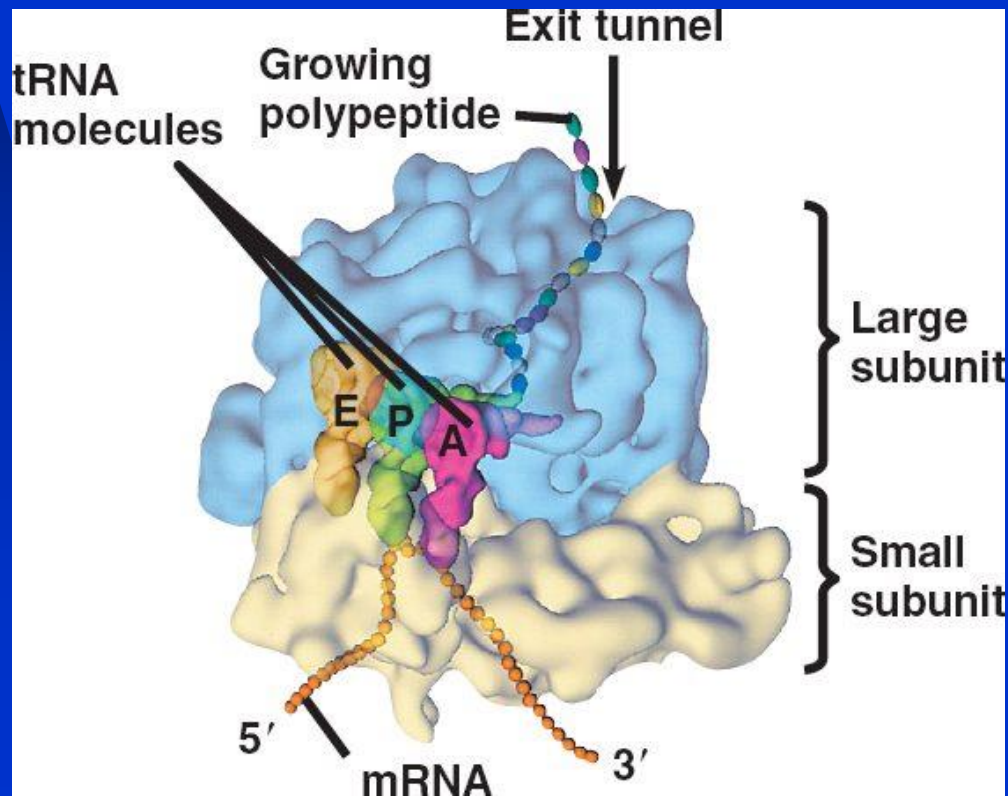
Γ.ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ

- Υδατικό δ/μα (80%H₂O) με σάκχαρα, λιποπρωτεΐνες, άλατα νουκλεοτίδια, ένζυμα και τα κυτταρικά οργανίδια
- Κολλοειδής σύσταση, βασεόφιλο, πλούσιο σε RNA
- Περιέχει τα κυτταρικά οργανίδια των μικροοργανισμών
- Στα βακτήρια (όπου δεν υπάρχει πυρήνας με πυρηνική μεμβράνη) περιέχει τα νουκλεοτίδια των βακτηρίων
- Στα βακτήρια η παραγωγή ενέργειας γίνεται στο κυτταρόπλασμα (ενώ σε ζύμες-μύκητες στα μιτοχόνδρια)

Δ. ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ

1. Ριβοσώματα

- Κοκκίδια μεγέθους 100-200 Å (0,01-0,02 μm)
- Αρκετές χιλιάδες/κύτταρο
- Ρόλος: παραγωγή-βιοσύνθεση πρωτεϊνών (μετάφραση RNA σε αλληλουχία αμινοξέων)
- Περιέχουν 80-90% του συνολικού RNA (25-30% του ξηρού βάρους του κυττάρου)



Δ. ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ

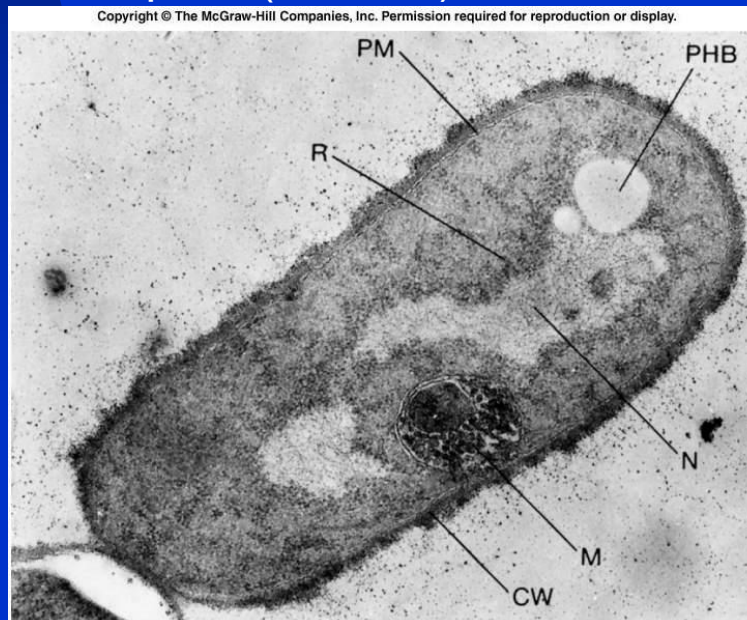
2. Εγκλειστα(inclusions)

- Αποθέσεις οργανικών/ανόργανων ουσιών(αποταμίευση) π.γλυκογόνο, πολύ-υδρολυβουτυρικό, Fe,S σε σιδηροβακτήρια, θειοβακτήρια, βολουτίνη ($-PO^{-3}$) → χρώση με sudan black χρωματίζει τα έγκλειστα

3. Κενοτόπια (περιέχουν ένζυμα και αμινοξέα)

4. Μεσοσώματα (ενθυλακώσεις κυττ.μεμβράνης)

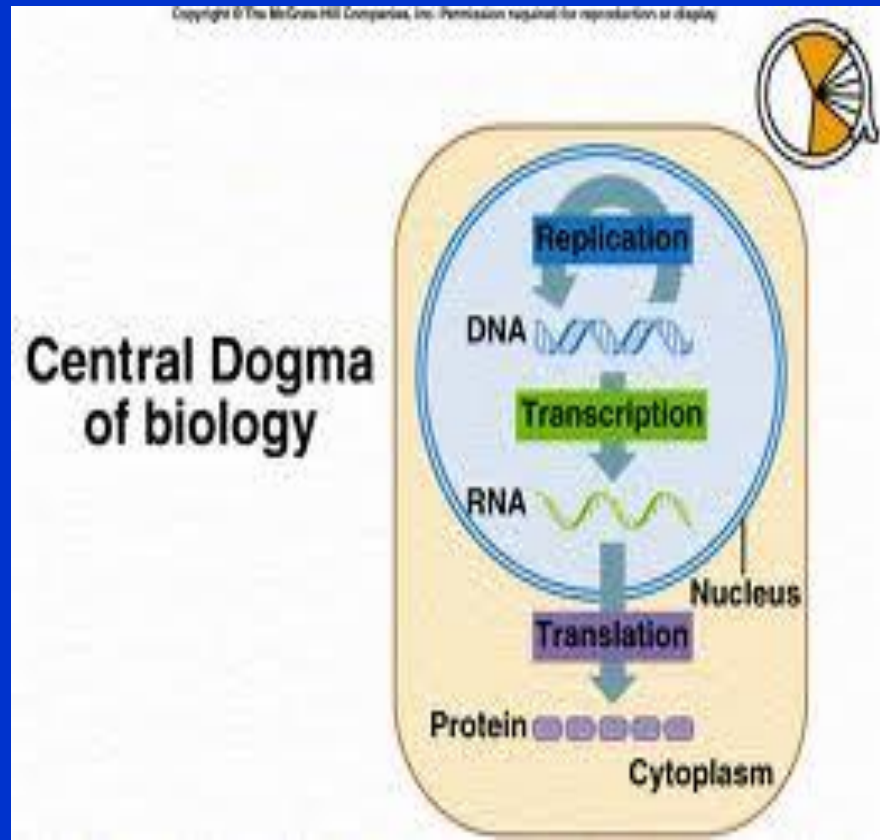
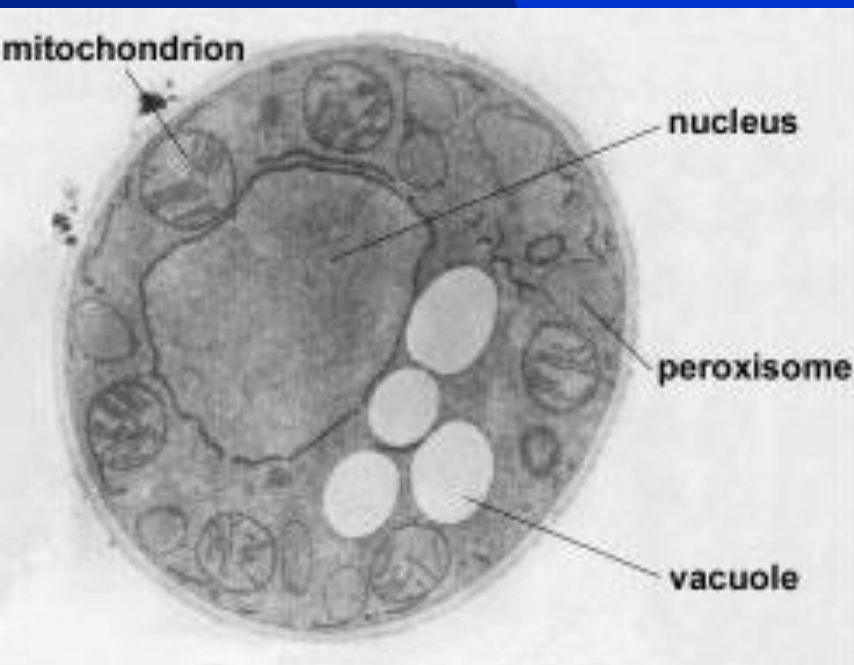
- Ρόλος : πηγή ενζύμων κυτταρικής αναπνοής και βιοσύνθεση φωσφολιπιδίων
- τόπος σχηματισμού σπορίων (Bacillus)



Δ. ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ

5. Πυρήνας:

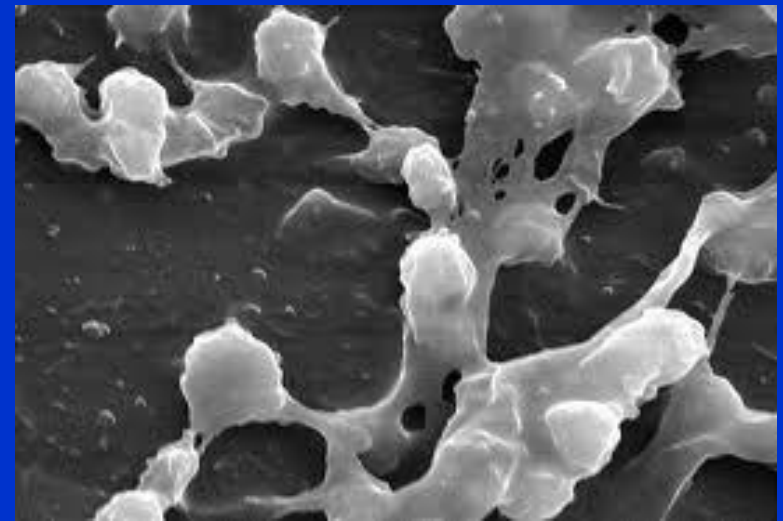
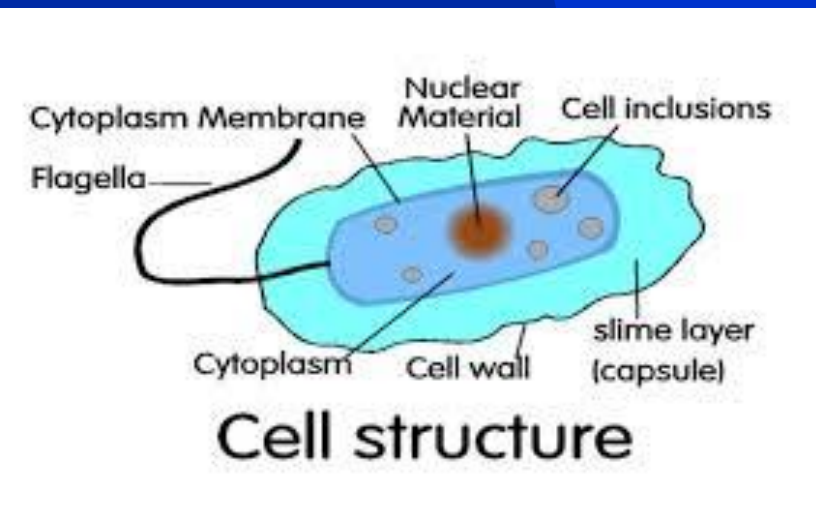
- χωρίς πυρηνική μεμβράνη (βακτήρια) ή με πυρηνική μεμβράνη (ζύμες-μύκητες)
- περιέχει δίκλωνο DNA
- Εκεί γίνεται η μεταγραφή του DNA σε RNA



ΛΟΙΠΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ

6. Έλυτρο-κάψα

- Περίβλημα του κυτταρικού τοιχώματος σε κάποια Gram⁺ και Gram⁻ βακτήρια
- Από πολυσακχαρίτες που παράγονται στην κυτταρική μεμβράνη
- **Ρόλος:**
- Προφύλαξη από αφυδάτωση, φαγοκύτταρα, αντιβιοτικά
- Σύνδεση σε επιφάνειες
- Ρόλος στην παθογόνο δράση (πρόσδεση σε επιφάνειες άλλων κυττάρων)
- Χρήσιμα στην παραγωγή εμβολίων (*Pneumococcus*, *Neisseria meningitidis*)
- Χρωματισμός ελύτρου με σινική μελάνη



Γ.ΛΟΙΠΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ

Βλεφαρίδες-μαστίγια

- Νηματοιδή εξαρτήματα κίνησης των βακτηρίων από φλαζελίνη (Gram⁺, Gram⁻)
- Μονότριχα βακτήρια (σχήμα), λοφιοτριχα(σχήμα), αμφίτριχα(σχήμα), περίτριχα(σχημα)
- Ρόλος:
- Κίνηση(περιστροφική)με ταχύτητα 2-200μ/sec
- Χημειοταξία-μετακίνηση προς το ιδανικό υπόστρωμα
- Υποδοχέας φάγων
- Συγκολλητικές-αντιγονικές ιδιότητες
- Μήκος 6-30μ

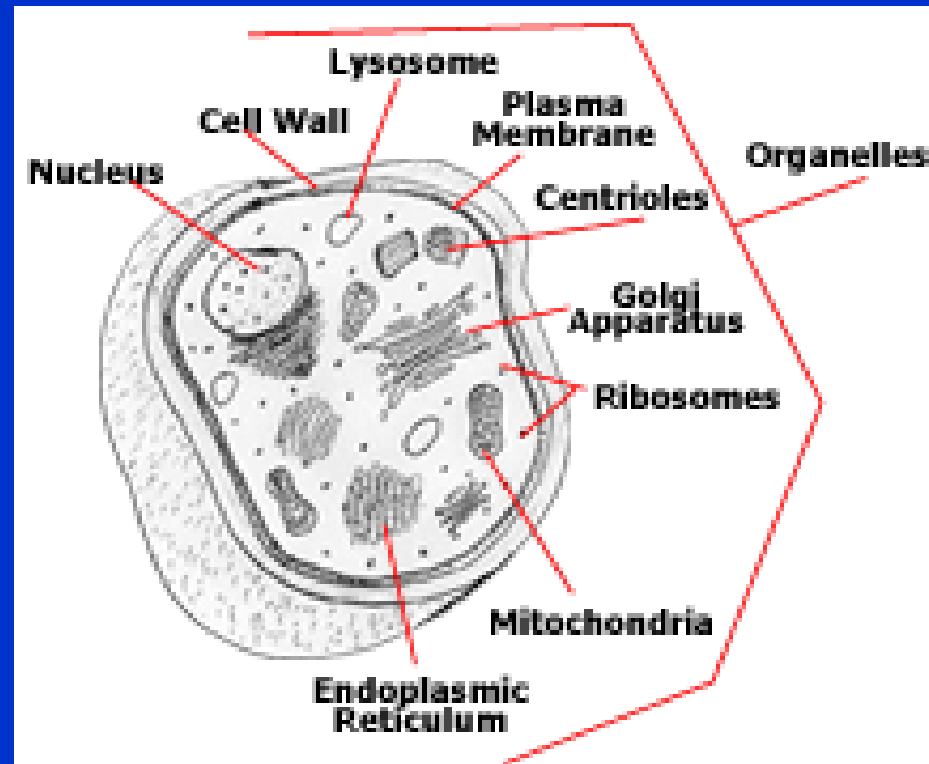
Φίμπριες-Ινίδια (σχήμα)

- Λεπτά,βραχέα εξαρτήματα κίνησης,κυρίως των Gram⁻
- Ορατά μόνο με μικροσκόπιο(όπως και οι βλεφαρίδες)
- Πρωτεϊνικής φύσης(φωσφο-γλυκο-πρωτείνες):(πιλίνη)
- Ρόλος:
- Ικανότητα προσκόλλησης σε άλλα κύτταρα→πιθανή παθογένεια
- Υποδοχείς φάγων
- Μεταφορά DNA σε συγγενικά είδη

Λοιπά κυτταρικά οργανίδια ευκαρυωτικών κυττάρων

Δομές-οργανίδια που δεν υπάρχουν στα προκαρυωτικά:

- Πυρηνική μεμβράνη με πόρους για επικοινωνία πυρήνα-κυτοπλάσματος
- Ενδοπλασματικό δίκτυο μεμβρανών (τραχύ→ ριβοσώματα, μεταφορά RNA) (λείο→ βιοσύνθεση)
- Σύστημα/συσσκευή Golgi (δίκτυο μεμβρανών/κυστιδίων για αποθήκευση/έκκριση ουσιών)
- Εκκριτικά κυστίδια
- Λυσοσώματα (ενδοκυττάρια πέψη-υδρολυτικά ένζυμα)
- Υπεροξυσώματα (καταλάση)



Λοιπά κυτταρικά οργανίδια ευκαρυωτικών κυττάρων

Δομές-οργανίδια που δεν υπάρχουν στα προκαρυωτικά:

- Γλυκοξυσώματα (ένζυμα γλυκοξυλικού κύκλο αποικοδόμηση οξικού
- Μιτοχόνδρια(αυτόνομα οργανίδια για σύνθεση ATP οξειδωτικά ή χλωροπλάστες με τα ίδια χαρ/κα.
- Μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες διαθέτουν λιπιδική μεμβράνη, DNA, ριβοσώματα και αυτόνομη ικανότητα αναπαραγωγής
- Κυτταροσκελετός από μικροσωληνίσκους-μικρονήματα (διατήρηση του σχήματος, κίνηση

Σπόρια βακτηρίων

- Δομή και γενετικό υλικό όμοιο με βλαστικά κύτταρα
- Ενδοκυτταρικός σχηματισμός με περίβλημα, τοίχωμα, φλοιό
- Σε βάκιλλους (Bacillus, Clostridium, Sporolactobacillus)
- Υπό συνθήκες έλλειψης (γλυκόζης) ή αντίξοες συνθήκες $\theta^{\circ}\text{C}$, pH, aw, κλπ.

ΣΕ ΦΑΣΗ ΣΤΑΣΙΜΟΤΗΤΑΣ → ΣΠΟΡΟΓΟΝΙΑ → ΕΚΒΛΑΣΤΗΣΗ

- Διπικολινικό οξύ → DPA -Ca (10-15% ξηρού βάρους σπορίου) → μεγάλη ανθεκτικότητα
- Περιεκτικότητα H_2O 15-20% (αφυδατωμένα) → μεγάλη ανθεκτικότητα

Ιδιότητες σπορίων:

- μεγάλη αντοχή σε
- αλκοόλες, οξέα,
- ακτίνες,
- αντιβιοτικά, απολυμαντικά (εκτός χλωρίνης)
- υπερπιέσεις,
- θέρμανση (μέχρι 80°C λόγω DPA-Ca)
- Καταστροφή μόνο με αποστείρωση ($121^{\circ}\text{C} \times 15 \text{ min}$)

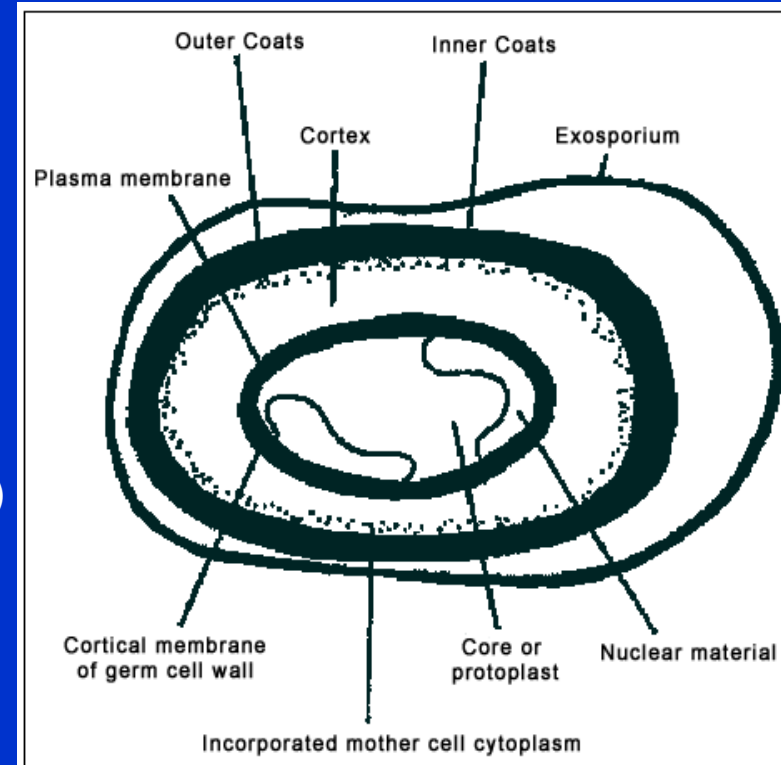


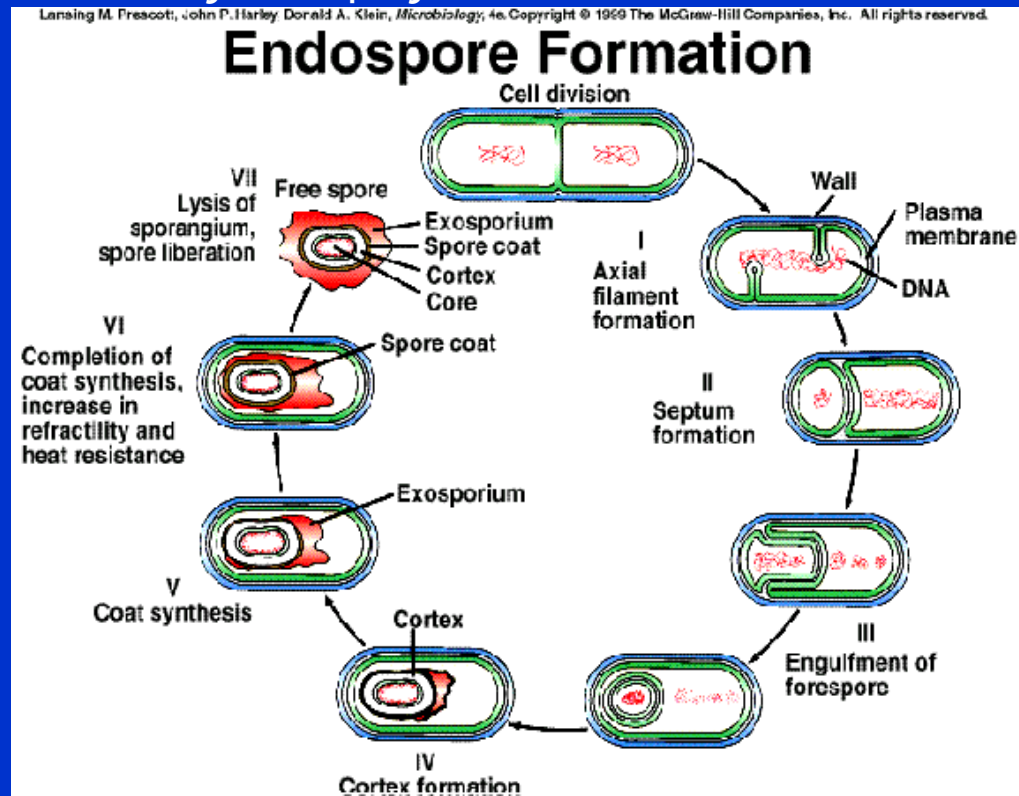
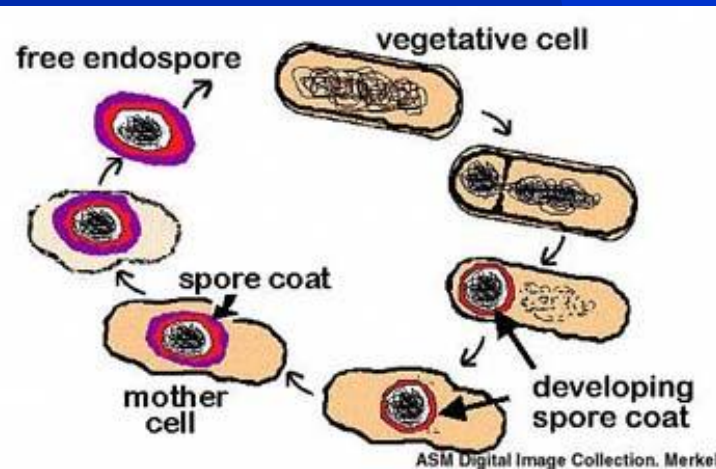
Figure 2.5 : Schematic representation of the bacterial spore

Σπόρια βακτηρίων

Στάδια σπορογονίας:

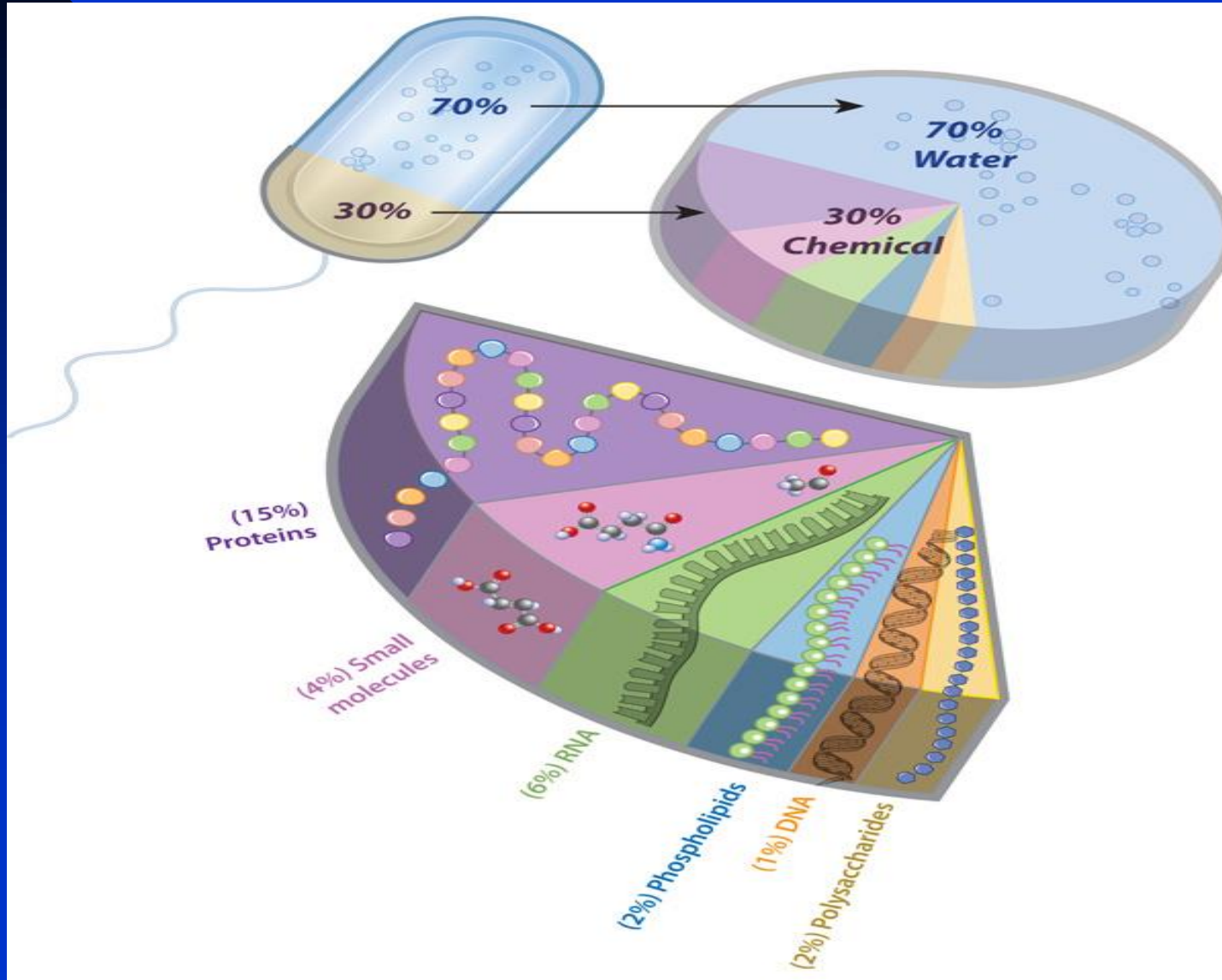
- Φάση στασιμότητας, έλειψη N,C → πιθανή παραγωγή αντιβιοτικών (π.χ B. polymyxa) → δημιουργία νήματος χρωματίνης από υλικό του πυρήνα. (σχήμα)
- Σχηματισμός εγκάρσιου διαφράγματος (σχήμα)
- Σχηματισμός μεμβράνων στον “πρόσπορο”
- Σχηματισμός φλοιού και εξωτερικού περιβλήματος
- Λύση του βλαστικού κυττάρου → Απελευθέρωση σπόρου
- Σχηματισμός νέου βλαστικού κυττάρου (σε ευνοϊκές συνθήκες θ°C, υγρασίας, θρεπτικών ουσιών, κ.λ.π)

Προσοχή: θέρμανση σπόρων στους 70°C επιταχύνει την σπορογονία !



ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ

- Η μέση ποσοστιαία συμμετοχή των χημικών στοιχείων στη σύσταση του μικροβιακού κυττάρου
- (διαφέρει η σύσταση λιπιδίων και πολυσακχαριτών ανάμεσα σε Gram+ και Gram- βακτήρια)



ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- Η θρέψη των μικροοργανισμών έχει 2 στόχους: (α) την παραγωγή ενέργειας για την επιβίωση και την φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου, (β) την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων
- Χαρακτηριστικό των κυττάρων είναι η ικανότητά τους να κατευθύνουν μέσω των ενζύμων τους βιοχημικές αντιδράσεις και να αποικοδομούν, ή να συνθέτουν μόρια, με σκοπό (α) την παραγωγή ενέργειας που είναι απαραίτητη για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου, και (β) τη βιοσύνθεση νέων ουσιών εντός του κυττάρου (αναβολισμός) με την κατανάλωση ενέργειας.
- Τελικός σκοπός της διαδικασίας αυτής είναι η αύξηση.
- Το σύνολο των αντιδράσεων καταβολισμού και αναβολισμού αναφέρονται ως **μεταβολισμός**.
- Οι καταβολικές αντιδράσεις κυρίως παράγουν ενέργεια, και οι αναβολικές αντιδράσεις καταναλώνουν ενέργεια και οδηγούν στη βιοσύνθεση βιολογικών μορίων
- Οι ανάγκες θρέψης των μικροοργανισμών καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τη χημική σύσταση του κυττάρου

ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- **Μακροτροφικές ουσίες (macronutrients):** απαιτούνται σε υψηλές συγκεντρώσεις
- Απαραίτητες για την παραγωγή ενέργειας [C,H,O], τη βιοσύνθεση [C,N,P,S,H,O], την ομοίωση (διατήρηση σταθερής ενδοκυτταρικής θερμοκρασίας, ωσμωτικής πίεσης, απομάκρυνση τοξικών ουσιών) και την ενεργοποίηση ενζύμων [διάφορα μέταλλα]

Στοιχείο	Συνήθης μορφή της θρεπτικής ουσίας στο περιβάλλον	Χημική μορφή στα θρεπτικά μέσα καλλιέργειας
Ανθρακας (C)	CO ₂ , οργανικές ενώσεις	Γλυκόζη, μηλικό οξύ, οξικό οξύ, πυροσταφυλικό οξύ, αμινοξέα, εκατοντάδες άλλες ενώσεις ή σύνθετα μείγματα (εκχύλισμα ζύμης, πεπτόνη, κ.λπ.)
Υδρογόνο (H)	H ₂ O, οργανικές ενώσεις	H ₂ O, οργανικές ενώσεις
Οξυγόνο (O)	H ₂ O, O ₂ , οργανικές ενώσεις	H ₂ O, O ₂ , οργανικές ενώσεις
Αζώτο (N)	NH ₃ , NO ₃ ⁻ , N ₂ , οργανικές ενώσεις του αζώτου	Ανόργανα: NH ₄ Cl, (NH ₄)SO ₄ , KNO ₃ , N ₂ Οργανικά: Αμινοξέα, αζωτούχες βάσεις νουκλεοτιδίων, πολλές άλλες αζωτούχες οργανικές ενώσεις
Φωσφόρος (P)	PO ₄ ³⁻	KH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄
Θείο (S)	H ₂ S, SO ₄ ²⁻ , οργανικές ενώσεις του θείου, σουλφίδια μετάλλων (FeS, CuS, ZnS, NiS, κ.λπ.)	Na ₂ SO ₄ , Na ₂ SO ₃ , Na ₂ S, κυστεΐνη ή άλλες θειούχες οργανικές ενώσεις
Κάλιο (K)	K ⁺ σε διάλυμα ή διάφορα άλατα K	KCl, KH ₂ PO ₄
Μαγνήσιο (Mg)	Mg ²⁺ σε διάλυμα ή διάφορα άλατα Mg	MgCl ₂ , MgSO ₄
Νάτριο (Na)	Na ⁺ σε διάλυμα ή NaCl και άλλα άλατα Na	NaCl
Ασβέστιο (Ca)	Ca ²⁺ σε διάλυμα ή CaSO ₄ και άλλα άλατα Ca	CaCl ₂
Σίδηρος (Fe)	Fe ²⁺ ή Fe ³⁺ σε διάλυμα ή FeS, Fe(OH) ₃ , και πολλά άλλα άλατα Fe	FeCl ₃ , FeSO ₄ , ποικίλα χημικά διαλύματα σιδήρου (Fe ³⁺ EDTA, κητρικός Fe ³⁺ , κ.λπ.)

ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- **Μικροτροφικές ουσίες (micronutrients):** απαιτούνται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, αλλά εξίσου σημαντικές με τις μακροτροφικές ουσίες
- Κυρίως μέταλλα που συμμετέχουν στη λειτουργία βασικών ενζύμων (ενεργοποιητές ενζύμων, βιταμινών, κλπ)

Στοιχείο	Κυτταρική λειτουργία
Χρώμιο (Cr)	Απαραίτητο στα θηλαστικά για τον μεταβολισμό της γλυκόζης· δεν γνωρίζουμε συγκεκριμένη μικροβιακή απαίτηση
Κοβάλτιο (Co)	Βιταμίνη B ₁₂ · τρανσκαρβοξυλάση (βακτήρια προπιονικού οξέος)
Χαλκός (Cu)	Αναπνοή, κυτοχρωματική οξειδάση c· φωτοσύνθεση, πλαστοκυανίνη, μερικά υπεροξειδία δισμουτασών
Μαγγάνιο (Mn)	Ενεργοποιητής πολλών ενζύμων· υπάρχει σε συγκεκριμένα υπεροξειδία δισμουτασών και στο υδατοδιαλυμένο ένζυμο των οξυγονοπαραγωγικών φωτοτρόφων (Φωτοσύνστημα II)
Μολυβδαίνιο (Mo)	Ορισμένα ένζυμα που περιέχουν φλαβίνη· αζωτάση, αναγωγή νιτρικού άλατος, θειοξειδάση, αναγωγάσες DMSO-TMAO, μερικές αφυδρογονάσες μυρμηκικού οξέος
Νικέλιο (Ni)	Οι περισσότερες υδρογονάσες· συνένζυμο F ₄₃₀ των μεθανιογόνων οργανισμών· αφυδρογονάση του μονοξειδίου του ανθρακα· ουρεάση
Σελήνιο (Se)	Αφυδρογονάση του μυρμηκικού οξέος· μερικές υδρογονάσες· το αμινοξύ σεληνοκυστεΐνη
Βολφράμιο (W)	Μερικές αφυδρογονάσες του μυρμηκικού οξέος· μεταφορείς οξυγόνου των υπερθερμόφιλων
Βανάδιο (V)	Αζωτάση βαναδίου· υπεροξειδάση βρωμίου
Ψευδάργυρος (Zn)	Ανθρακική ανυδράση· αλκοολική αφυδρογονάση· πολυμεράσες του RNA και του DNA· και πολλές πρωτεΐνες με ικανότητα πρόσδεσης στο DNA
Σίδηρος (Fe) ^δ	Κυτοχρώματα· καταλάσες· υπεροξειδάσες· σιδηροθειούχες πρωτεΐνες· οξυγονάσες· όλες οι αζωτάσες

^α Δεν απαιτούν όλα τα κύτταρα το σύνολο των παρακάτω ουσιών· ορισμένα μέταλλα, μάλιστα, απαντούν σε ένζυμα συγκεκριμένων μόνο μικροοργανισμών.

^β Απαραίτητο σε μεγαλύτερες ποσότητες απ' ό,τι άλλα ιχνοστοιχεία.

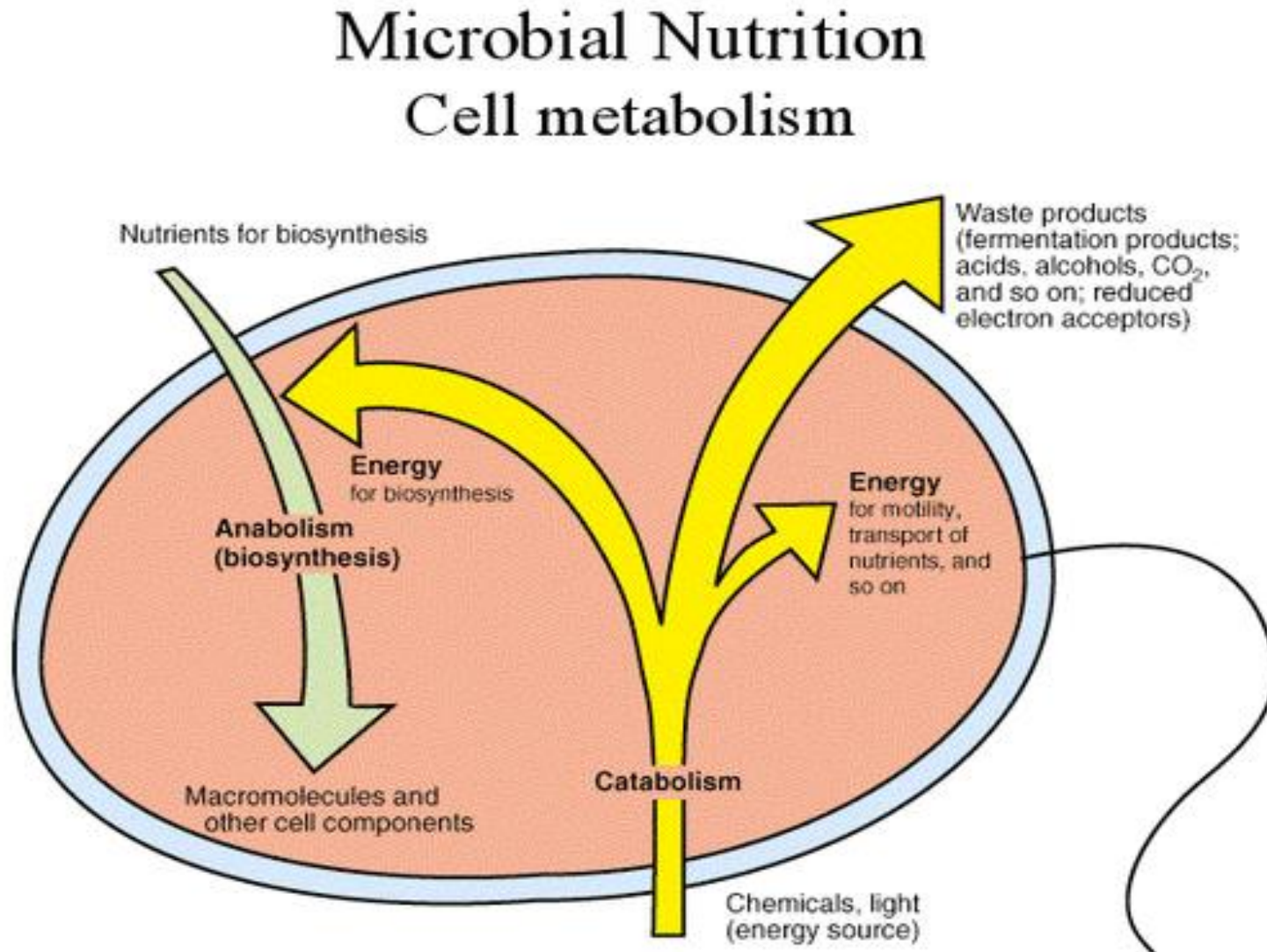
ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- **Αυξητικοί παράγοντες:** βιταμίνες, αμινοξέα πουρίνες, πυριμιδίνες
- Συνήθως λειτουργούν ως τμήματα συνενζύμων
- Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί μπορούν να τις συνθέσουν, κάποιοι πρέπει να τις προσλάβουν από το περιβάλλον
- Οι βιταμίνες που χρειάζονται συνήθως στους μικροοργανισμούς είναι η **θειαμίνη, η βιοτίνη, η πυριδοξίνη, και η κοβαλαμίνη.**

Βιταμίνες	Λειτουργία
p-Αμινοβενζοϊκό οξύ	Πρόδρομος του φολικού οξέος
Φολικό οξύ	Μεταβολισμός μονοάνθρακα· μεταφορά μεθυλομάδας
Βιοτίνη	Βιοσύνθεση λιπαρών οξέων· β-αποκαρβοξυλιώσεις· ορισμένες αντιδράσεις δέσμευσης CO ₂
Κοβαλαμίνη (B ₁₂)	Αναγωγή και μεταφορά τμημάτων άνθρακα· σύνθεση δεοξυριβόζης
Λιποϊκό οξύ	Μεταφορά ακυλομάδων κατά την αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού και του α-κετογλουταρικού
Νικοτινικό οξύ (νιασίνη)	Πρόδρομος του NAD ⁺ (βλ. Εικόνα 5.10)· μεταφορά ηλεκτρονίων στις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής
Παντοθενικό οξύ	Πρόδρομος του συνενζύμου A· ενεργοποίηση του ακετυλίου και άλλων ακυλοπαραγώγων
Ριβοφλαβίνη	Πρόδρομος του FMN (βλ. Εικόνα 5.15), το FAD σε φλαβοπρωτεΐνες συμμετέχει στη μεταφορά ηλεκτρονίων
Θειαμίνη (B ₁)	α-Αποκαρβοξυλιώσεις· τρανσκετολάση
Βιταμίνες B ₆ (ομάδες πυριδοξάλης-πυριδοξαμίνης)	Μετασχηματισμοί αμινοξέων και κετοξέων
Ομάδα βιταμίνης K· κινόνες	Μεταφορά ηλεκτρονίων· σύνθεση σφιγγολιπιδίων
Υδροξαιμικές ομάδες	Συστατικά που δεσμεύουν σίδηρο· διαλυτοποίηση σιδήρου και μεταφορά του στο κύτταρο

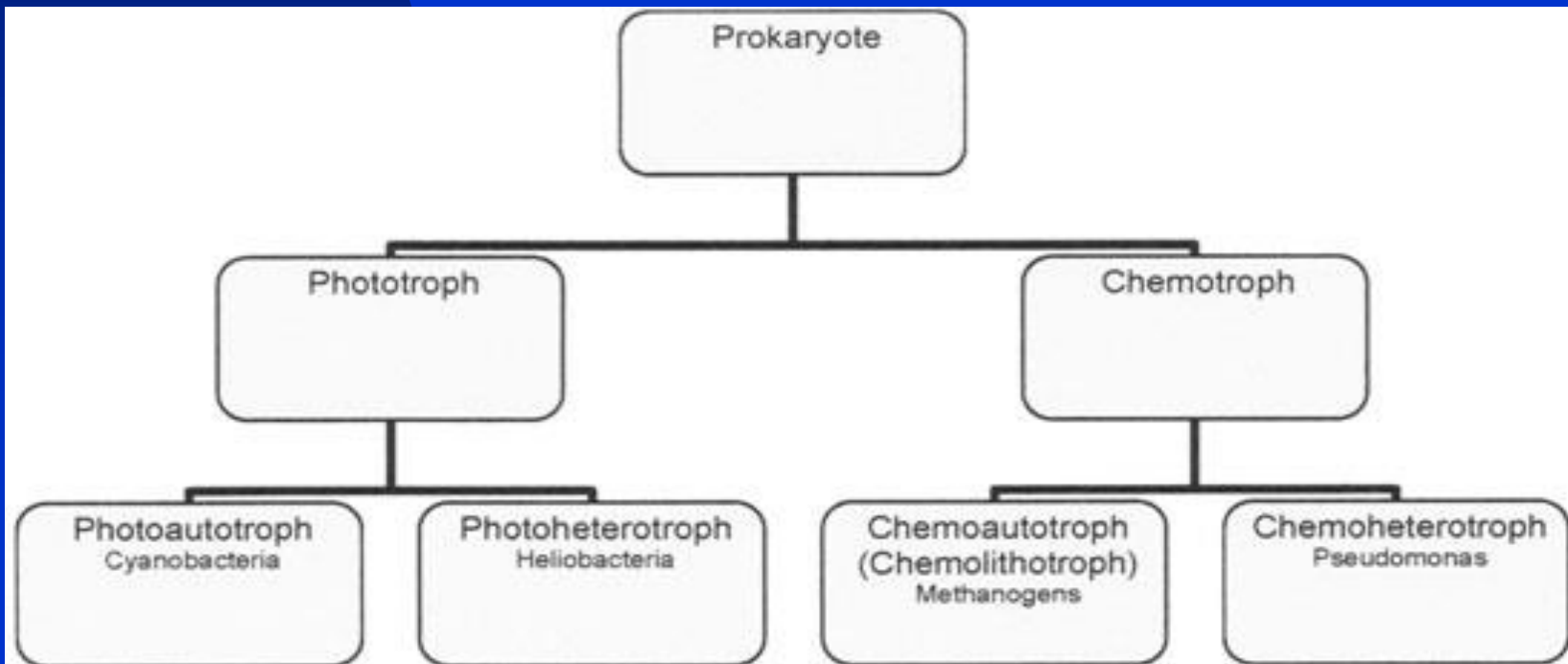
ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- Απλοποιημένη σύνοψη του μικροβιακού μεταβολισμού



ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- Διάκριση μ/ων ως προς τον τρόπο διατροφής :
- Φωτότροφοι: χρησιμοποιούν ηλιακή ενέργεια κατά το μεταβολισμό τους
- Χημειότροφοι: τρέφονται με οργανικές (οργανότροφοι) ή ανόργανες (λιθότροφοι) ουσίες προκειμένου να παράγουν ενέργεια
- Αυτότροφοι: δεσμεύουν CO₂ από την ατμόσφαιρα
- Ετερότροφοι: λαμβάνουν άνθρακα από άλλα μόρια, κυρίως οργανικά μόρια (κυρίως σάκχαρα και λιπίδια) ή και ανόργανα (π.χ. CaCO₃)
- Οι ετερότροφοι μικροοργανισμοί όπως και τα ζώα και ο άνθρωπος πεθαίνουν από έλλειψη τροφής, σε αντίθεση με τους αυτότροφους μικροοργανισμούς



ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

- Διάκριση μ/ων ως προς τον τρόπο διατροφής :

Nutritional Type	Energy Source	Carbon Source	Example
Photoautotroph	Light	CO ₂	Oxygenic: Cyanobacteria, plants Anoxygenic: Green bacteria, purple bacteria
Photoheterotroph	Light	Organic compounds	Green bacteria, purple nonsulfur bacteria
Chemoautotroph	Chemical	CO ₂	Iron-oxidizing bacteria
Chemoheterotroph	Chemical	Organic compounds	Fermentative bacteria Animals, protozoa, fungi, bacteria

ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

Οι (ετερότροφοι) μικροοργανισμοί απαιτούν διάφορα θρεπτικά συστατικά

- Πηγές C (σάκχαρα/ολιγοσακχαρίτες/πολυσακχαρίτες, λίπη, πρωτεΐνες)
- Πηγές N (πρωτεΐνες, αμινοξέα, NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- άλατα)
- Πηγές P (πρωτεΐνες, αμινοξέα, PO_4^{3-} άλατα)
- Πηγές S (πρωτεΐνες, αμινοξέα, SO_4^{2-} άλατα)
- Μέταλλα και ιχνοστοιχεία (K, Na, Mg, Fe, Mn, Ca, Cu, κλπ)
- Βιταμίνες
- Και βέβαια πάνω από όλα Νερό!

Οι αυτότροφοι χρειάζονται μόνο νερό, CO_2 κάποια άλατα-ιχνοστοιχεία

Με τα παραπάνω υλικά γίνεται η Βιοσύνθεση δομικών μορίων του κυττάρου:

- Αμινοξέων, ενζύμων, πρωτεϊνών, σακχάρων-πολυσακχαριτών, λιπιδίων
- Νουκλεοτιδίων (DNA, RNA, ATP)
- Βιταμινών

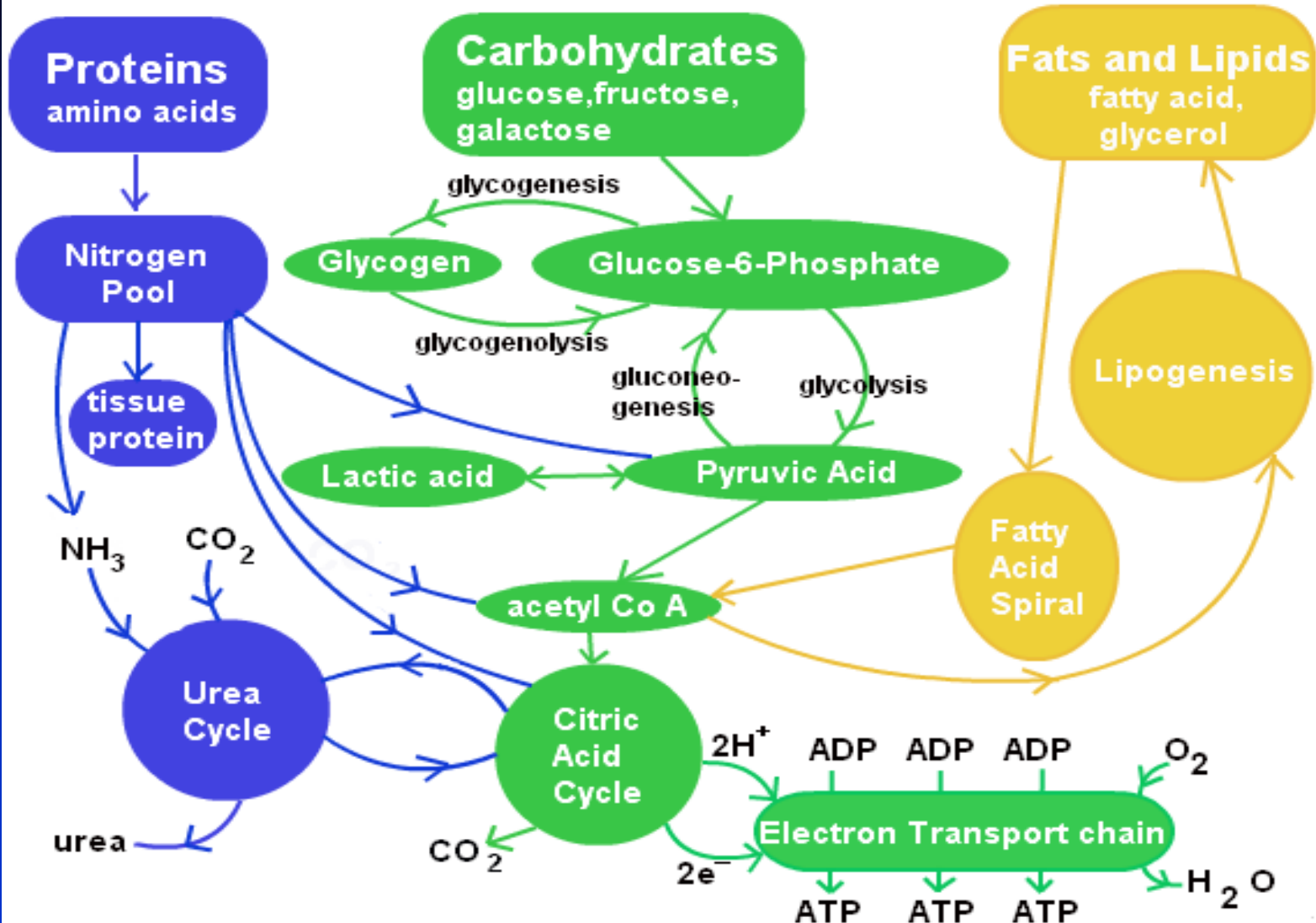
Κατά τον καταβολισμό (εκτός από ενέργεια) παράγονται και διάφορα παράπλευρα προϊόντα που εκκρίνει το κύτταρο, όπως:

- Οργανικά οξέα, αλκοόλες, κετόνες, CO_2 , H_2S , NH_3 , H_2O_2 , διακετύλιο, κλπ.⁸⁸

ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

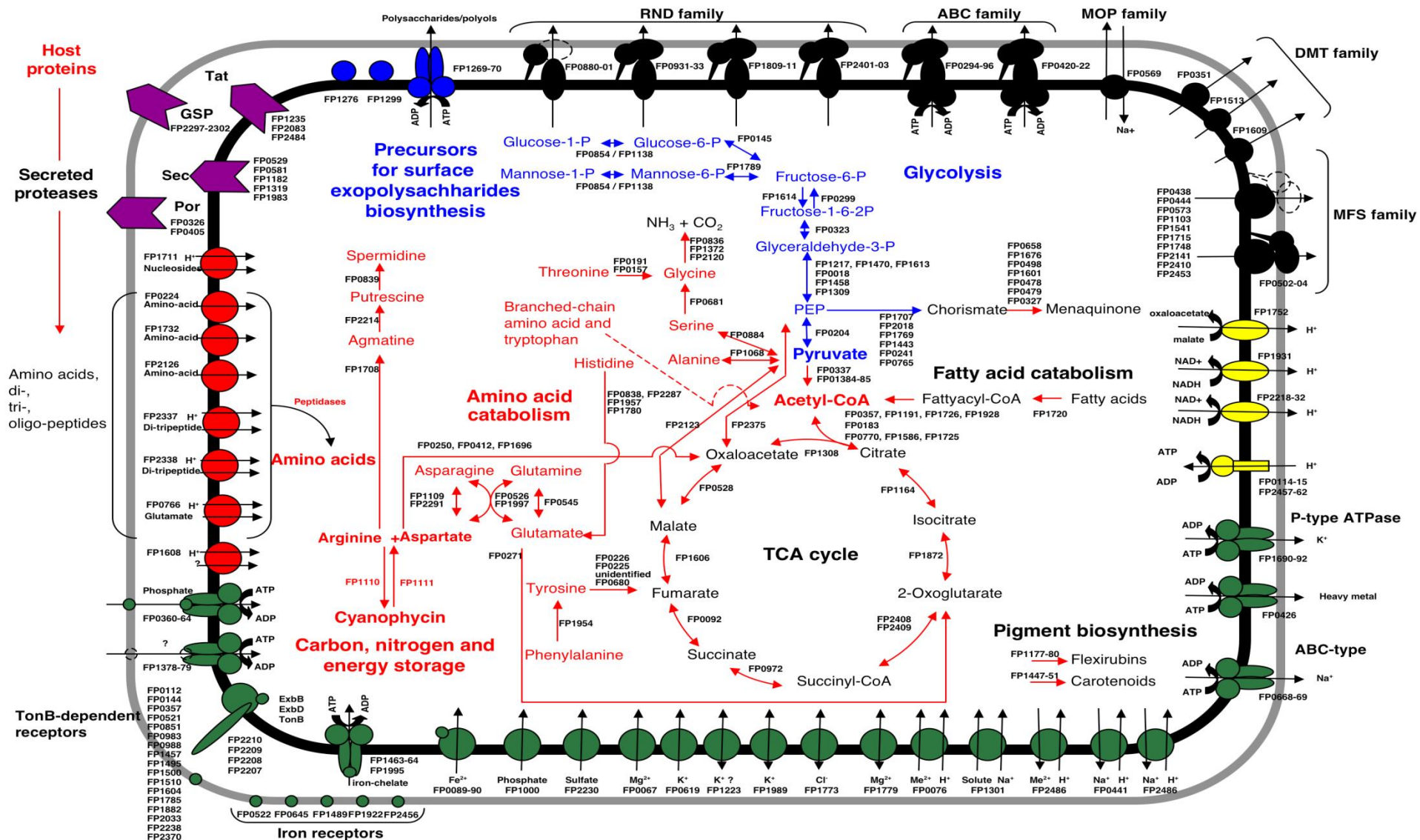
Σύνοψη του μικροβιακού μεταβολισμού

Metabolism Summary



ΘΡΕΨΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ Μ/ΩΝ

Λεπτομερής περιγραφή του μεταβολισμού στο βακτήριο *Flavobacterium*



ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ C

- Υδατάνθρακες(γλυκόζη,φρουκτόζη,λακτόζη,σακχαρόζη,άμυλο,γλυκογόνο ή και CO_2)διάσπαση:
- Οξειδωτικά (αερόβια)→το O_2 σαν δέκτης H^+ , e^- πχ γλυκόζη → γλυκονικό e^-
- Ζυμωτικά (αναερόβια)→άλλος δέκτης e^- και H^+ π.χ S ,διάσπαση αλυσίδας C π.χ γλυκόζη→2x γαλακτικό,2x πυρουβικό
- Κατά τον ζυμωτικό μεταβολισμό σακχάρων διασπάζεται η ανθρακική αλυσίδα των σακχάρων, σε αντίθεση με τον οξειδωτικό μεταβολισμού που δεν μειώνει τον αριθμό ατόμων άνθρακα των σακχάρων.
- Διαχωρισμός οξειδωτικών/ζυμωτικών μ/ων με τη δοκιμή Hugh & Leifson (αναερόβια ανάπτυξη σε παραφίνη)
- Δοκιμή Vogues-proskauer→παραγωγή ακετοΐνης από γλυκόζη
- Δοκιμή σωλήνων Durham→παραγωγή αερίου(CO_2 , H_2)από γλυκόζη

Μεταβολισμός N

- Αζωτούχα άλατα (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) ή και αμινοξέα, πρωτεΐνες, ολιγοπεπτίδια, εκχύλισμα ζύμης \rightarrow σύνθεση νέων αμινοξέων, πρωτεϊνών, βιταμινών
- Πρωτεόλυση (πρωτεάσες) (πρωτεϊνών γάλακτος, κρέατος, αίματος \rightarrow αμινοξέα, λιπαρά οξέα, ολιγοπεπτίδια, NH_3 , H_2S , μερκαπτάνες \rightarrow δυσοσμία)
- Διαχωρισμός μ/ων ανάλογα με την ικανότητα πρωτεόλυσης ή παραγωγής H_2S ή όχι (π.χ θειοαναγωγικά *Clostridium* που παράγουν H_2S vs σακαρολυτικά *Clostridium* που παράγουν CO_2)
- Παραγωγή ινδόλης από τρυπτοφάνη στην *E. coli*
- Μεταβολισμός S: ανόργανο S [H_2S , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] ή και οργανικό S \rightarrow χρήσιμο στην βιοσύνθεση αμινοξέων και σαν δέκτης H^+ , e^-

Μεταβολισμός P και λοιπών μακροστοιχείων-ιχνοστοιχείων:

- ανόργανα άλατα πχ (K_3PO_4) ή πρωτεΐνες → σύνθεση ATP , NAD , FAD , RNA , DNA
- K^+ , Na^+ : συμμετοχή στη μεταφορά ουσιών εντός/εκτός κυττάρου, και διατήρησης της οσμωτικής πίεσης στο κυτταρόπλασμα.
- Ιχνοστοιχεία: μέταλλα πχ Fe , Mn , , κλπ δρουν σαν ενεργοποιητές ενζύμων , K , Ca
- Αυξητικοί παράγοντες (πρόδρομες ουσίες)
- Αμινοξέα → πρωτεΐνες
- Πουρίνες , πυριμιδίνες → νουκλεϊκά οξέα
- Βιταμίνες → συνένζυμα π.χ *Enterococcus faecalis* απαιτεί και βιταμίνες
-

Σύνοψη των διατροφικών αναγκών ενός μικροβιακού κυττάρου

Microbial Nutrition and Environmental Factors Essential for Microbial Growth (Rev 10-10)

Factor	Source	Need	Comments
Carbon	Heterotrophs require organic carbon for growth Autotrophs use Carbon Dioxide as carbon source	In all organic molecules – carbohydrates, lipids, proteins and nucleic acids	
Nitrogen	Nitrate (NO_3^-), nitrite (NO_2^-), NO_4^{+} and even N_2 . Convert all to ammonia (NH_3)	Component of proteins and nucleic acids	
Oxygen	O_2 in atmospheric air	Component of all organic molecules and important in structural and enzymatic functions and salts	Oxygen is reduced to water in cellular respiration
Hydrogen		Component of organic molecules, water and salts	Helps maintain pH, formation of hydrogen bonds
Phosphorus	Comes from free inorganic phosphate (PO_4^{3-}),	Component of ATP, nucleic acids and enzymes.	Component of lipids, cell walls (teichoic acid), some capsular polysaccharides and some proteins
Sulfur	Organisms must reduce sulfate to hydrogen sulfide. Some organisms can use hydrogen sulfide directly	Component of some enzymes and proteins (give stability and shape to proteins)	
Potassium		Protein synthesis and membrane function and ribosomes	
Sodium		Cell transport (osmosis and diffusion)	
Calcium		Part of endospores and cell walls of gram+	

Βιοενέργεια-Βιοκατάλυση

- Οι μικροοργανισμοί για να τραφούν ή να αναπαραχθούν χρειάζεται να πραγματοποιήσουν ποικίλες βιοχημικές αντιδράσεις, κάποιες από τις οποίες είναι ενδόθερμες (απαιτούν κατανάλωση ενέργειας) και κάποιες είναι εξώθερμες (παράγουν ενέργεια)

- Ελεύθερη ενέργεια (η ενέργεια σχηματισμού) είναι η ποσότητα (KJ) που καταναλώνεται ή εκλύεται

- $\Delta G = (\text{ενέργεια προϊόντων}) - (\text{ενέργεια αντιδρώντων})$

- ΔG θετικό : απαιτείται κατανάλωση ενέργειας

- ΔG αρνητικό: παράγεται ελεύθερη ενέργεια

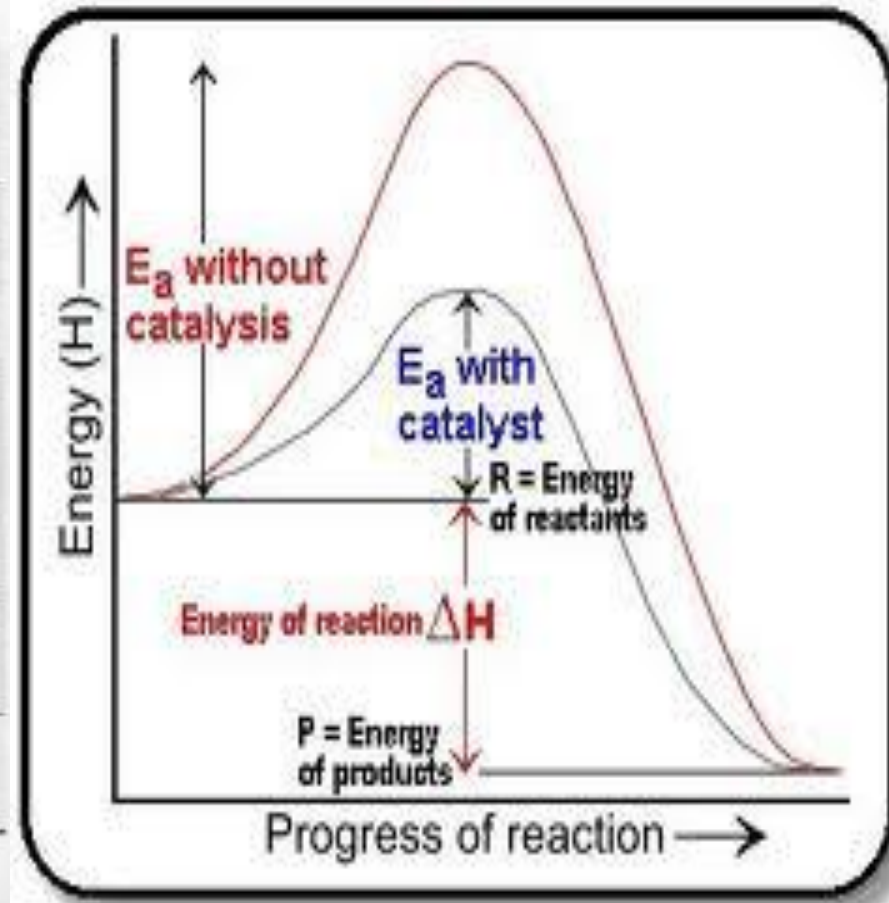
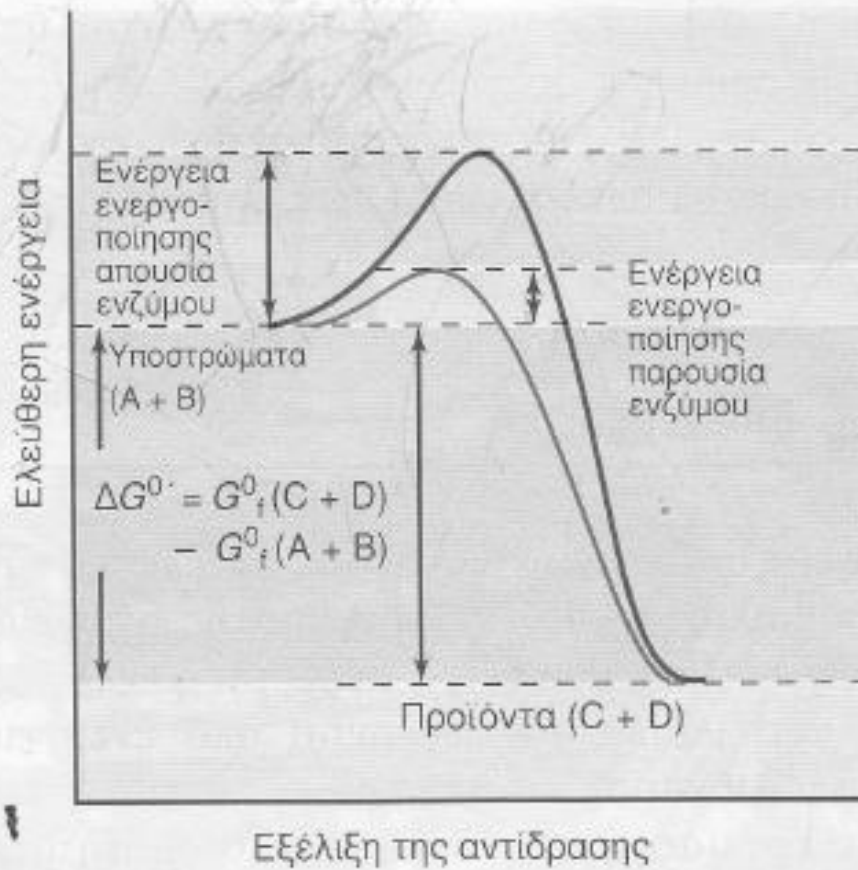
ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5 Ελεύθερη ενέργεια σχηματισμού για ορισμένες χημικές ενώσεις βιολογικού ενδιαφέροντος

Χημική ένωση	Ελεύθερη ενέργεια σχηματισμού ^ο
Νερό (H ₂ O)	-237,2
Διοξείδιο του άνθρακα (CO ₂)	-394,4
Αέριο υδρογόνο (H ₂)	0
Αέριο οξυγόνο (O ₂)	0
Αμμώνιο (NH ₄ ⁺)	-79,4
Υποξείδιο του αζώτου (N ₂ O)	+104,2
Οξική ρίζα (C ₂ H ₃ O ₂ ⁻)	-369,4
Γλυκόζη (C ₆ H ₁₂ O ₆)	-917,3
Μεθάνιο (CH ₄)	-50,8
Μεθανόλη (CH ₃ OH)	-175,4

^ο Οι τιμές της ελεύθερης ενέργειας σχηματισμού (G_f^ο) είναι σε kJ/mol.

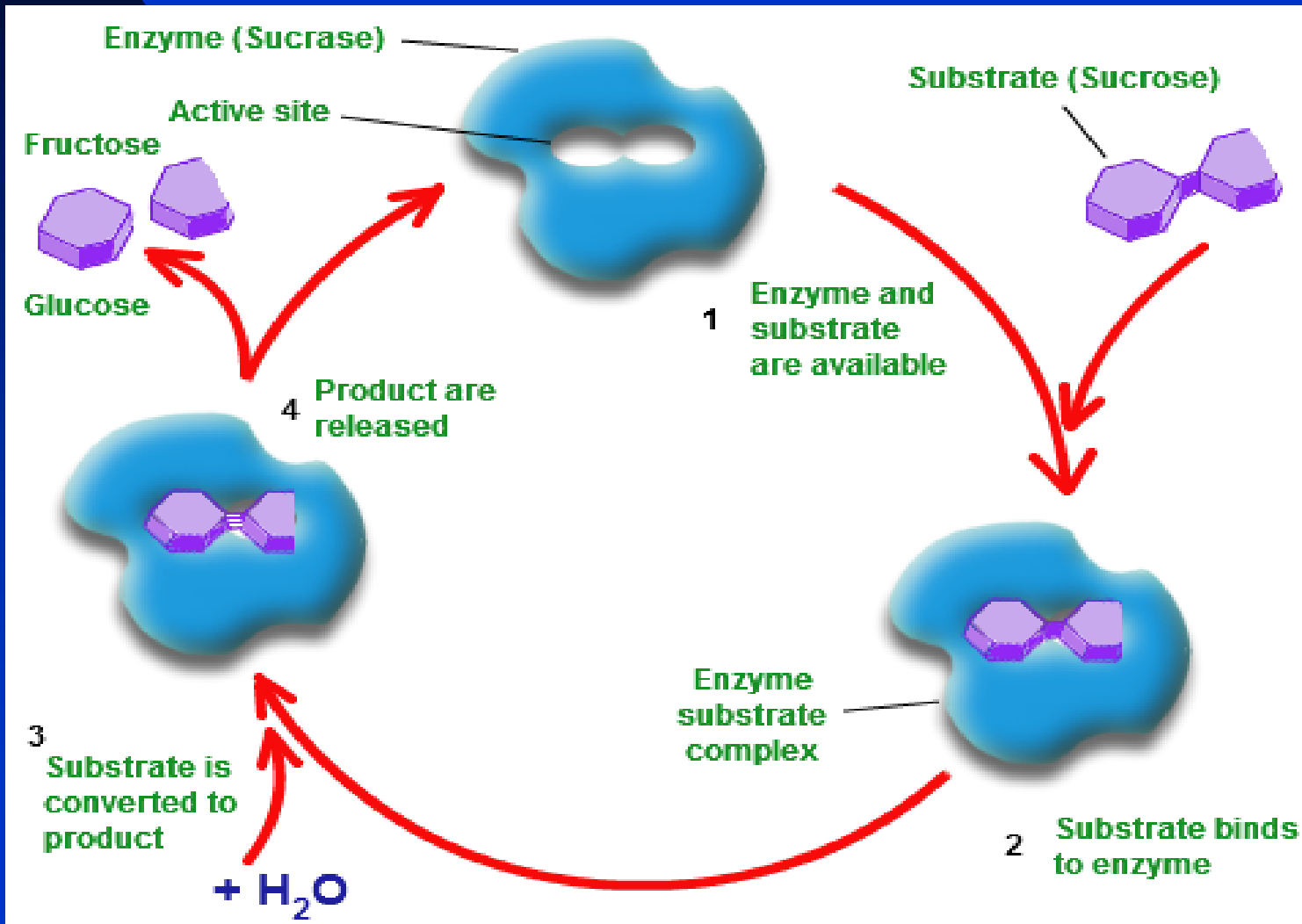
Βιοενέργεια-Βιοκατάλυση-Ρόλος των ενζύμων

■ **Βιοκαταλύτης** είναι μια ουσία (συνήθως ένζυμο) που μειώνει την ενέργεια ενεργοποίησης κάποιας αντίδρασης και κατά συνέπεια αυξάνει την ταχύτητά της.



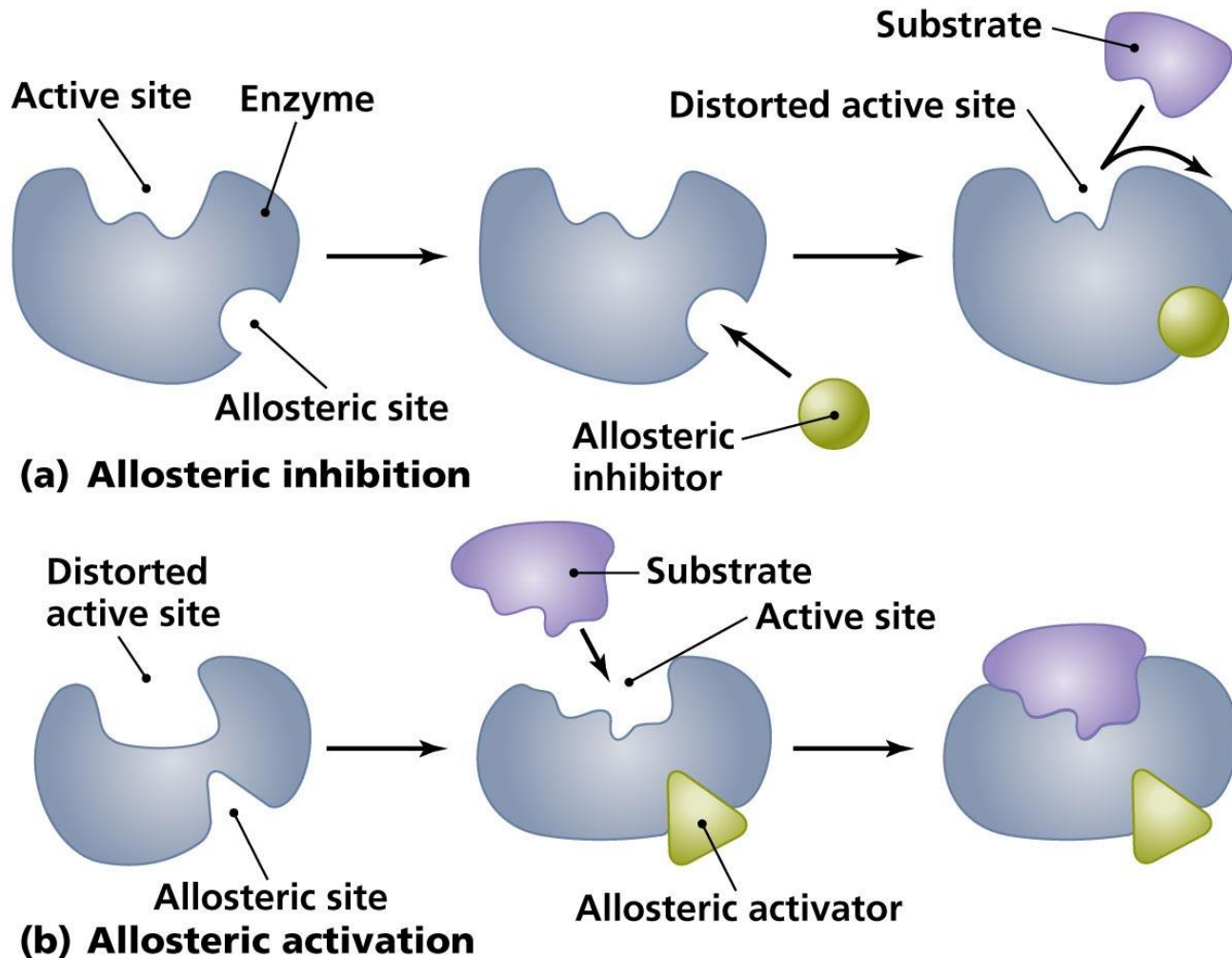
Παραδείγματα ενζυμικών αντιδράσεων

■ Σε μια ενζυμικά καταλυόμενη αντίδραση το ένζυμο συνδέεται με την αντιδρώσα ουσία (υπόστρωμα) προσωρινά, σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα και καθώς εξελίσσεται η αντίδραση το προϊόν απελευθερώνεται και το ένζυμο επιστρέφει στην αρχική κατάσταση



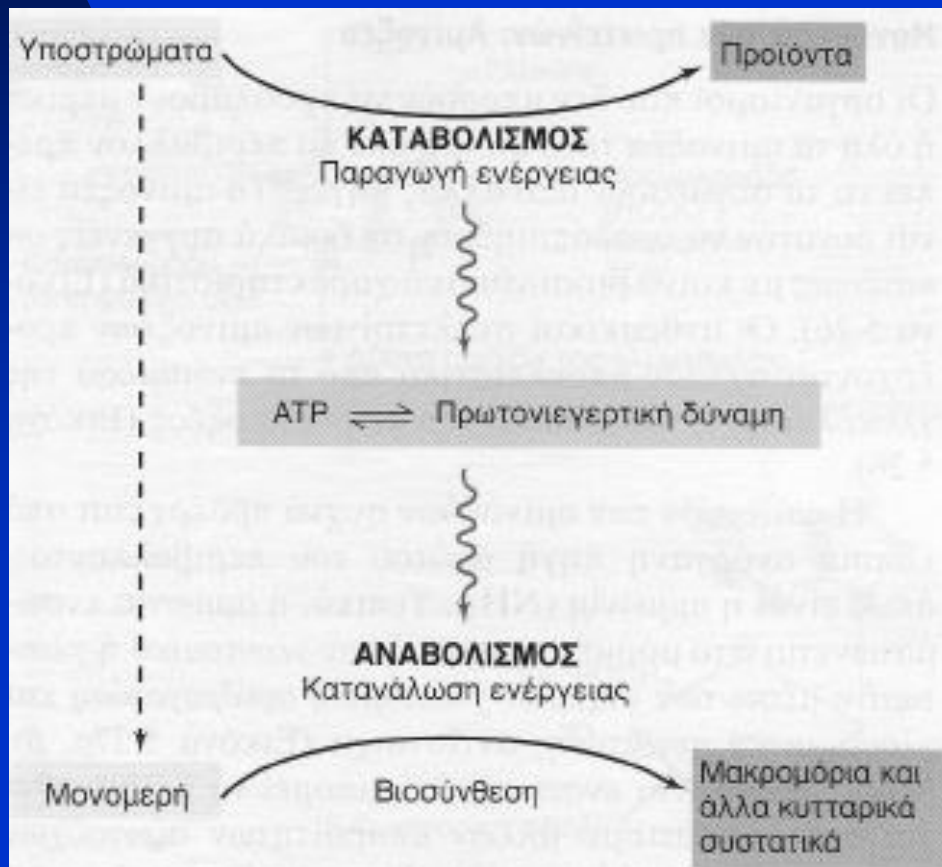
Παραδείγματα ενζυμικών αντιδράσεων

Τα **αλλοστερικά ένζυμα** εκτός από το ενεργό κέντρο έχουν και ένα αλλοστερικό κέντρο που μπορεί να λειτουργεί ως σημείο ενεργοποίησης ή απενεργοποίησης του ενζύμου



Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

- Κατά τον **καταβολισμό** οι μικροοργανισμοί παράγουν ενέργεια (ATP) από οργανικές ενώσεις
- Κατά τον **αναβολισμό**, οι μικροοργανισμοί συνθέτουν τα βιομόρια από τα οποία απαρτίζονται, χρησιμοποιώντας την ενέργεια από τα **μόρια ATP** ή από την **πρωτονιεγερτική δύναμη**, που είναι δύο διαφορετικές μορφές χημικής ενέργειας



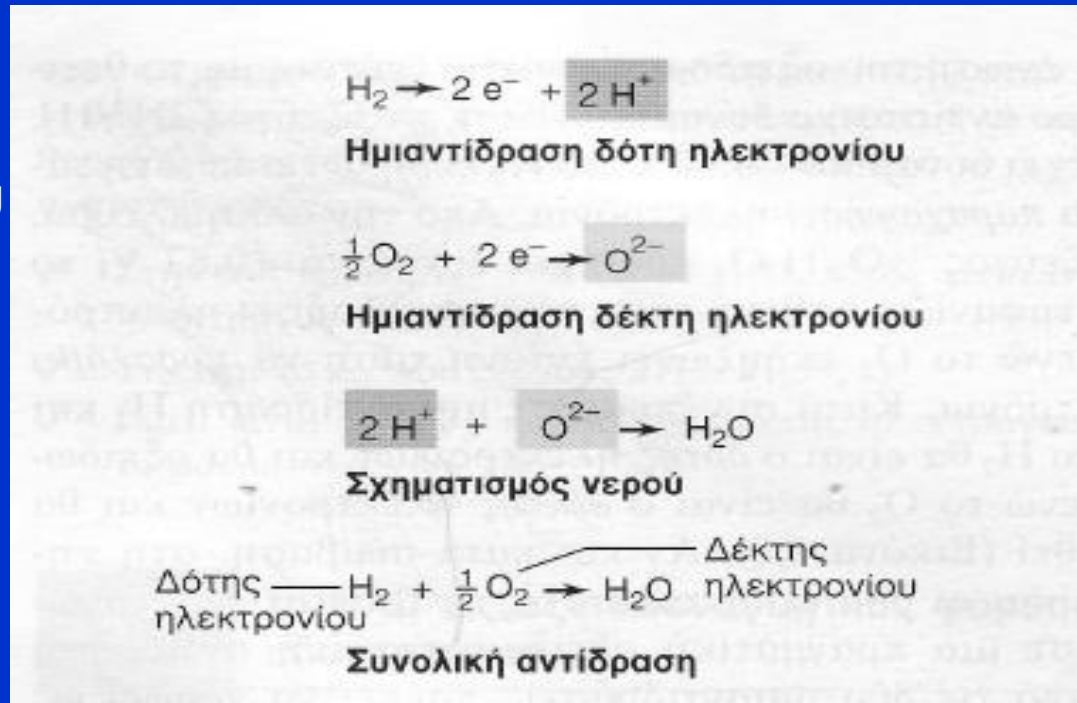
Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

Αντιδράσεις οξειδωαναγωγής

- Η διατήρηση της ενέργειας στους μ/ους συμπεριλαμβάνει οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.
- Οι αντιδράσεις οξειδοαναγωγής αφορούν ηλεκτρόνια που παραχωρούνται από έναν δότη ηλεκτρονίων και γίνονται αποδεκτά από έναν δέκτη ηλεκτρονίων.
- Οι χημικές ουσίες διαφέρουν μεταξύ τους όσον αφορά την τάση τους για οξείδωση ή αναγωγή. Αυτή η τάση εκφράζεται ως **δυναμικό οξειδωαναγωγής (redox potential)**.
- Το δυναμικό αυτό μετριέται σε volt (V) ως προς μια χημική ουσία αναφοράς, το H₂
- Όσο μεγαλύτερη είναι η διαφορά δυναμικού δύο ενώσεων που αντιδρούν τόσο μεγαλύτερη είναι η ενέργεια που απελευθερώνεται

■ **ΔG σχηματισμού νερού = -237 KJ**

■ **ΔG αναγωγής NO⁻³ σε NO⁻² = -163 KJ**



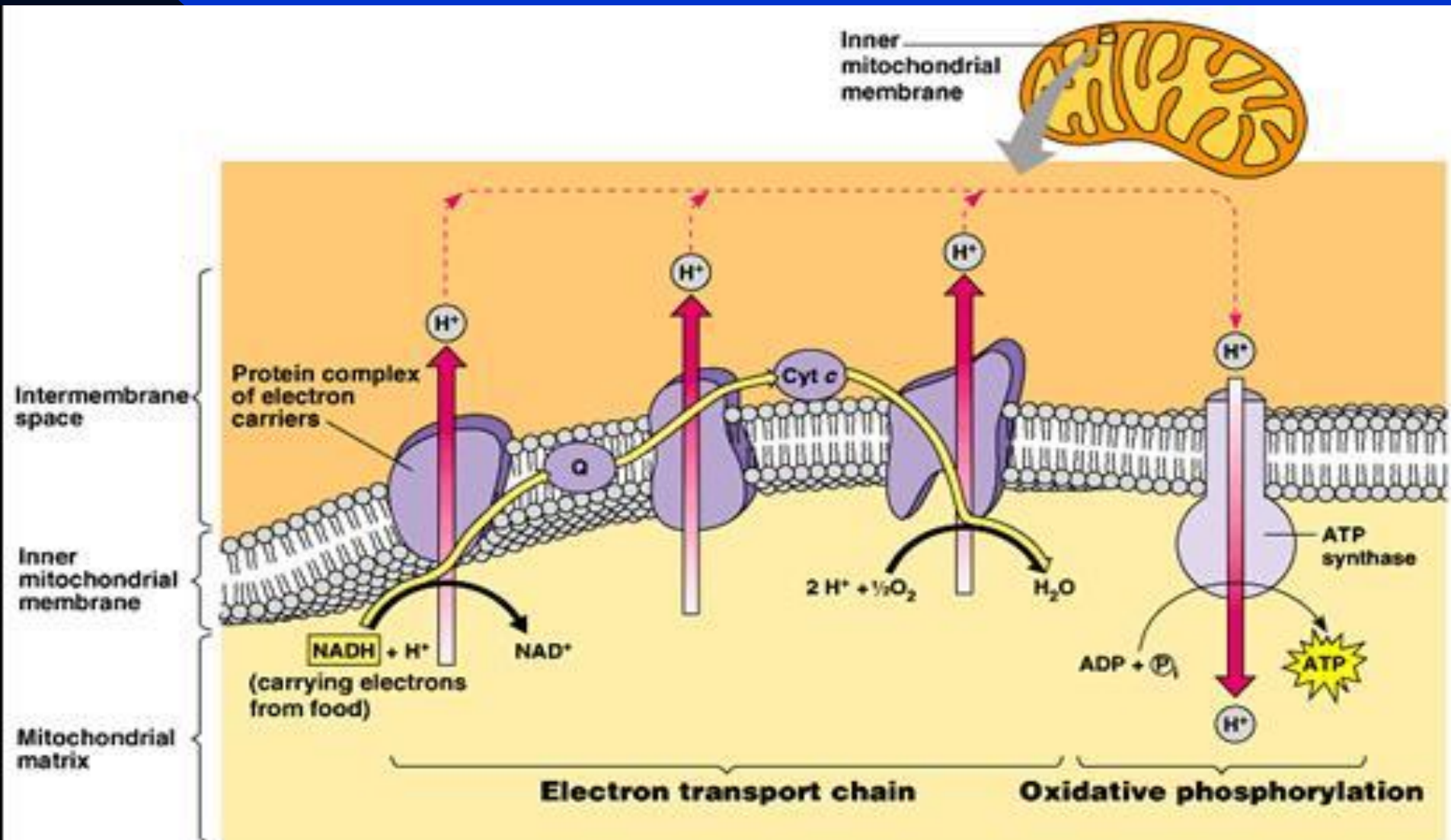
Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

Τα συνένζυμα NAD^+ και NADP^+ ως φορείς ηλεκτρονίων

- Οι φορείς ηλεκτρονίων υποδιαιρούνται σε εκείνους που διαχέονται ελεύθερα και εκείνους που προσδένονται ισχυρά σε ένζυμα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.
- Στους ελεύθερα διαχεόμενους φορείς ανήκουν τα συνένζυμα νικοτιναμιδο-αδενινωδινουκλεοτίδιο (NAD^+) και φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινωδινουκλεοτίδιο (NADP^+)
- Το δυναμικό αναγωγής του ζεύγους NAD^+/NADH (ή του $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$) είναι -32 V (καλός δότης ηλεκτρονίων).
- Το NAD^+/NADH συμμετέχει άμεσα σε αντιδράσεις παραγωγής ενέργειας (καταβολικές) ενώ το $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ σε βιοσυνθετικές αντιδράσεις (αναβολικές)

Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

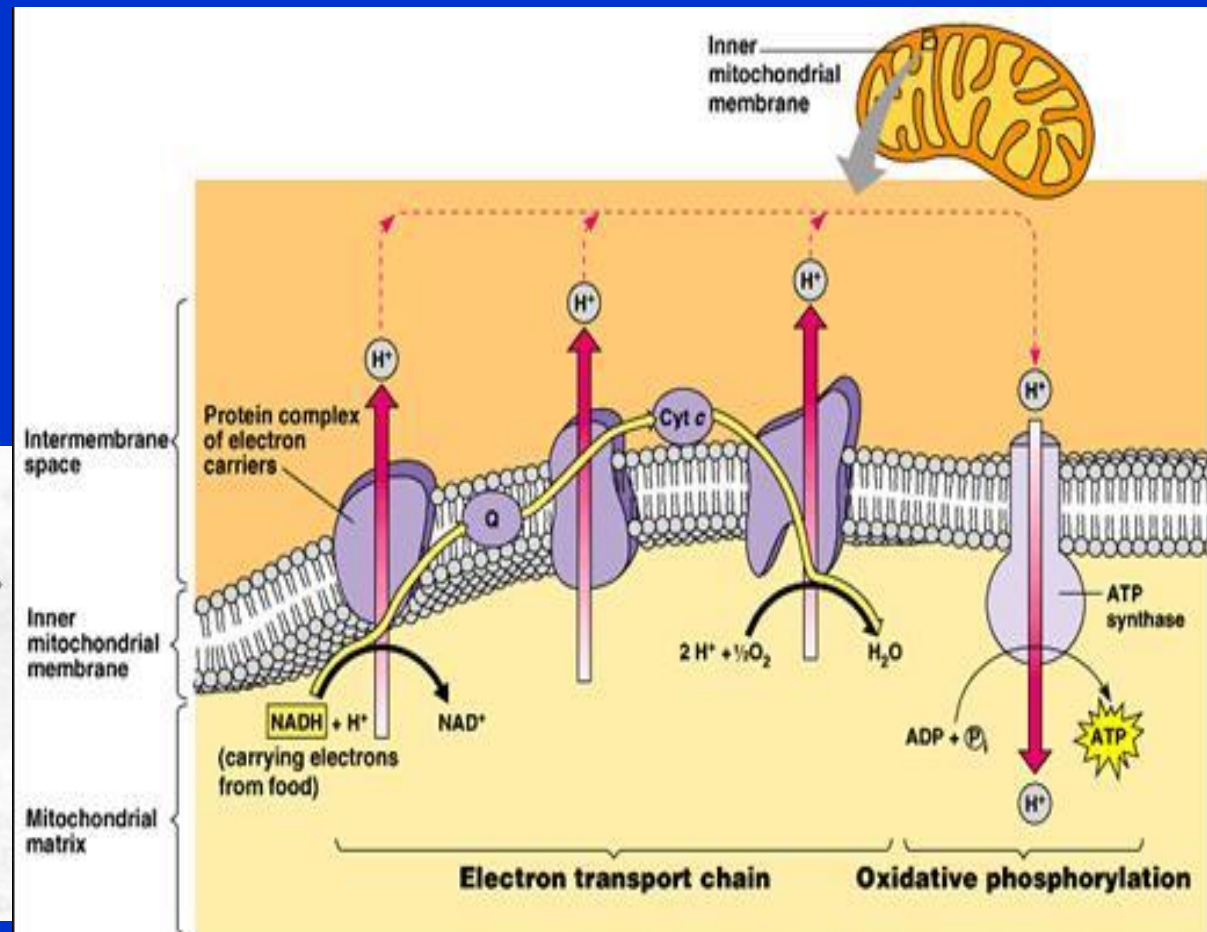
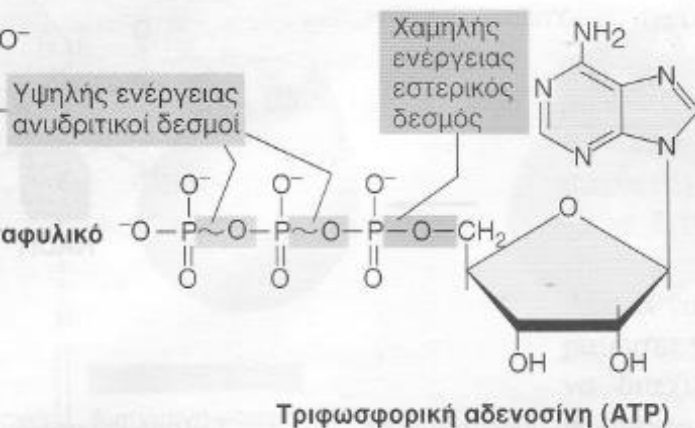
Τα συνένζυμα NAD^+ και NADP^+ ως φορείς ηλεκτρονίων



Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

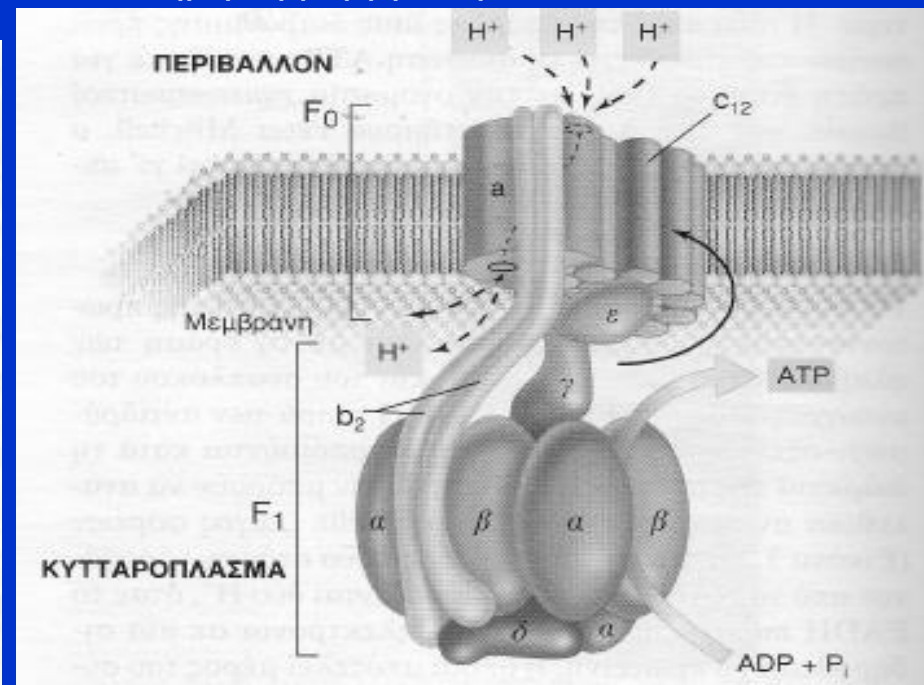
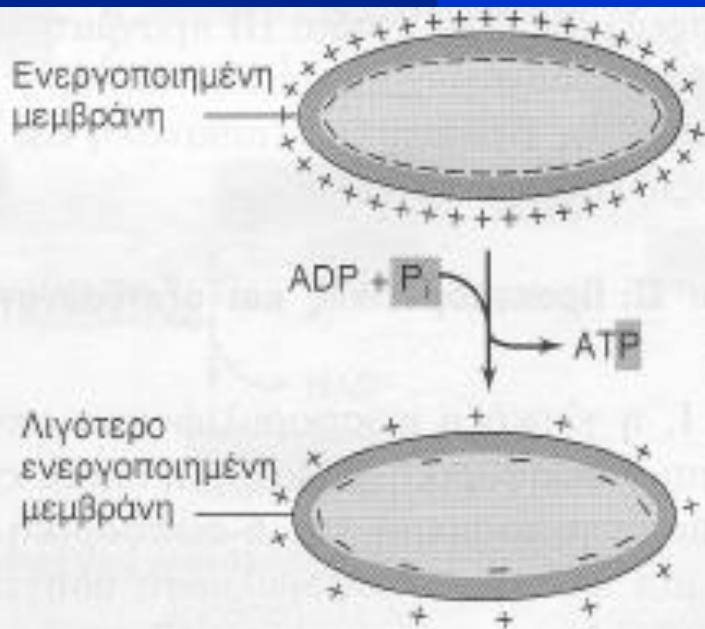
Τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP)

- Η πιο σημαντική ένωση υψηλής ενέργειας σε όλους τους οργανισμούς.
- Αποτελείται από τον ριβονουκλεοζίτη αδενοσίνη και 3 προσδεμένα μόρια φωσφόρου.
- Δημιουργείται στις εξώεργες αντιδράσεις και χρησιμοποιείται για να τροφοδοτεί ενεργειακά τις ενδόεργες.



Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

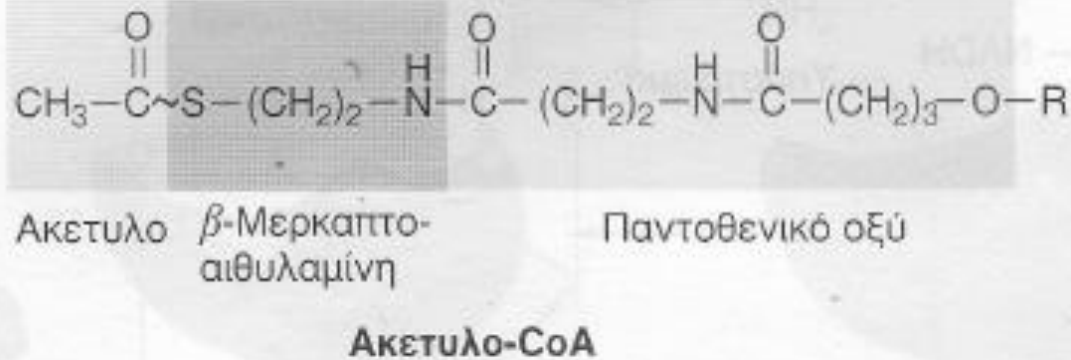
- Η **πρωτονιεγερτική δύναμη**, είναι η ενέργεια που προκύπτει από τη διαφορά δυναμικού εντός και εκτός της κυτταρικής μεμβράνης
- Η κυτταρική/μιτοχονδριακή μεμβράνη είναι θετικά φορτισμένη εξωτερικά (πλεόνασμα πρωτονίων) και αρνητικά φορτισμένη εσωτερικά (πλεόνασμα ηλεκτρονίων, αλκαλικό περιβάλλον) και λειτουργεί σαν μπαταρία με θετικά και αρνητικά φορτισμένους πόλους
- Μέρος αυτής της ηλεκτροχημικής ενέργειας χρησιμοποιείται για τη σύνθεση ATP, μετά από την φωσφορυλίωση του ADP, που είναι αντιστρεπτή αντίδραση.
- Η **μετατροπή της πρωτονιεγερτικής δύναμης σε ATP** καταλύεται από τη συνθάση του ATP, ή ATPάση, ένα μεμβρανικό ένζυμο που αποτελείται από δύο κύρια τμήματα, μια μεγάλη «κεφαλή» (F1) που βρίσκεται στην κυτταροπλασματική πλευρά της μεμβράνης, και έναν πρωτονιοαγωγό δίαυλο (F0), ο οποίος διαπερνά ολόκληρη τη μεμβράνη



Η παραγωγή και χρήση ενέργειας κατά τον μεταβολισμό

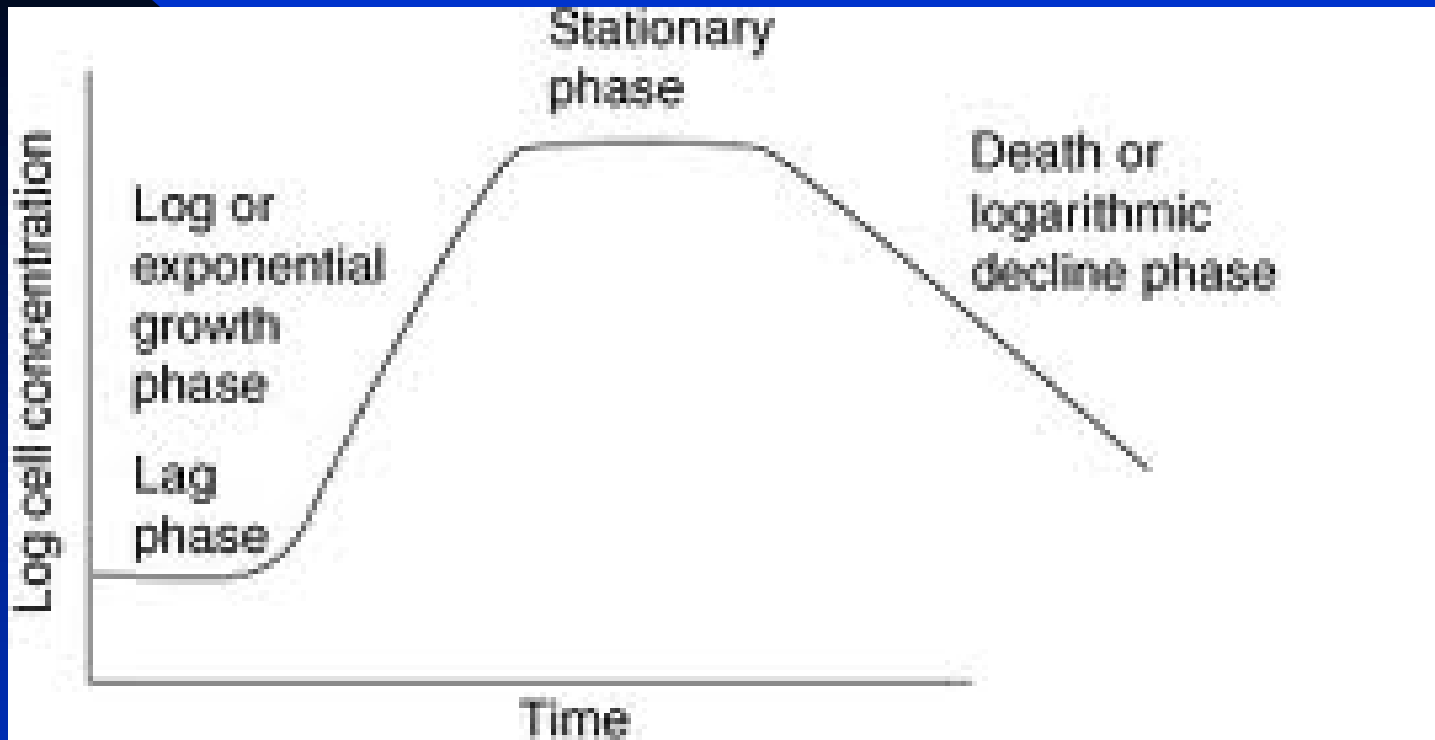
Άλλες μορφές αποθήκευσης ενέργειας

- **Συνένζυμο A** : παράγωγα του συνενζύμου A (π.χ. ακετυλο-CoA).
- Περιέχουν σουλφοανυδρίτες (θειεστέρες) αντί για φωσφοανυδρίτες και προσφέρουν ελεύθερη ενέργεια υδρόλυσης ικανή να τροφοδοτήσει τη σύνθεση ενός φωσφορικού δεσμού υψηλής ενέργειας



Αναπαραγωγή βακτηρίων

Φάσεις ανάπτυξης των μικροβίων



Source: Brooks GF, Butel JS, Morse SA: *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 24th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Καμπύλη ανάπτυξης μικροβίων

■ Για να απεικονισθεί μια καμπύλη ανάπτυξης βακτηρίων γίνεται μέτρηση σε στερεό υπόστρωμα των κυττάρων που αναπτύσσονται με βάση το χρόνο

■ Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε \log_{10} cfu/g ή cfu/ml [δεκαδικός λογάριθμος των κυττάρων ανά g ή ml]

■ **cfu=colony forming units**

■ Ρυθμός ανάπτυξης είναι η μεταβολή του πληθυσμού των κυττάρων ανά μονάδα χρόνου

■ **χρόνος διχοτόμησης ή γενεάς** είναι ο χρόνος που απαιτείται για να διπλασιαστεί ο μικροβιακός πληθυσμός

■ Ο χρόνος γενεάς εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού, και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (pH, θερμοκρασία, υγρασία, οξυγόνο, θρεπτικά συστατικά, τοξίνες άλλων μικροβίων, συντηρητικά-απολυμαντικά, κλπ)

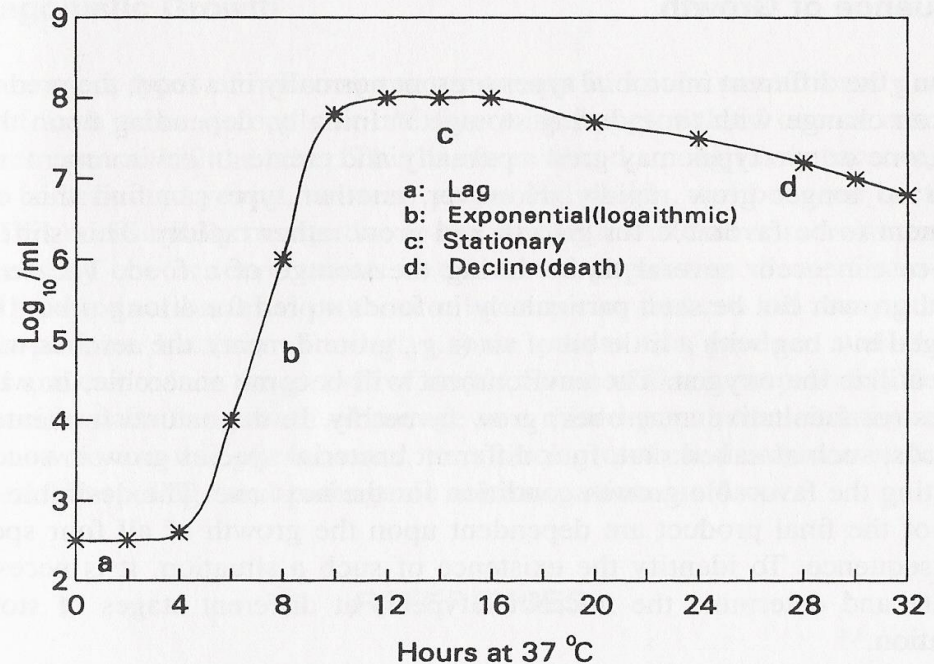


Figure 5.2 Bacterial growth curve showing changes in cell numbers of *Pediococcus acidilactici* H during 32 h incubation at 37°C in a broth. After a 4-h lag, the cells grew exponentially up to about 10 h, then remained in stationary phase up to about 16 h before entering the death phase.

Χρόνος (h)	Συνολικός αριθμός κυττάρων	Χρόνος (h)	Συνολικός αριθμός κυττάρων
0	1	4	256
0,5	2	4,5	512
1	4	5	1.024
1,5	8	5,5	2.048
2	16	6	4.096
2,5	32	.	.
3	64	.	.
3,5	128	10	1.048.576

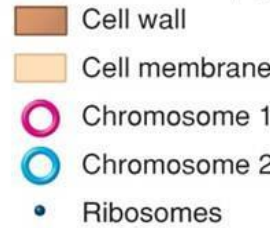
Φάσεις της Καμπύλη ανάπτυξης

- **Φάση προσαρμογής (Lag phase):** περίοδος προσαρμογής σε ένα νέο υπόστρωμα, σε νέες περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα κύτταρα αφομοιώνουν θρεπτικά συστατικά και παράγουν τα κατάλληλα ένζυμα, πρωτεΐνες, κλπ που θα τους βοηθήσουν να επιβιώσουν στις συγκεκριμένες συνθήκες. Δεν παρατηρείται αύξηση των κυττάρων.
- **Λογαριθμική ή εκθετική φάση ανάπτυξης (log or exponential phase):** τα κύτταρα πλέον αναπτύσσονται και αυξάνονται εκθετικά (κυτταρική διαίρεση)
- **Φάση στασιμότητας (Stationary phase):** η μικροβιακή ανάπτυξη επιβραδύνεται και τελικά σταματάει, λόγω έλλειψης θρεπτικών ουσιών, ή λόγω αντίξωων περιβαλλοντικών συνθηκών (pH, οξυγόνο, θερμοκρασία, μικροβιακός ανταγωνισμός, κλπ)
- **Φάση θανάτου (Death phase):** πλέον τα κύτταρα θανατώνονται με αυτόλυση (μη αντιστρεπτός προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος)
- **Σημείωση:** μερικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να επιβιώσουν για μήνες ή χρόνια (σε φάση στασιμότητας), ενώ τα σπόρια βακτηρίων επιβιώνουν για αιώνες!
- Η **συντήρηση τροφίμων** αποσκοπεί σε :
 - ✓ Επιμήκυνση της φάσης προσαρμογής (π.χ. με ψύξη), ή
 - ✓ Ελάττωση ή αναστολή της φάσης ανάπτυξης και επίσπευση της φάσης στασιμότητας (π.χ. με υψηλή συγκέντρωση αλάτων) ή
 - ✓ Επίσπευση της φάσης θανάτου (π.χ. με θέρμανση)

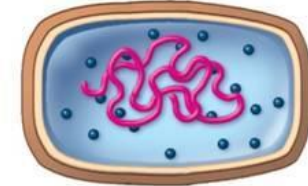
Αναπαραγωγή βακτηρίων

Διχοτόμηση βακτηριακού κυττάρου

- Ξεκινάει με το διπλασιασμό του χρωμοσώματος στο κυτταρόπλασμα
- Συνεχίζεται με το σχηματισμό εγκάρσιου ενδοπλασματικού διαφράγματος
- Όταν το διάφραγμα ολοκληρωθεί και σχηματιστούν δύο διαφορετικά κυτταρικά τοιχώματα τα κύτταρα διαχωρίζονται
- Σε άριστες συνθήκες οι μικ/οί αναπτύσσονται ταχύτατα
- Τα περισσότερα βακτήρια ως πιο απλά και μικρά κύτταρα αναπτύσσονται σε άριστες συνθήκες πολύ ταχύτερα από τους μύκητες (ορισμένα έχουν χρόνο γενεάς ή χρόνο διπλασιασμού $\leq 15-20$ min)
- Οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν και σε συνθήκες εκτός των άριστων αλλά πιο αργά
- Σε περίπτωση που περιβαλλοντικές συνθήκες (pH, θερμοκρασία, υγρασία, οξυγόνο, θρεπτικά συστατικά, τοξίνες άλλων μικροβίων, συντηρητικά-απολυμαντικά, κλπ) προκαλούν αναστολή ανάπτυξης κάποιοι μ/οι μπαίνουν σε φάση στασιμότητας και κάποιοι σε φάση θανάτου, ανάλογα με την αντοχή τους σε αυτούς τους ανασταλτικούς παράγοντες



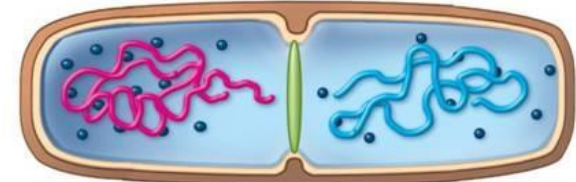
① A young cell.



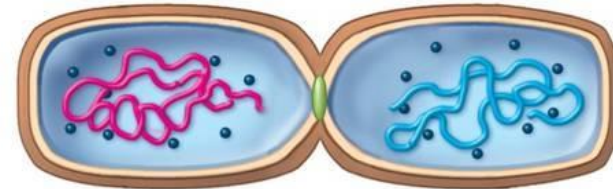
② Chromosome is replicated and new and old chromosomes move to different sides of cell.



③ Protein band forms in center of cell.



④ Septum formation begins.



⑤ When septum is complete, cells are considered divided. Some species will separate completely as shown here, while others remain attached, forming chains or doublets, for example.

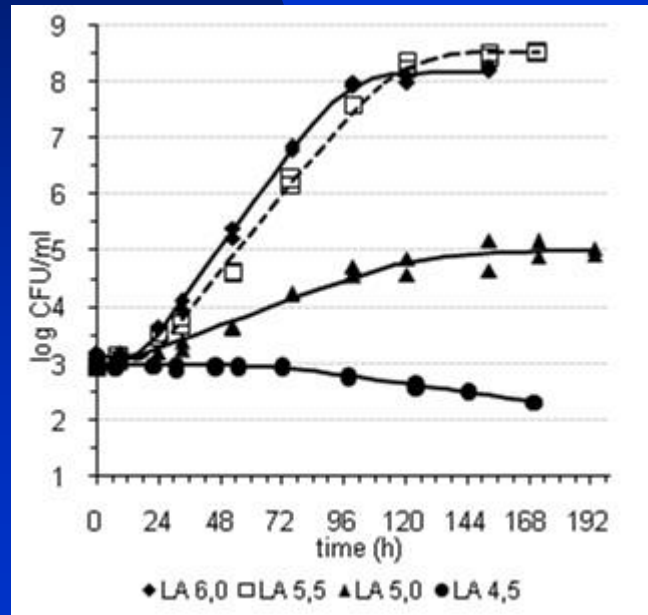


Μικροβιακή αύξηση-ανάπτυξη

- Η αύξηση του αριθμού των κυττάρων (κατά την εκθετική φάση) με βάση το χρόνο είναι μια γεωμετρική πρόοδος που περιγράφεται από τον τύπο: $N=N_0 \cdot 2^n$, όπου:
 N_0 ο αρχικός πληθυσμός, N ο πληθυσμός μετά από χρόνο t ,
 n ο αριθμός των γενεών που ολοκληρώθηκαν κατά το χρόνο t
- Χρόνος διπλασιασμού (Generation time – G ή doubling time) : ο χρόνος που χρειάζεται ένα κύτταρο για να αναπαραχθεί υπό συγκεκριμένες συνθήκες
- Ο χρόνος γενεάς g (generation time) περιγράφεται από τον τύπο: $g = t/n$ ή $G=0.3t/(\log_{10} N - \log_{10} N_0)$,
όπου N_0 =αρχικός πληθυσμός, N =τελικός πληθυσμός έπειτα από χρόνο t (min)
Π.χ. αν ένα κύτταρο φτάνει από 100 σε 10.000 κύτταρα (10^2 σε 10^4 cfu/ml) σε 120min,
 $G=0.3 \times 120 / (4-2) = 18$ min
- Ο χρόνος G εξαρτάται από τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά σε ένα υπόστρωμα, τη θερμοκρασία, το pH, τη συγκέντρωση O_2/CO_2 , την ενεργότητα νερού a_w , το μικροβιακό ανταγωνισμό και άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη
- Ο ρυθμός ανάπτυξης (Growth rate, μ) ισούται με την αύξηση/μείωση των κυττάρων ανά μονάδα χρόνου (cfu/g/h). Μπορεί να μετρηθεί με καταμέτρηση αποικιών σε τρυβλία, φασματοφωτομετρικά, ή με ζήραση και ζύγιση της μικροβιακής βιομάζας.

Μικροβιακή αύξηση-ανάπτυξη

- Σε ένα μικροβιακό πληθυσμό του ίδιο είδους, δεν έχουν όλα τα κύτταρα το ίδιο χρόνο διπλασιασμού
- Ο χρόνος G εξαρτάται από τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά σε ένα υπόστρωμα, τη θερμοκρασία, το pH, τη συγκέντρωση O_2/CO_2 , την ενεργότητα νερού a_w , το μικροβιακό ανταγωνισμό και άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη
- Η γνώση των ορίων ανάπτυξης (minimum-maximum) και των βέλτιστων (optimum) συνθηκών ανάπτυξης, καθώς και των συνθηκών αναστολής ή και καταστροφής των μικροβίων είναι απαραίτητη για την διατήρηση, ενίσχυση ή αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης



- Καμπύλες ανάπτυξης *S. aureus* σε διαφορετικές τιμές pH

Μικροβιακή αύξηση-ανάπτυξη

Ανάπτυξη μικροβίων σε οικοσυστήματα

- Σε μικτούς πληθυσμούς (με βακτήρια, ζύμες, μύκητες) το ποια κύτταρα θα επικρατήσουν εξαρτάται από τις βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης του καθενός (π.χ. τα ψυχρόφιλα βακτήρια θα αναπτυχθούν γρήγορα στο ψυγείο, ενώ τα θερμοφιλα θα επικρατήσουν σε ένα παστεριωμένο προϊόν, άσχετα με τον αρχικό πληθυσμό του καθενός)
- Επίσης, μικρόβια με συντομότερο χρόνο διπλασιασμού (π.χ. βακτήρια) υπερτερούν και μπορούν να ξεπεράσουν σε αριθμό κύτταρα που αναπτύσσονται πιο αργά (π.χ. μύκητες)
- Σε δυναμικά περιβάλλοντα με διαρκείς αλλαγές, συναντούμε μια διαδοχή στους επικρατέστερους μικροοργανισμούς :
π.χ. ανάπτυξη αναερόβιων μικροβίων έπειτα από συσκευασία κενού, ή προαιρετικά αναερόβιων μικροβίων έπειτα από την εξάντληση του οξυγόνου από αερόβιους οργανισμούς σε συσκευασμένα τρόφιμα.
Ομοίως, οι γαλακτοβάκιλλοι θα επικρατήσουν στη μικροχλωρίδα ζυμούμενων λαχανικών (τουρσί), αφού ανασταλεί σταδιακά η ανάπτυξη ανταγωνιστικών μικροοργανισμών που δεν είναι ανθεκτικοί στο αλάτι και στα οξέα που παράγουν τα γαλακτικά βακτήρια.

Μικροβιακή αύξηση-ανάπτυξη

Συμβιωτικές και ανταγωνιστικές σχέσεις μικροβίων

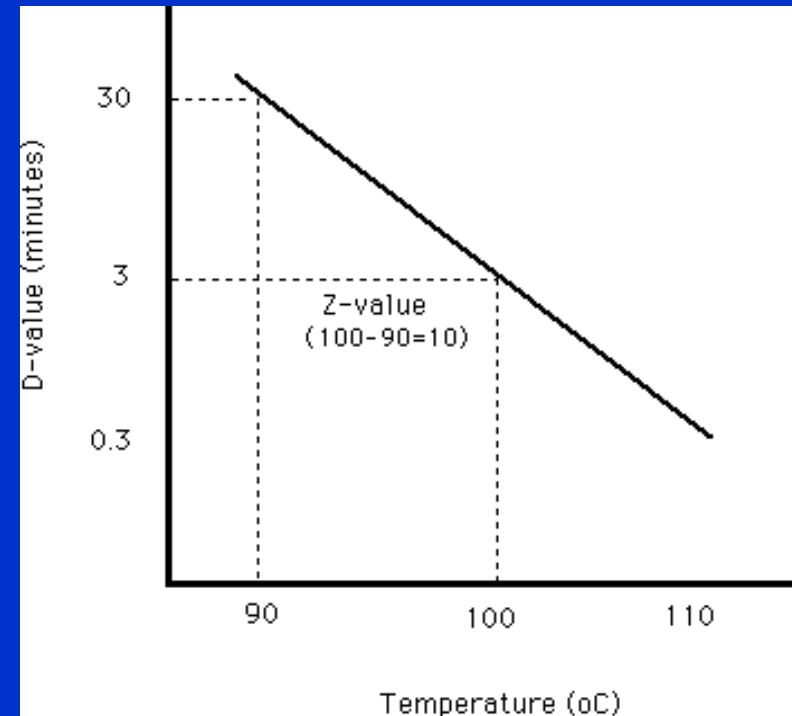
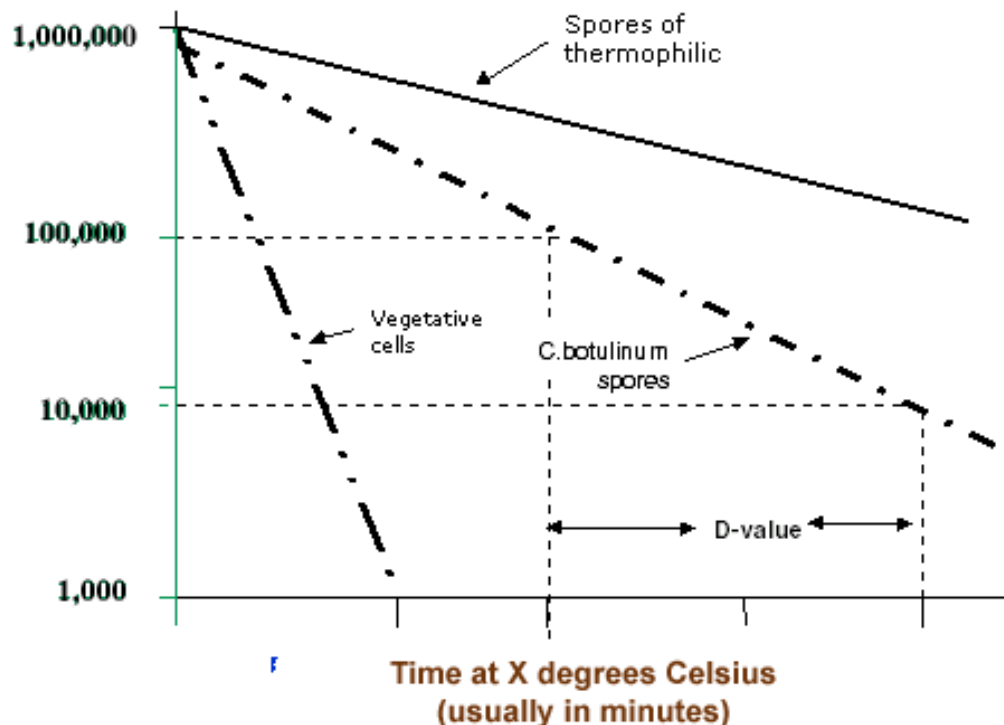
- **Συμβιωτική - συνεργιστική ανάπτυξη** μπορεί να παρατηρηθεί ανάμεσα σε δύο ή περισσότερα είδη μικροβίων π.χ. στο γιαούρτι ο *Streptococcus thermophilus* υδρολύει πρωτεΐνες που οφελούν τους *Lactobacillus* και ο *Lactobacillus bulgaricus* παράγει μυρμηγκικό οξύ που ενισχύει τους στρεπτοκόκκους. Επίσης τα δύο είδη παράγουν περισσότερη ακεταλδεΐδη (αρωματική ουσία) όταν αναπτύσσονται μαζί
- **Ανταγωνιστική ανάπτυξη** σημαίνει ότι ο μεταβολισμός του ενός μικροβίου έχει αρνητική επίδραση σε ένα άλλο (π.χ. **παραγωγή γαλακτικού οξέος** από γαλακτικά βακτήρια αναστέλλει την ανάπτυξη *Listeria monocytogenes*, ή η **παραγωγή βακτηριοσινών** αναστέλλει ανταγωνιστική μικροχλωρίδα)
- **Τα βιοφίλμ ή συσσωματώματα** ετερογενών ή ομοειδών μικροβίων που αναπτύσσονται σε τρόφιμα ή επιφάνειες (νερό, χώμα, μηχανήματα, τοιχώματα, κλπ) έχουν μεγάλη ανθεκτικότητα σε χημικά, απολυμαντικά, θερμική επεξεργασία, καθώς αλληλοπροστατεύονται και συμβιώνουν σε συνθήκες αλληλεξάρτησης («η ισχύς εν τη ενώσει»)

Θανάτωση Μικροοργανισμών

Θερμική θανάτωση

- Η μείωση του μικροβιακού πληθυσμού κατά τη θερμική καταστροφή περιγράφεται συνήθως με λογαριθμική εξίσωση πρώτης τάξης
- **D-value:** Ο χρόνος που απαιτείται για τη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού κατά 1 log. Υψηλή τιμή D \Rightarrow μεγάλη θερμοαντοχή
- **z-value:** Η διαφορά θερμοκρασίας που απαιτείται για τη μείωση/αύξηση της τιμής D κατά 1 log. Υψηλή τιμή z \Rightarrow μικρή θερμοαντοχή

Thermal Death Rate Curves



Παράγοντες μικροβιακής ανάπτυξης

Ενδογενείς παράγοντες (εντός του τροφίμου):

1. Θρεπτικά στοιχεία
2. Ενεργότητα νερού (a_w)
3. Οξύτητα
4. Συγκέντρωση οξυγόνου (δυναμικό οξειδοαναγωγής)
5. Αντιμικροβιακές ουσίες
6. Δομή-σχήμα-υφή του τροφίμου

Εξωγενείς παράγοντες (που επιβάλλονται έξωθεν):

1. Θερμοκρασία
2. Σχετική υγρασία (επηρεάζει την ενεργότητα νερού του τροφίμου)
3. Σύθεση αερίων σε συσκευασία κενού ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP)
4. Απολυμαντικές-αντιμικροβιακές ουσίες

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

1. Θρεπτικά στοιχεία

- Εκτός από νερό, οι μικροοργανισμοί απαιτούν στη διατροφή τους :
 - μια **πηγή άνθρακα (C)** για παραγωγή ενέργειας (ATP) και για βιοσύνθεση πολυσακχαριτών του κυττάρου. Πηγή άνθρακα : σάκχαρα, αμινοξέα, λιπίδια
 - μια **πηγή αζώτου (N)** για τη βιοσύνθεση νέων πρωτεϊνών, ενζύμων, νουκλεοτιδίων , κλπ. Πηγή αζώτου: πρωτεΐνες, πεπτίδια, αμινοξέα, άλατα νιτρώδη, νιτρικά, αμμωνιακά)
- **Μέταλλα και ιχνοστοιχεία (K, Na, Mg, Mn, Fe, Ca, κλπ)** για την ενεργοποίηση ενζύμων, τη σύνθεση βιταμινών, την αντίσταση στην ωσμωτική πίεση
- **Ενισχυτικούς παράγοντες** όπως βιταμίνες, αμινοξέα, κλπ.
- Με άλλα λόγια, τρόφιμα πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά → εύκολη αλλοίωση
- Οι μικροοργανισμοί προτιμούν συνήθως **απλές πηγές C-N** (μονοσακχαρίτες, αμινοξέα ή άλατα αζώτου) από τις πιο σύνθετες πηγές (πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες, αντίστοιχα). Έτσι, αναπτύσσονται πιο γρήγορα σε υπόστρωμα με γλυκόζη απ'ότι σε άμυλο.
- Τα Gram+ βακτήρια έχουν γενικά μεγαλύτερες θρεπτικές απαιτήσεις από τα Gram-
- Οι **μύκητες** έχουν τις **λιγότερες απαιτήσεις σε θρεπτικά υλικά**, καθώς μπορούν και συνθέτουν μεγάλη γκάμα ενζύμων και βιολογικών μορίων (εξηγεί την ανάπτυξη σε πολύ φτωχά υποστρώματα)
- Γενικά, σε πρωτεϊνούχα τρόφιμα → ανάπτυξη βακτηρίων, ενώ σε αμυλούχα τρόφιμα (φυτικής προέλευσης) → ανάπτυξη ζυμών-μυκήτων

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

2. Ενεργότητα νερού a_w

- Δείκτης του ελεύθερου νερού, δηλ. αυτού που δεν είναι δεσμευμένο σε άλλα μόρια (π.χ. πολυσακχαριτών, πρωτεϊνών) και παραμένει διαθέσιμο για την ανάπτυξη των μικροβίων
- $a_w = P/P_0$ (τάση ατμών του τροφίμου / τάση ατμών απεσταγμένου νερού)
- Τα κύτταρα χρειάζονται το νερό ως διαλύτη, και ως συστατικό βιοχημικών αντιδράσεων (υδρόλυσης)
- **Μέγιστη τιμή $a_w = 1,0$** (στο απεσταγμένο νερό)
- Μείωση της a_w κάτω από ένα ελάχιστο όριο ανάπτυξης προκαλεί αναστολή μικροβιακής ανάπτυξης και ίσως θάνατο (ωσμωτικό stress)
- **Η χαμηλότερη a_w για ανάπτυξη μικροβίων = 0.6** (ξηροφιλικοί μύκητες, οσμώφιλες ζύμες) όσμωση
- Ελάχιστη a_w για ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων = 0.85 (*S. aureus*)
- **Αλόφιλα/οσμώφιλα μικρόβια: ικανά να αναπτύσσονται σε υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων (>10% αλάτι)**
 - Staphylococcus, Vibrio, Micrococcus, Pediococcus, Corynebacterium, πολλοί μύκητες (π.χ. Aspergillus)
- **Οσμώφιλα μικρόβια : ικανά να αναπτύσσονται σε υψηλές συγκεντρώσεις διαλυτών στερεών (>20% σάκχαρα)**
 - Οσμώφιλα βακτήρια: Staphylococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Lactobacillus
 - Ζύμες: Zygosaccharomyces, Schizosaccharomyces
 - Μύκητες: Xeromyces, Aspergillus, Eurotium, κλπ

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

Ελάχιστες τιμές a_w για ανάπτυξη μικροβίων

Table 3.5. Approximate Minimum a_w Values for Growth of Microorganisms Important in Foods

Organisms	a_w	Organisms	a_w
Groups		Groups	
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.61
Specific Organisms		Specific Organisms	
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Clostridium botulinum</i> , types A and B	0.94	<i>Aspergillus glaucus</i> ^a	0.70
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61
<i>Mucor spinosus</i>	0.93		

^aPerfect stages of the *A. glaucus* group are found in the genus *Eurotium*.

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

Συσχέτιση της a_w με την υγρασία ενός τροφίμου

Ισόθερμη καμπύλη προσρόφησης/εκρόφησης νερού

- Σε υψηλή συγκέντρωση υγρασίας, μια μεγάλη μείωση νερού αντιστοιχεί σε μικρή ελάττωση a_w
- Σε ένα συγκεκριμένο ποσοστό υγρασίας η a_w είναι μικρότερη όταν αφαιρείται νερό, και μεγαλύτερη όταν προστίθεται νερό
- Πολύ μεγάλη η σημασία της προσρόφησης νερού σε αφυδατωμένα-ξηρά τρόφιμα!
- Έστω και μια μικρή αύξηση υγρασίας σε σιτηρά-σκόνες-ξηρούς καρπούς (με χαμηλή a_w) προκαλεί δυσανάλογα μεγάλη αύξηση της a_w \Rightarrow αλλοίωση από μύκητες

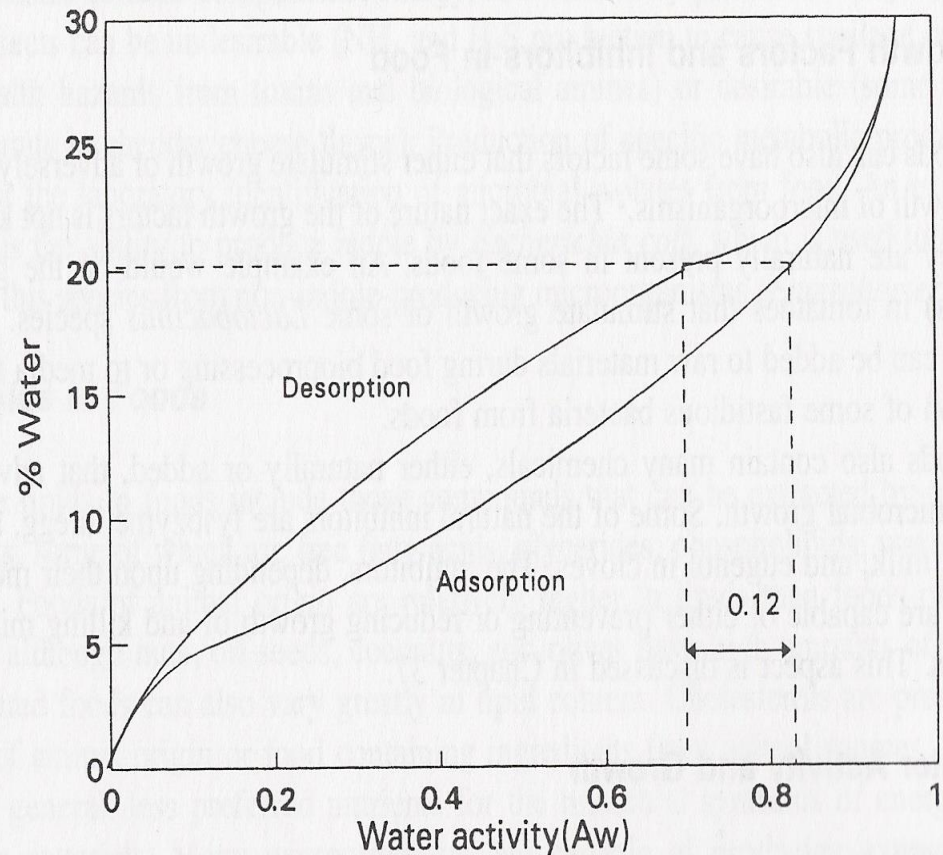


Figure 6.1 Water sorption isotherm showing hysteresis. At the same percentage of water, A_w is lower by desorption than by adsorption.

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

3. pH και Οξύτητα

- Τα περισσότερα μικρόβια προτιμούν ουδέτερο pH (~7.0), λίγα αναπτύσσονται κάτω από 4.0
 - Τα **βακτήρια είναι τα πλέον ευαίσθητα στην οξίνιση**, ζύμες και κυρίως μύκητες πολύ ανθεκτικοί. Από τα βακτήρια τα πλέον ανθεκτικά είναι τα γαλακτικά.
 - Η οξύτητα είναι από τους πιο σημαντικούς παράγοντες αναστολής της μικροβιακής ανάπτυξης (συντήρηση φρούτων, όξινων λαχανικών αναψυκτικών, ξυδιού,) και καθοριστικός για το ύψος μιας θερμικής επεξεργασίας (όξινες-μη όξινες κονσέρβες)
 - **Δεν αναπτύσσονται παθογόνα μικρόβια σε pH <4.0**, (εξαίρεση: μυκοτοξίνες μυκήτων *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*)
 - Πρωτεϊνούχα τρόφιμα έχουν ουδέτερο pH (buffering capacity-κρέας)
 - Μεγάλη η σημασία της οξίνισης σε ζυμούμενα τρόφιμα (π.χ. τυριά, ή στην νεκρική ακαμψία και την ωρίμανση κρέατος)
 - Διαφορετικά οξέα (οργανικά/ανόργανα επιδρούν σε διαφορετικό βαθμό: πιο ανασταλτικά τα οργανικά οξέα γαλακτικό, οξικό, κιτρικό
- **Ο μικροβιακός μεταβολισμός επηρεάζει το pH** : παραγωγή γαλακτικού/οξικού/κιτρικού/μυρμιγκικού ή παραγωγή αμμωνίας/αμινών που αυξάνουν το pH. Οι ζύμες-μύκητες καταναλώνουν οξέα \Rightarrow αύξηση pH \Rightarrow **οξυαντοχή ζυμομυκήτων**
- **Πως δρα η οξύτητα στα μικροβιακά κύτταρα?**
- Τα οργανικά οξέα εισέρχονται στο κύτταρο αδιάστατα και δίστανται σε H^+ στο κυτταρόπλασμα \Rightarrow ζωτικά ένζυμα, μεταφορικές πρωτεΐνες μετουσιώνονται, καθώς και μόρια DNA, ATP.

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

Όρια pH για ανάπτυξη μ/ο

- LAB: τα πλέον οξυανθεκτικά βακτήρια (επιβίωση σε <math><4,0</math>)
- *S.aureus* : το πλέον οξυανθεκτικό παθογόνα βακτήριο
- Δεν αναπτύσσεται το *Clostridium botulinum* σε $\text{pH} < 4.6 \Rightarrow$ το pH καθορίζει το ύψος θερμικής επεξεργασίας σε **κονσερβοποιημένα τρόφιμα**
- **Αντοχή ζυμών-μυκήτων** σε όξινα pH (διέγερση μυκήτων σε όξινο pH)

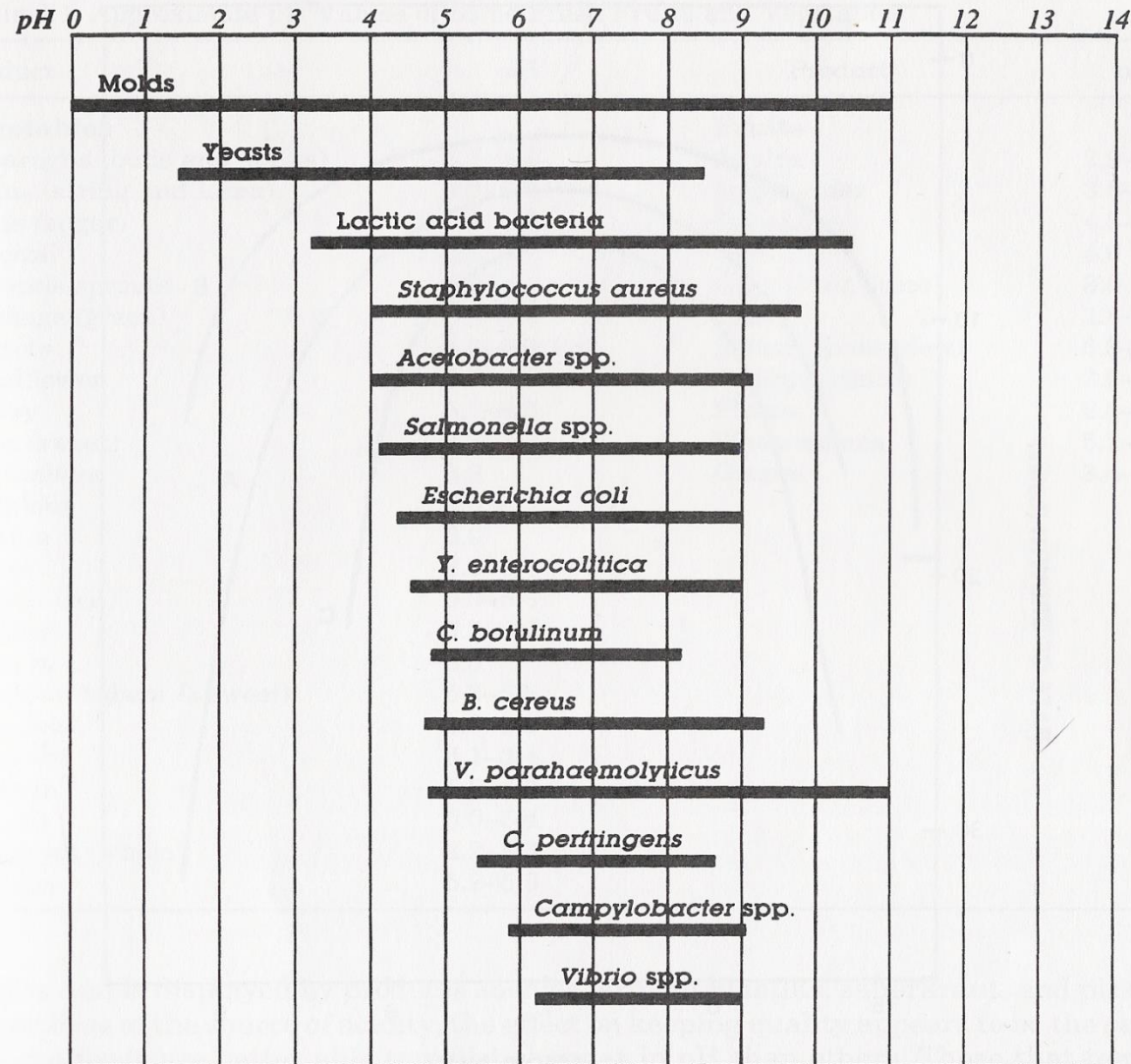


Figure 3.1. Approximate pH growth ranges for some foodborne organisms.

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

Μηχανισμοί αντίστασης σε αλλαγές του pH:

- Ομοιοστατική απόκριση : αντλία πρωτονίων διώχνει H^+ εκτός κυττάρου (σε διαρκή λειτουργία)
- Απόκριση οξυαντοχής (Acid tolerance response-ATR): μεμβρανικές πρωτεΐνες αντλούν H^+ ή OH^- από το κυτταρόπλασμα προς το εξωκυτταρικό περιβάλλον (ATPase-proton pump) :
aminoacid decarboxylase σε χαμηλό pH, aminoacid deaminase σε υψηλό pH)
- Πρωτεΐνες όξινου shock: συντίθενται σε pH 3.0-5.0

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

4. Συγκέντρωση οξυγόνου – Οξειδωαναγωγικό δυναμικό (Redox potential - Eh)

- Oxidation/Reduction potential = η τάση ενός υποστρώματος να χάνει / αποκτάει ηλεκτρόνια
- Οξειδωμένο υπόστρωμα → υψηλό Eh
- Ανηγμένο υπόστρωμα → χαμηλό (αρνητικό) Eh
- **Αερόβιοι οργανισμοί** (π.χ. *Pseudomonas*, **μύκητες**) απαιτούν Eh [300-500mV]
- **Αυστηρά αναερόβιοι** (π.χ. *Clostridium*, *Desulfotomaculum*) απαιτούν [(100 έως (-300)]mV
- **Προαιρετικά αναερόβιοι** (π.χ. *LAB*, *Listeria*, *coliforms*) αναπτύσσονται σε οξειδωτικές ή ελαφρώς αναγωγικές συνθήκες [300 έως (-100)]mV
- **Μικροαερόφιλα βακτήρια** (π.χ. *Campylobacter*, *Lactobacillus*) απαιτούν λιγότερο οξυγόνο από αυτό της ατμόσφαιρας ή μικρές συγκεντρώσεις CO₂)
- **Υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου, O₃, οξειδάσες → θετικό Eh → αερόβιες συνθήκες**
- **Παρουσία CO₂, θειώδη αμινοξέα (SH-groups), ασκορβικό οξύ, αναγωγικά σάκχαρα, αναγωγάσες → αρνητικό Eh → αναερόβιες συνθήκες**
- **Αλλά για αυστηρά αναερόβια βακτήρια** (*Clostridium*, *Desulfotomaculum*), η απουσία O₂ είναι πιο σημαντική από το αρνητικό Eh (το O₂ τα σκοτώνει !)
- Φρούτα-λαχανικά: Eh= 300 – 500mV
- Κρέας και τυριά (σε μεγάλα κομμάτια): (-100) έως (-200)mV,
- Όμως ο κιμάς: 200mV

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

Το Eh αλλάζει με την ανάπτυξη των μ/ο και τις επεξεργασίες τροφίμων (θέρμανση, συσκευασία)

- Ανάπτυξη αεροβίων μ/ο → πτώση Eh (εξάντληση O₂)
- Το Eh είναι υψηλότερο σε όξινο περιβάλλον
- Παραγωγή H₂S, CO₂ μειώνει το Eh
- Θέρμανση απελευθερώνει (ελαττώνει) το οξυγόνο, συσκευασία vacuum/MAP μειώνει το οξυγόνο

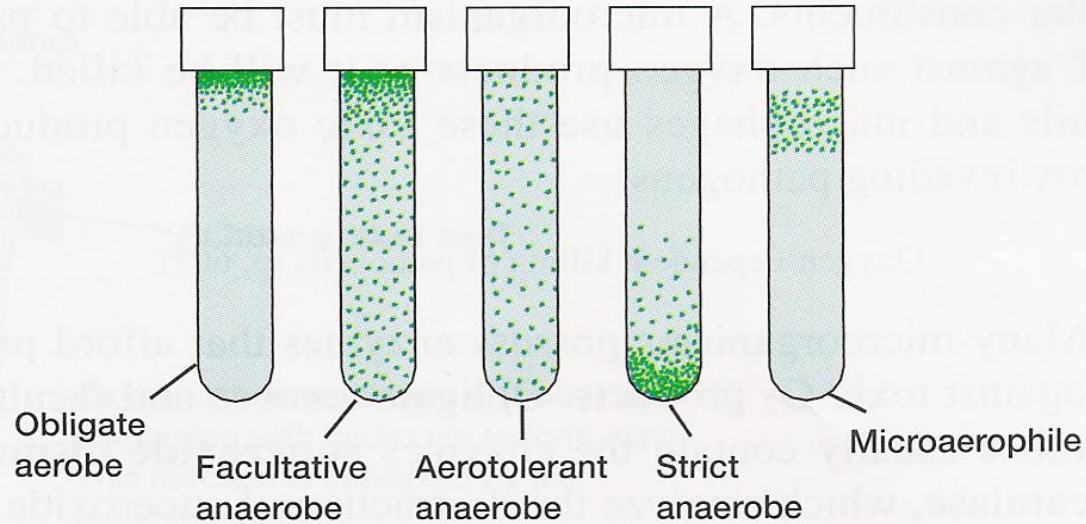
Οι ζυμωτικοί οργανισμοί (ζύμες, γαλακτικά) παράγουν οργανικά οξέα, αιθανόλη, ακετόνη, αναεροβίως (σημαντικός ο ρόλος του οξυγόνου σε ζυμώσεις ζυμών)


Άκρως οξειδωτικές συνθήκες (όζον, ελεύθερες ρίζες υπεροξειδίων, κλπ) προκαλούν οξειδωτικό στρες, πιθανόν καταστροφικό

- Τα αερόβια βακτήρια έχουν μηχανισμούς απόκρισης στο οξειδωτικό στρες (**superoxide dismutase, catalase**), που δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

Ανάπτυξη μ/ο ανάλογα με την αντοχή σε O₂



 **Figure 6.16 Oxygen and Bacterial Growth.** An illustration of the growth of bacteria with varying responses to oxygen. Each dot represents an individual bacterial colony within the agar or on its surface. The surface, which is directly exposed to atmospheric oxygen, will be aerobic. The oxygen content of the medium decreases with depth until the medium becomes anaerobic toward the bottom of the tube.

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

5. Αντιμικροβιακά συστατικά τροφίμων

- Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών-καρυκευμάτων (thymol, carvacrol, eugenol)
- Φαινόλες σε τσάι, κρασί, κλπ
- Κουμαρικό, φερουλικό, καφεϊκό σε φρούτα, λαχανικά και τσάι
- Γλυκοσινολίδια-Ισοκυανίδιο, σε λάχανο, μπρόκολο
- Λυσοζύμη, κοναλβουμίνη σε αυγά
- Λακτοφερρίνη, λυσοζύμη, lactoperoxidase, agglutinin (rotavirus inhibitor) σε αγελαδινό γάλα
- Διακετύλιο από LAB σε γαλακτοκομικά
- Βακτηριοσίνες από LAB (nisin, reuterin, helveticin, mecedonicin, pedionisin)
- Αντιβιοτικά από Bacillus (polymixin, bacitracin), Streptomyces (streptomycin)

Τρόπος δράσης

- Lactoperoxidase system (lactoperoxidase, thiocyanate, H_2O_2): δρά εναντίον Gram-ψυχρόφιλων βακτηρίων, μειώνει τις τιμές D της απαιτούμενης θερμικής επεξεργασίας
- Λυσοζύμη: υδρολύει κυτταρικό τοίχωμα σε Gram+
- Αιθέρια έλαια: ευρεία δράση (αναστολή ενζύμων)
- Διακετύλιο : βακτηριοκτόνο μέσω της αδρανοποίησης της αργινίνης σε ένζυμα

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

“Γαλακτικός ανταγωνισμός” των *Lb. plantarum* ή *P. cerevisiae* ενάντια στο *S. aureus* σε μαγειρεμένο κρέας κοτόπουλου

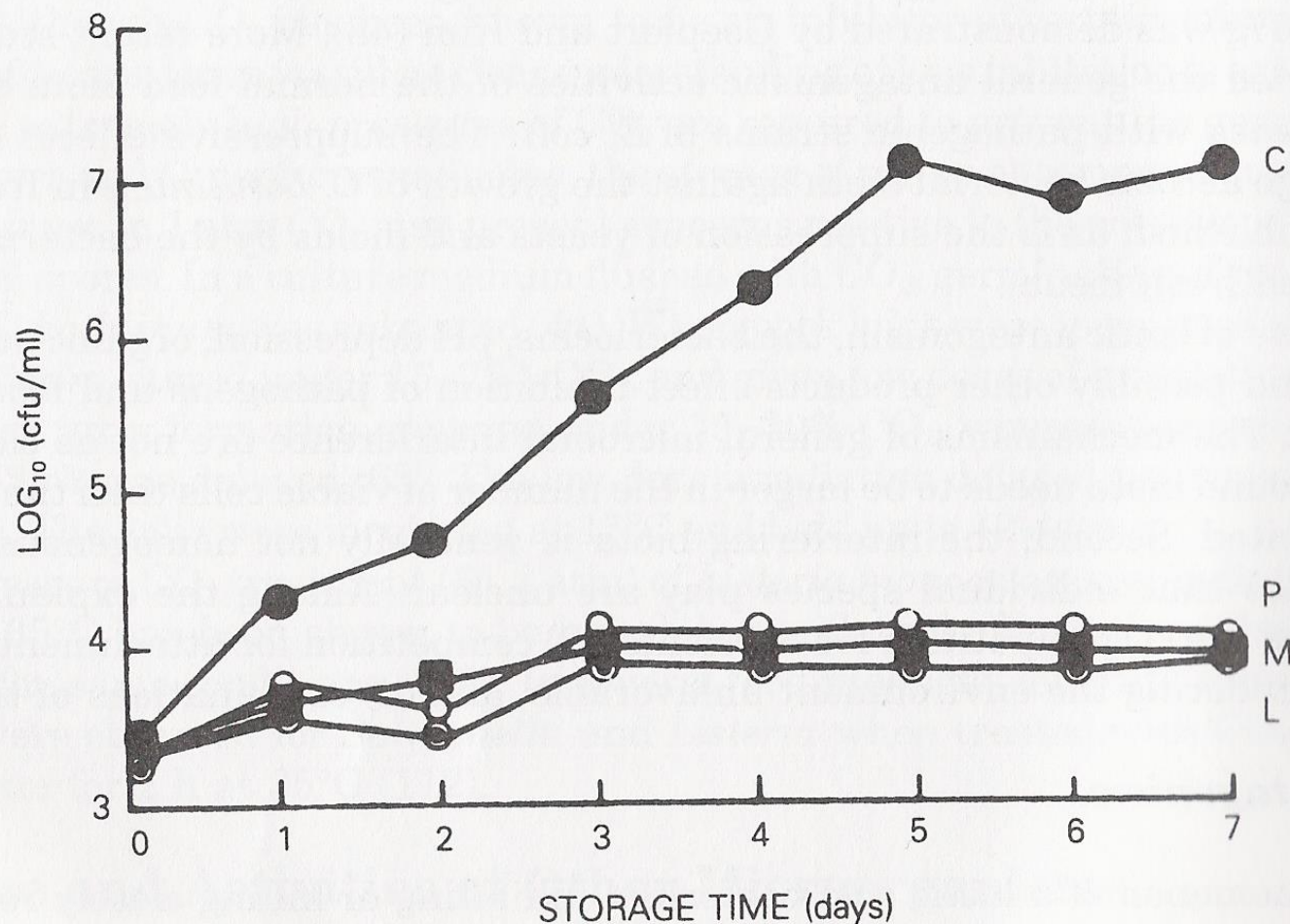


Figure 3.5. Growth of *S. aureus* in pure culture (C) and in association with *L. plantarum* (L), *P. cerevisiae* (P), and the mixture (M) in cooked mechanically deboned poultry meat (MDPM) at 15°C. Lactic acid bacteria were added at a concentration of 10^9 cells/g. From Raccach and Baker (87), copyright © 1978, International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians.

Ενδογενείς παράγοντες ανάπτυξης

6. Δομή-σχήμα-υφή τροφίμου

- Φυσική προστασία σε αυγά (κέλυφος), καρπούς με κέλυφος, φρούτα (επιδερμίδα) κρέας-ψάρια (δέρμα)
- Μόλις διαταραχθεί η ακεραιότητα της επιφάνειας ενός τροφίμου (ιδίως σε φρούτα-λαχανικά), τα μικρόβια διεισδύουν
- Κιμάς : πιο ευαλλοίωτος από ότι ένα ενιαίο τεμάχιο κρέατος (μεγαλύτερη εκτεθειμένη επιφάνεια)
- Υγρά-ρευστά τρόφιμα : πιο ευαλλοίωτα από ότι στερεά με παρόμοια σύνθεση (ευκολότερη διάχυση μικροβίων στο υπόστρωμα)
- **Πρόβλημα:** ανομοιόμορφη θερμική επεξεργασία ή ψύξη ή ακτινοβολία σε τεμάχια διαφορετικών μεγεθών!

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

1. Θερμοκρασία

- Η θερμοκρασία επηρεάζει την **ενζυμική δραστηριότητα** και άρα τον μικροβιακό μεταβολισμό και την ανάπτυξη (περίπου μείωση/αύξηση ενζυμικής ενεργότητας για κάθε μετατόπιση της θερμοκρασίας κατά 10°C)
- Τα μικρόβια έχουν ελάχιστη, μέγιστη και βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης
- Λίγο πάνω από την μέγιστη T_{max} ($\sim 10^\circ\text{C} > T_{max}$), προκαλείται θανάτωση
- Κάτω από την ελάχιστη T_{min} προκαλείται αναστολή αλλά όχι θάνατος (εξαίρεση: κάποια κύτταρα τραυματίζονται κατά την ψύξη ή ιδίως την κατάψυξη και μπορεί να θανατωθούν)
- Ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξης μικροβίων : -34°C (στα τρόφιμα συνήθως μέχρι -2°C)
- Μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης: $>100^\circ\text{C}$ (θερμές πηγές) στα τρόφιμα συνήθως μέχρι $75-80^\circ\text{C}$

Ταξινόμηση μ/ο με βάση τις θερμοκρασίες ανάπτυξης:

- Ψυχρόφιλα: $(-5) - 20^\circ\text{C}$, optimum $\sim 7^\circ\text{C}$
- Ψυχρότροφα: $0 - 30^\circ\text{C}$, optimum $20-25^\circ\text{C}$
- Μεσόφιλα: $5 - 45^\circ\text{C}$, optimum $30-40^\circ\text{C}$
- Θερμόφιλα: $40 - 85^\circ\text{C}$, optimum $55-65^\circ\text{C}$

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

Όρια θερμοκρασιών ανάπτυξης μ/ο

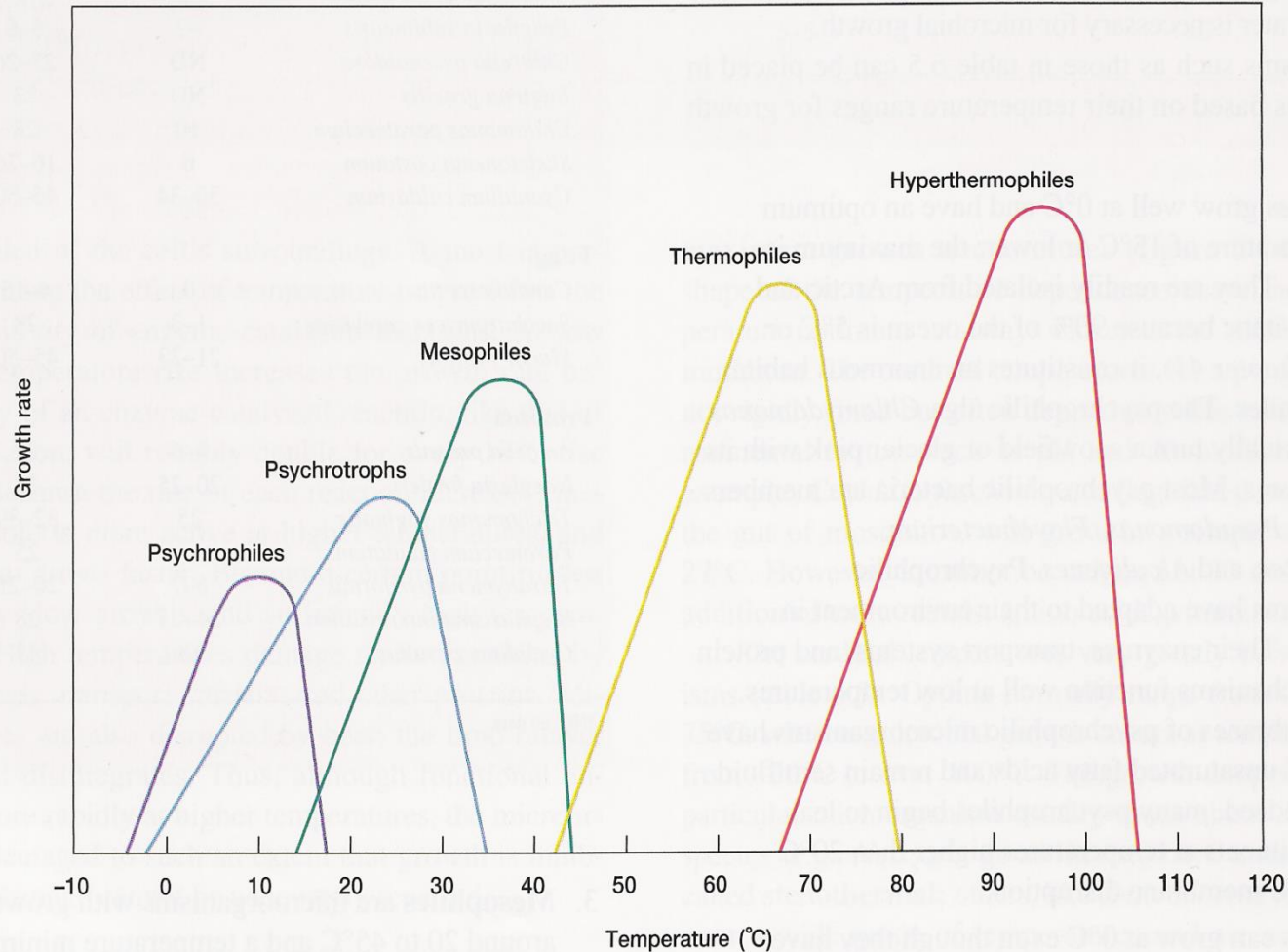


Figure 6.15 Temperature Ranges for Microbial Growth. Microorganisms can be placed in different classes based on their temperature ranges for growth. They are ranked in order of increasing growth temperature range as psychrophiles, psychrotrophs, mesophiles, thermophiles, and hyperthermophiles. Representative ranges and optima for these five types are illustrated here.

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

■ Επίδραση θερμοκρασίας στην μικροβιακή ανάπτυξη

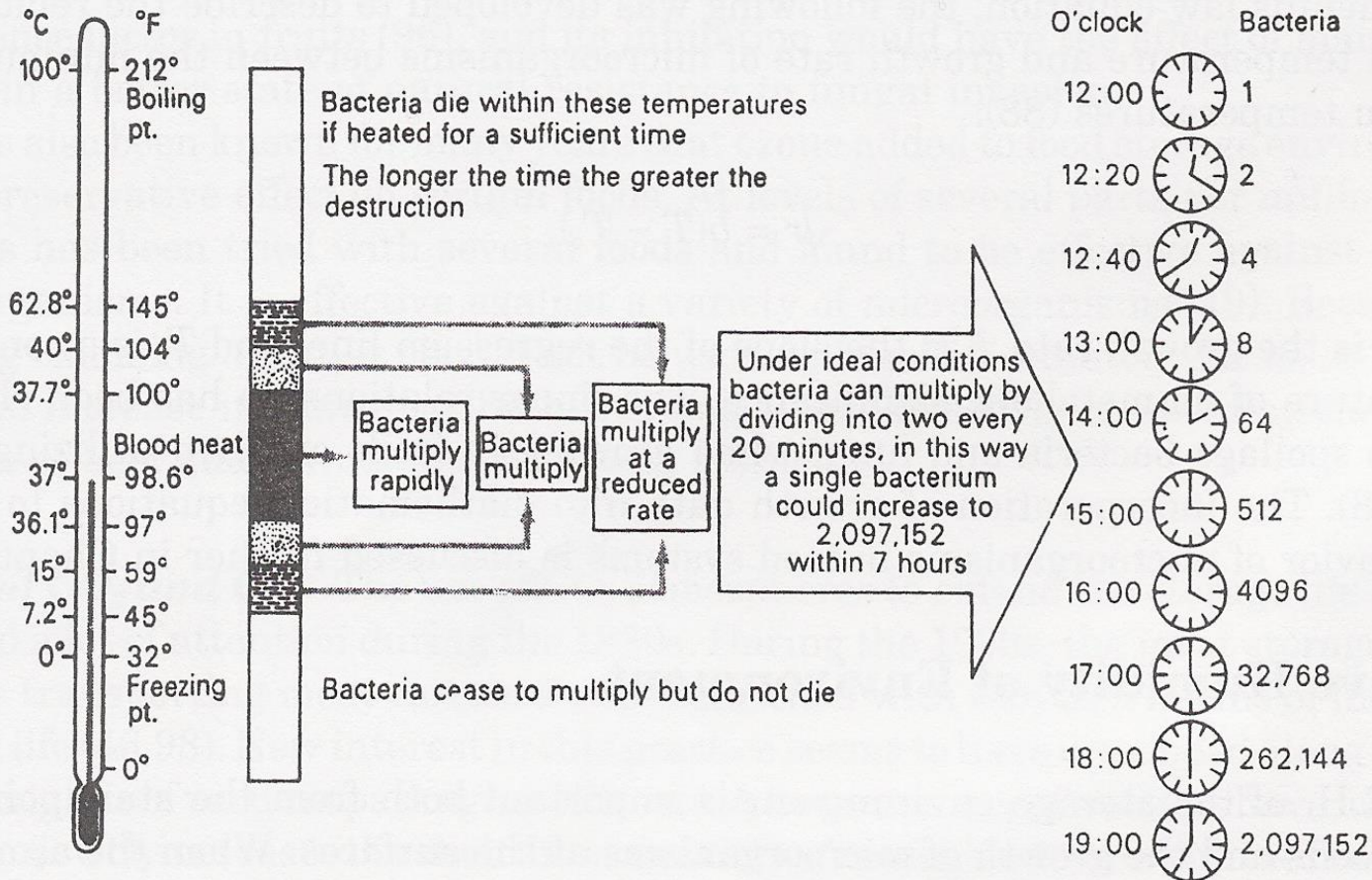


Figure 3.4. Effect of temperature and time on the growth of bacteria. Safe and dangerous temperatures for foodstuffs. *From Hobbs (53), reproduced with permission of the publisher.*

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

- Επίδραση θερμοκρασίας στην μικροβιακή ανάπτυξη

■ Επίδραση ψύξης

Table 3 Generation times or time until toxin formation by some psychrotrophic pathogens during growth in food. Adapted from Snyder (1996).

Pathogen	Temperature		Generation time (h)	Food
	° C	° F		
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	32	110.0	Corned beef
	3	37	37.6	Roast beef
	4	39	36.0	Milk
	5	41	43.0	Raw cabbage
	5	41	44.0	Cooked meat
	5	41	33.2	Ham
	10	50	21.7	Lettuce
	10	50	8.2	Corned beef
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	32	67.4	Imitation crab legs
	0	32	44.0	Oysters
	3	37	18.0	Boiled shrimp
	7	45	10.3	Cooked beef
	10	50	12.0	Imitation crab legs
<i>Escherichia coli</i>	10	50	5.2	Culture medium
Pathogen	Temperature		Time to toxin formation (h)	Food
	° C	° F		
<i>Clostridium botulinum</i> type E	3.3	38	744	Beef stew
	3.3	38	964	Fish
	4.0	39	644	Fish
	4.4	40	1320	Crabmeat
	5.0	41	426	Fish
	6.0	43	456	Beef stew
	7.0	45	243	Fish
	9.0	48	163	Fish
	10.0	50	138	Fish

Table 2 Lag time and generation time of *Listeria monocytogenes* in fluid dairy products at various temperatures. Adapted from Rosenow and Marth (1987).

Temperature °C	Lag time (h)	Generation time (h)
4	120-144	33.3-36.3
8	24-48	10.6-13.1
13	10	5.8-6.0
21	5	1.7-1.9

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

■ Ψυχρότροφα βακτήρια τροφίμων:

Pseudomonas, Enterobacter, Moraxella, Acinetobacter, Alcaligenes, Shewanella, Aeromonas, Brochothrix, Corynebacterium, Flavobacterium, Psychrobacter, Lactobacillus → κύριοι **μικροοργανισμοί αλλοίωσης** κατά την ψύξη; **Ψυχρότροφα παθογόνα**: Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes, Clostridium type E

■ **Τα περισσότερα βακτήρια είναι μεσόφιλα** → κύριοι στόχοι της παστερίωσης και της ψύξης

■ **Θερμόφιλα βακτήρια**: Clostridium και Bacillus (σπορογόνα)

■ **Θερμοάντοχα βακτήρια (μη σπορογόνα)**: Streptococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Micrococcus, Pediococcus,

■ **Οι ζύμες και μύκητες** συνήθως αναπτύσσονται υπό ψύξη και **θανατώνονται με παστερίωση**. Ωστόσο υπάρχουν και **θερμοάντοχοι μύκητες και ζύμες**: Byssochlamys, Talaromyces, Eupenicillium, Neosartorya (πρόβλημα σε παστεριωμένους χυμούς και κονσέρβες φρούτων-όξινων λαχανικών)

■ **Κατά την ψύξη επιβραδύνεται η ανάπτυξη, και πολλές τοξίνες δεν παράγονται** (π.χ. S. aureus toxins)

■ **Σημείωση**: η αλλοίωση στους 10°C (και η πιθανότητα ανάπτυξης κάποιου παθογόνου) είναι περίπου δύο φορές αυξημένη σε σχέση με τους 5°C.

Σημαντικό πρόβλημα: Οικιακά ψυγεία, ψυγεία σουπερμάρκετ !!!

■ **Απαραίτητη η γρήγορη ψύξη μετά από κάθε θερμική επεξεργασία** → αποφυγή ανάπτυξης θερμοφίλων βακτηρίων

■ **Συντήρηση κρεάτων και γαλακτοκομικών σε 0-4°C, φρούτων λαχανικών σε 5-10°C**

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

2. Σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας (%RH)

- Υψηλή σχετική υγρασία **αυξάνει την ενεργότητα νερού** a_w ιδίως σε ξηρά τρόφιμα → αλλοίωση από μύκητες
- **Μυκοτοξίνες** παράγονται κατά την αποθήκευση σιτηρών, ζωοτροφών, ξηρών καρπών και ξηρών φρούτων σε περιβάλλον με υψηλή %RH
- Χρησιμότητα υδατοστεγούς συσκευασίας όπου είναι εφικτό, **έλεγχος σχετικής υγρασίας** και θερμοκρασίας σε αποθήκες σιτηρών
- **Όμως για το τρόφιμα με υψηλή υγρασία** (φρούτα, λαχανικά, κρέας) η αποθήκευση σε χαμηλή RH επιδρά αρνητικά στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και την οικονομική αξία του προϊόντος !

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

3. Σύνθεση (μίγματος) αερίων σε συσκευασίες κενού/MAP

- Σε μη συσκευασμένα τρόφιμα : 20-21% O_2 , 0-0,5% CO_2 , ~79-80% N_2
- Ελεγχόμενη ατμόσφαιρα αποθήκευσης (CA storage) : για φρούτα-λαχανικά: ~10% CO_2 → επιβραδύνει την αλλοίωση από μύκητες
- Συσκευασία Τροποποιημένης Ατμόσφαιρας (MAP): μίγμα αερίων CO_2 , N_2 (ή/και O_2) → αναστολή αερόβιων μ/ο από το CO_2 , αναερόβιες συνθήκες
- Το CO_2 αναστέλλει κυρίως τα Gram- (αυξάνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης τους), αλλά όχι τα γαλακτικά και τα αναερόβια (*Clostridium*)
- Το N_2 δεν προκαλεί αναστολή, αλλά είναι αδρανές και αντικαθιστά τον όγκο του οξυγόνου.
- Το O_2 σε χαμηλή συγκέντρωση (~5%) είναι χρήσιμο για την αναστολή των κλωστρηδίων (καθώς και για τη διατήρηση του χρώματος σε νωπό κρέας)
- Τυπική σύνθεση μίγματος αερίων για νωπό κρέας: 10% CO_2 + 5% O_2 + 85% N_2 ή 20% CO_2 + 80% N_2 → επιμήκυνση διάρκειας ζωής μέχρι και 30 days στους 4°C
- Συσκευασία κενού περιέχει λίγο ή καθόλου αέρα, ανάλογα με το ύψος του κενού (υποπίεση) και τη διαπερατότητα της συσκευασίας σε οξυγόνο
- Μικροχλωρίδα τροφίμων σε συσκευασία vacuum/MAP: *LAB*, *Weissella viridescens*, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterococcus*, *Serratia*. Πρόβλημα: τυχόν ανάπτυξη *Clostridium*

Εξωγενείς παράγοντες ανάπτυξης

Επίδραση κενού/MAP σε κρέας συντηρημένο στους 4°C



Table 3.6. Effect of Storage on the Microflora of Two Meats Held from 48 to 140 Days at 4°C

	Smoked Pork Loins			
	0 Day	Vacuum 48 Days	CO ₂ 48 Days	N ₂ 48 Days
Log APC/g	2.5	7.6	6.9	7.2
pH	5.8	5.8	5.9	5.9
Dominant flora (%)	Flavo (20) Arthro (20) Yeasts (20) Pseudo (11) Coryne (10)	Lactos (52) ^a	Lactos (74) ^b	Lactos (67) ^c
	Frankfurter Sausage			
	0 Day	Vacuum 98 Days	CO ₂ 140 Days	N ₂ 140 Days
Log APC/g	1.7	9.0	2.4	4.8
pH	5.9	5.4	5.6	5.9
Dominant flora (%)	Bac (34) Coryne (34) Flavo (8) Broch (8)	Lactos (38)	Lactos (88) ^d	Lactos (88) ^e

NOTE: Percent flora represented by *Weissella viridescens*: ^a40; ^b72; ^c50; ^d22; ^e35.

Flavo = *Flavobacterium*; Arthro = *Arthrobacter*; Pseudo = *Pseudomonas*; Coryne = *Corynebacterium*; Bac = *Bacillus*; Broch = *Brochothrix*.

SOURCE: Adapted from Ref. 12.

ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ-ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ

Απολυμαντικές ουσίες

- Χλώριο
- Αμμωνιακά άλατα
- Οξέα (φωσφορικό, υδροχλωρικό)
- Αλκάλια (καυστικό νάτριο, κάλιο)
- Αλκοόλες
- H₂O₂
- O₃
- SO₂

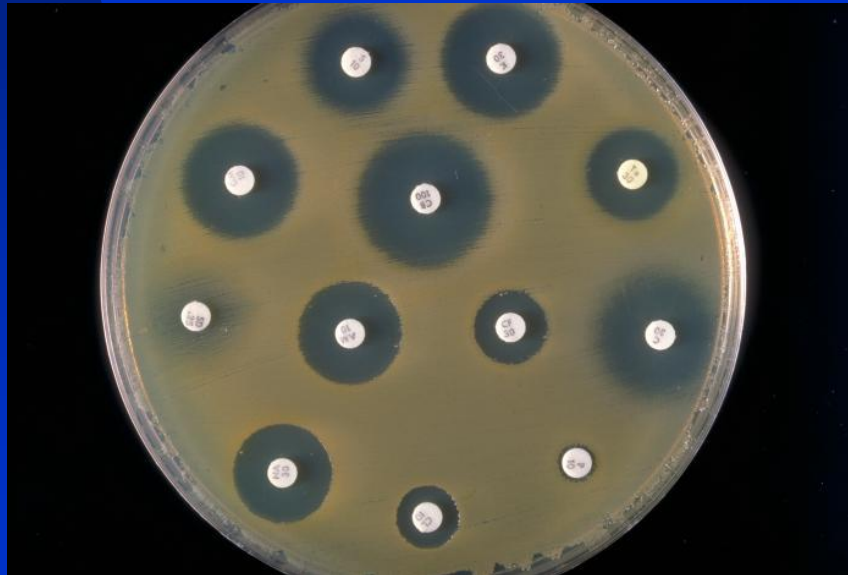
ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Ενδεικτικές κατηγορίες απορρυπαντικών, απολυμαντικών και αντισηπτικών.

	Κατηγορία	Σύσταση	Δράση
Απορρυπαντικά	Ανιονικά τασιενεργά	Άλατα σουλφονικών οξέων	60%-70% του συνολικού εμπορίου απορρυπαντικών
		Άλατα όξινων θεικών εστέρων	Δρουν σε χαμηλό pH και υψηλή θερμοκρασία
	Μη ανιονικά τασιενεργά	Προϊόντα συμπυκνώσεως λιπαρών οξέων, φαινολών, αλκοολών με πολυαιθυλενοξειδίο	Των πλυντηρίων, δεν αφρίζουν, είναι ισχυροί γαλακτωματοποιητές
	Σύνδρομες-βοηθητικές ουσίες	Πολυφωσφορικά άλατα	Αποσκληρυντική
		Σάπωνες τριαιθανολαμίνης	Γαλακτωματοποιητές
		Αμινοτριαζίδες Αδιάλυτες παραφίνες	Αντιαφριστική
Για ανθεκτικούς ρύπους	Υδροξειδίο του νατρίου Υδροξειδίο του καλίου Φωσφορικό οξύ Κιτρικό οξύ		
Απολυμαντικά	Ενώσεις του χλωρίου	Υγρή χλωρίνη Υποχλωριώδες νάτριο Χλωραμίνες	Επιφάνειες, σκεύη, νερό
	Κατιονικά τασιενεργά	Τεταρτοταγή άλατα αμμωνίου	Συνδυάζουν καθαριστική και απολυμαντική δράση
	Αμφοτερικά τασιενεργά	Υδατικά διαλύματα υποκαταστημένων αμινοξέων	Συνδυάζουν καθαριστική και ελαφρά απολυμαντική δράση
	Γλυοξάλη	Αιθανεδιάλη (αλδεϋδη)	Απολύμανση γενικών επιφανειών, και ειδικά για κουζίνες
	Πολυεξανίδιο	Διγουανίδες	Απολύμανση επιφανειών Ευρεία δράση Δεν διαβρώνει
Αντισηπτικά	Μεθυλική αλκοόλη 70% Ισοπροπυλική αλκοόλη 70% Χλωρεξιδίνη 0,5%/ Αλκοόλη 70%		

ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ-ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΣΗ

Λοιπές Αντιμικροβιακές ουσίες

- Αντιβιοτικά
- Συντηρητικά
- Βακτηριοσίνες
- Αιθέρια έλαια
- Φαινολικές ουσίες
- Ένζυμα (λυσοζύμη)
- Άλατα
- Λοιπές ουσίες



Αντιβιογράμμα

Περισσότερο ανθεκτικά
(Πρωτεολοιμόνια)

Ενδοσπόρια βακτηρίων

Μυκοβακτηρίδια

Κύστεις πρωτοζώων

Βλαστικές μορφές πρωτοζώων

Gram-αρνητικά βακτήρια

Μύκητες, συμπεριλαμβανομένων
και των σπορίων τους

Ιοί χωρίς φάκελο

Gram-θετικά βακτήρια

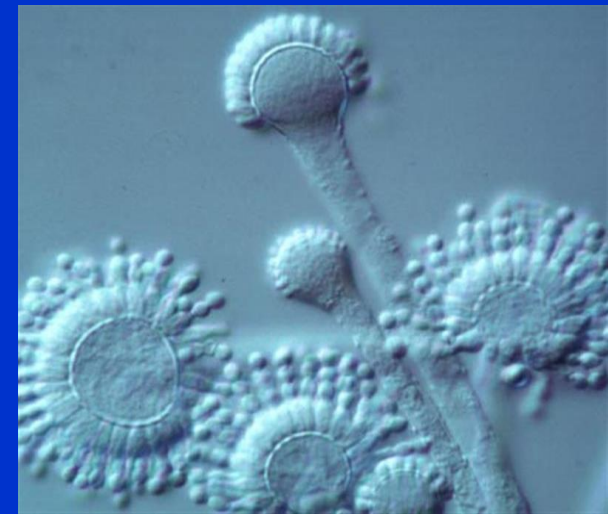
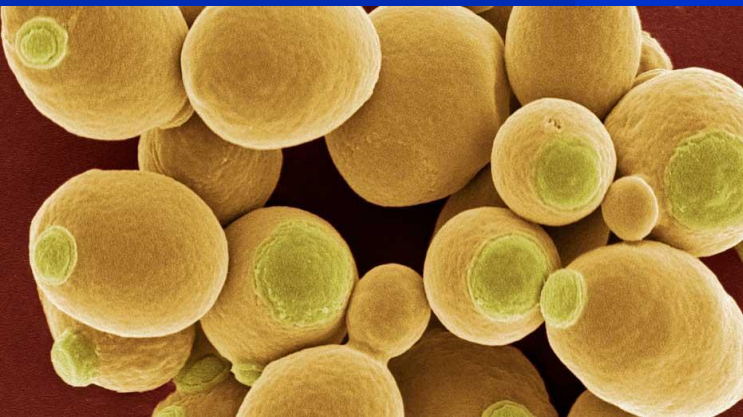
Ιοί με φάκελο

Λιγότερο ανθεκτικά

Εικόνα 1. Βαθμός αντοχής των μικροοργανισμών σε χημικά βιοκτόνα.

ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑ

- ΜΥΚΗΤΕΣ (μούχλες - molds) : ευκαρυωτικοί, πολυκύτταροι → σχηματίζουν μυκήλια
- ΖΥΜΕΣ (yeasts): ευκαρυωτικοί μονοκύτταροι οργανισμοί (αν και υπάρχουν και διμορφικές ζύμες/μύκητες)
- Μ/οι αποσυνθετικοί (διαθέτουν ποικιλία αποσυνθετικών ενζύμων)
- Μ/οι με πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία (κρασί, μπύρα, τυρί, αντιβιοτικά, βιταμίνες, πολυμερή)
- Υπάρχουν παντού στη φύση (έδαφος-αέρας-νερό)
- Παθογόνοι μύκητες → παράγουν μυκοτοξίνες (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*)
- Δεν υπάρχουν τροφοπαθογόνες ζύμες για τον άνθρωπο (όχι μέσω της τροφής)
- Είναι αερόβιοι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε όξινο pH, χαμηλή aw, και σε περιβάλλοντα όπου τα βακτήρια αναπτύσσονται δύσκολα ή καθόλου



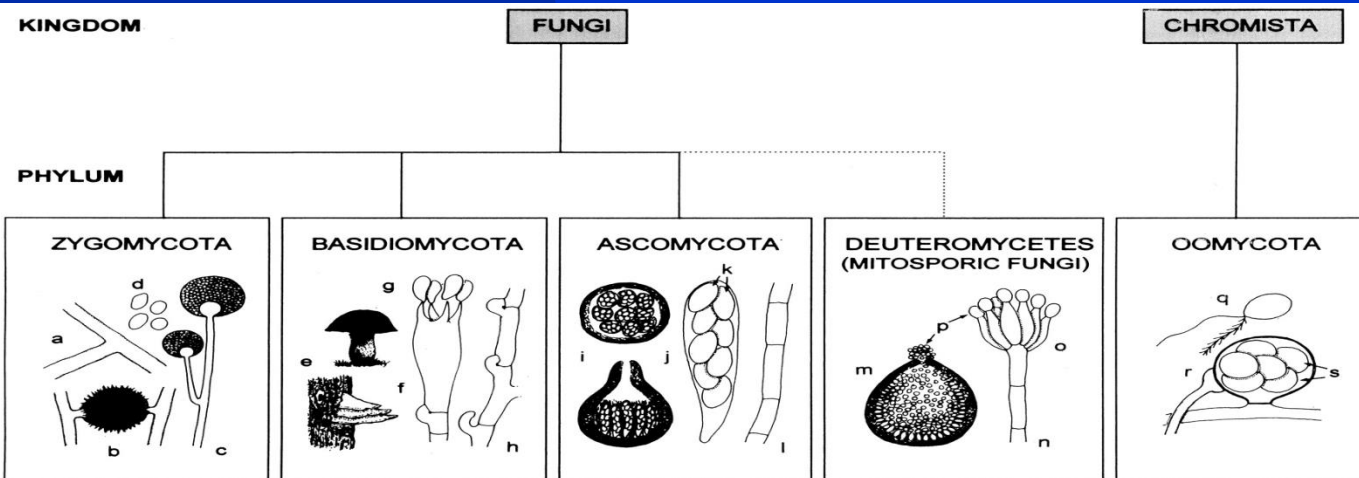
ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑ

Κατηγορίες Μυκήτων:

- Ασκομύκητες (σχηματίζουν ασκοσπόρια, έχουν φολιδωτό κυτταρικό τοίχωμα)
- Βασιδιομύκητες (φολιδωτό κυτταρικό τοίχωμα, δικάρυες υφές-διπλοί πυρήνες)
- Ζυγομύκητες (νηματοειδείς μύκητες χωρίς εγκάρσια διαφράγματα, σχηματίζουν ζυγοσπόρια με σύζευξη γαμετών)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Σύγκριση επιλεγμένων χαρακτηριστικών μυκήτων και βακτηρίων.

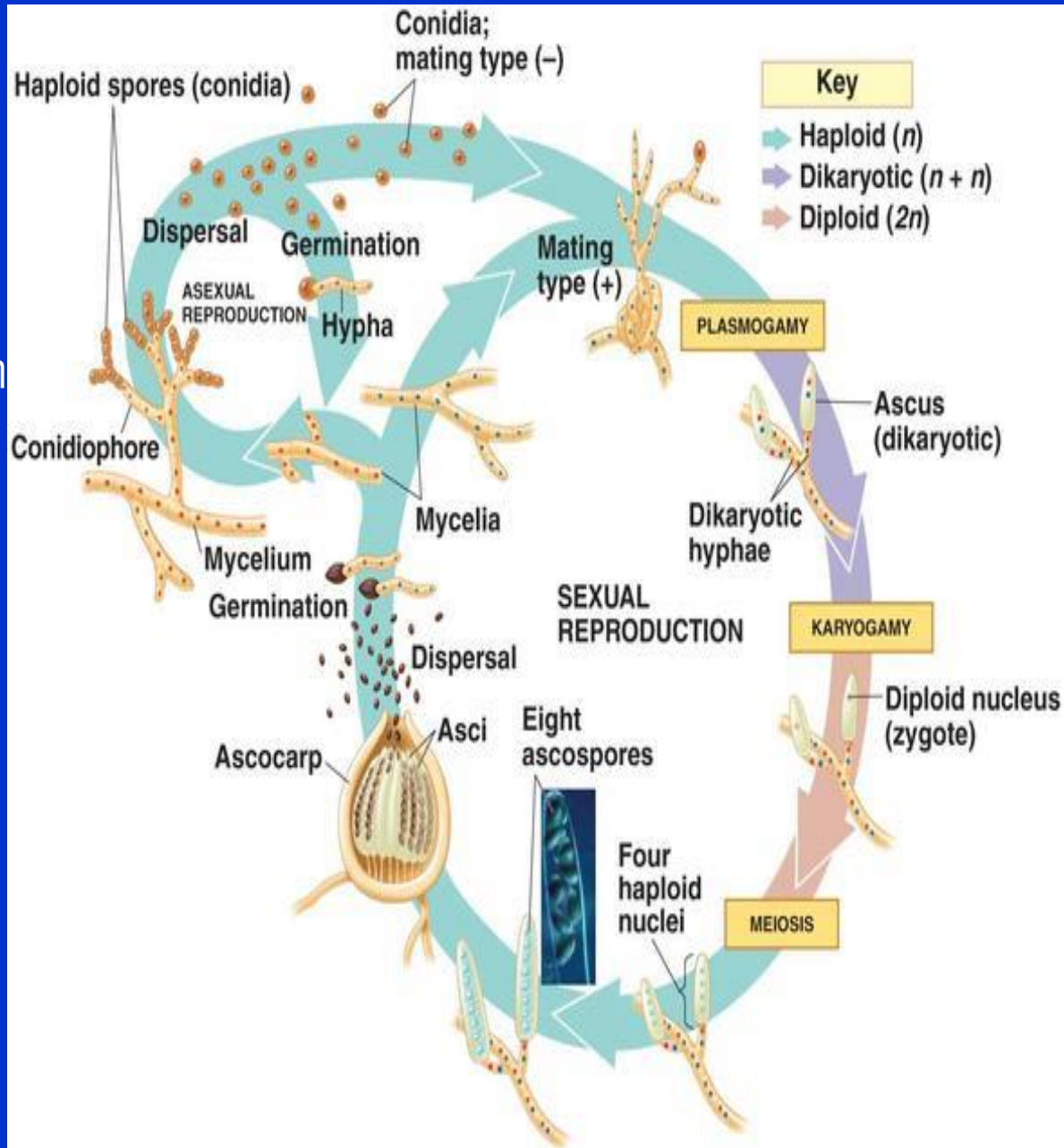
	Μύκητες	Βακτήρια
Τύπος κυττάρου	Ευκαρυωτικό	Προκαρυωτικό
Κυτταρική μεμβράνη	Υπάρχουν στερόλες	Δεν υπάρχουν στερόλες, εκτός από το <i>Mycoplasma</i>
Κυτταρικό τοίχωμα	Γλυκάνες, μαννάνες, χιτίνη (όχι πεπτιδογλυκάνη)	Πεπτιδογλυκάνη
Σπόρια	Σεξουαλικά και ασεξουαλικά αναπαραγωγικά σπόρια	Ενδοσπόρια (όχι αναπαραγωγικά)
Μεταβολισμός	Μόνο ετερότροφοι, αερόβιοι και δυνητικά αναερόβιοι	Ετερότροφα, αυτότροφα, αερόβια, δυνητικά αναερόβια, αυστηρώς αναερόβια



Αναπαραγωγή μυκητών

Α. Αγενής αναπαραγωγή

- Σε κατώτερους μύκητες, άνευ σύζευξης κυττάρων-γαμετών
- Διαίρεση με μίτωση σε 2 θυγατρικούς πυρήνες
- Αναπαραγωγικά κύτταρα υπό μορφή σπόρων → απελευθέρωση → νέο κύτταρο
- Σπορειαγγεία μυκήτων
- Κονίδια/ κονιδοσπόρια
- Βλαστοσπόρια
- Θαλλοσπόρια μυκητών
- Οι ζύμες πολλαπλασιάζονται συνήθως με εκβλάστηση σπόρων



Αναπαραγωγή μυκητών

Είδη Σπορίων Μυκήτων

A) Αφυλετικά σπόρια:

- Κονιδιοσπόρια (σε κονίδια)
- Σπορειαγγειασπόρια (σε σπορειάγγεια)
- Ζωοσπόρια (σπορειαγγειασπόρια με μαστίγιο), σε υδρόβιους μύκητες και άλγη
- Αρθροσπόρια (από βλαστικά κύτταρα)
- Χλαμυδοσπόρια (από βλαστικά κύτταρα)
- Βλαστοσπόρια/θαλλοσπόρια (από βλαστικά κύτταρα)

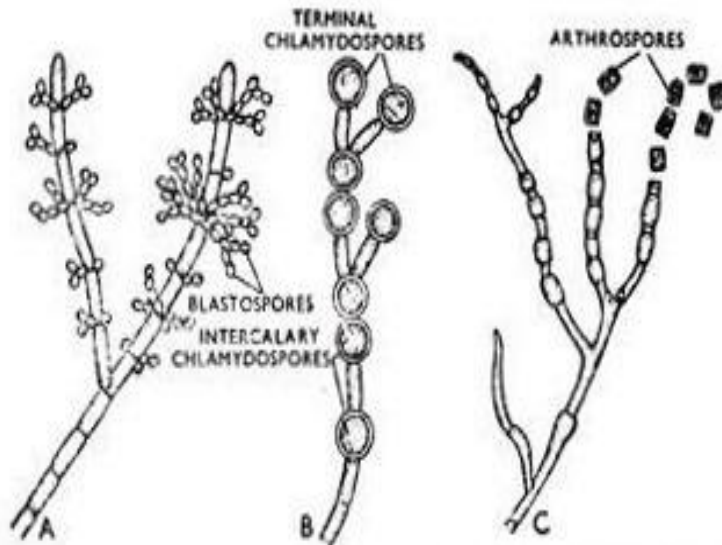
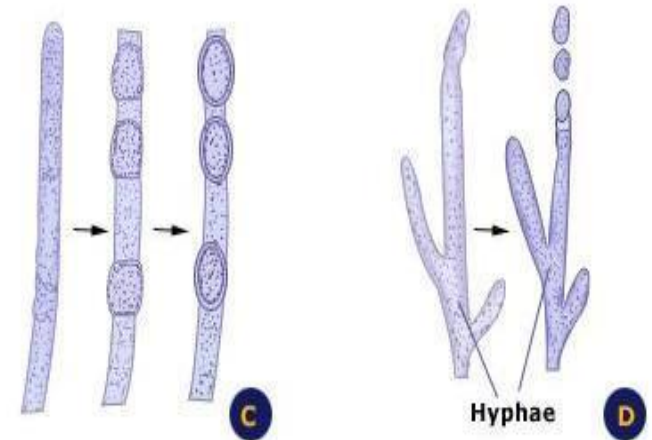
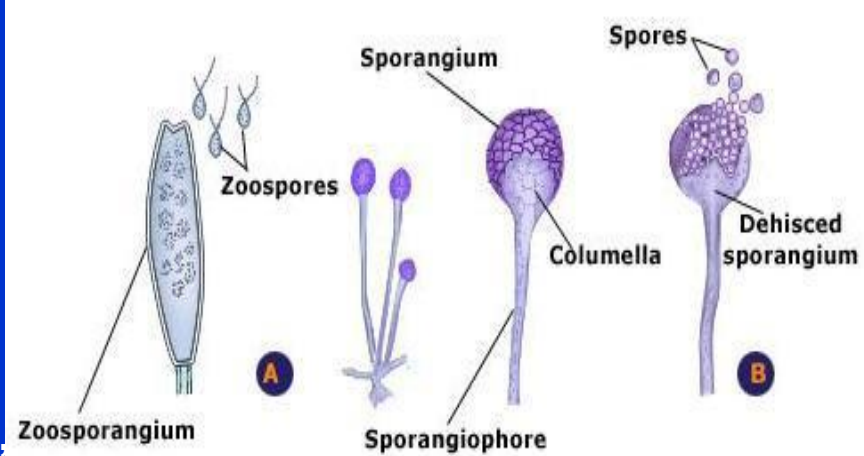
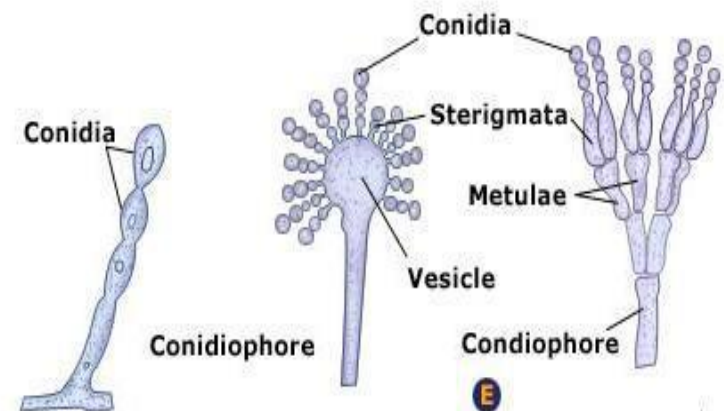


Fig. 303. Various types of spores. A. Blastospores. B. Chlamydospores. C. Arthrospores.



Αναπαραγωγή μυκητών

Είδη Σπορίων Μυκήτων

Α) Φυλετικά σπόρια:

- Βασιδιοσπόρια (σε βασιδία)
- Ασκοσπόρια (σε ασκούς)
- Ωοσπόρια (σε βλαστικά κύτταρα) σε υδρόβιους μύκητες και άλγη

Schematic outline of the classification of H.C.I Gwynne-Vaughan and B. Barnes (1926) :

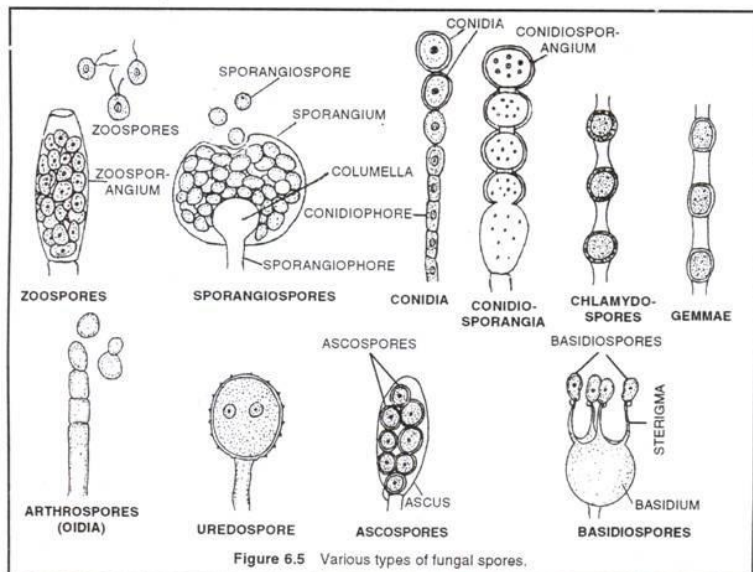
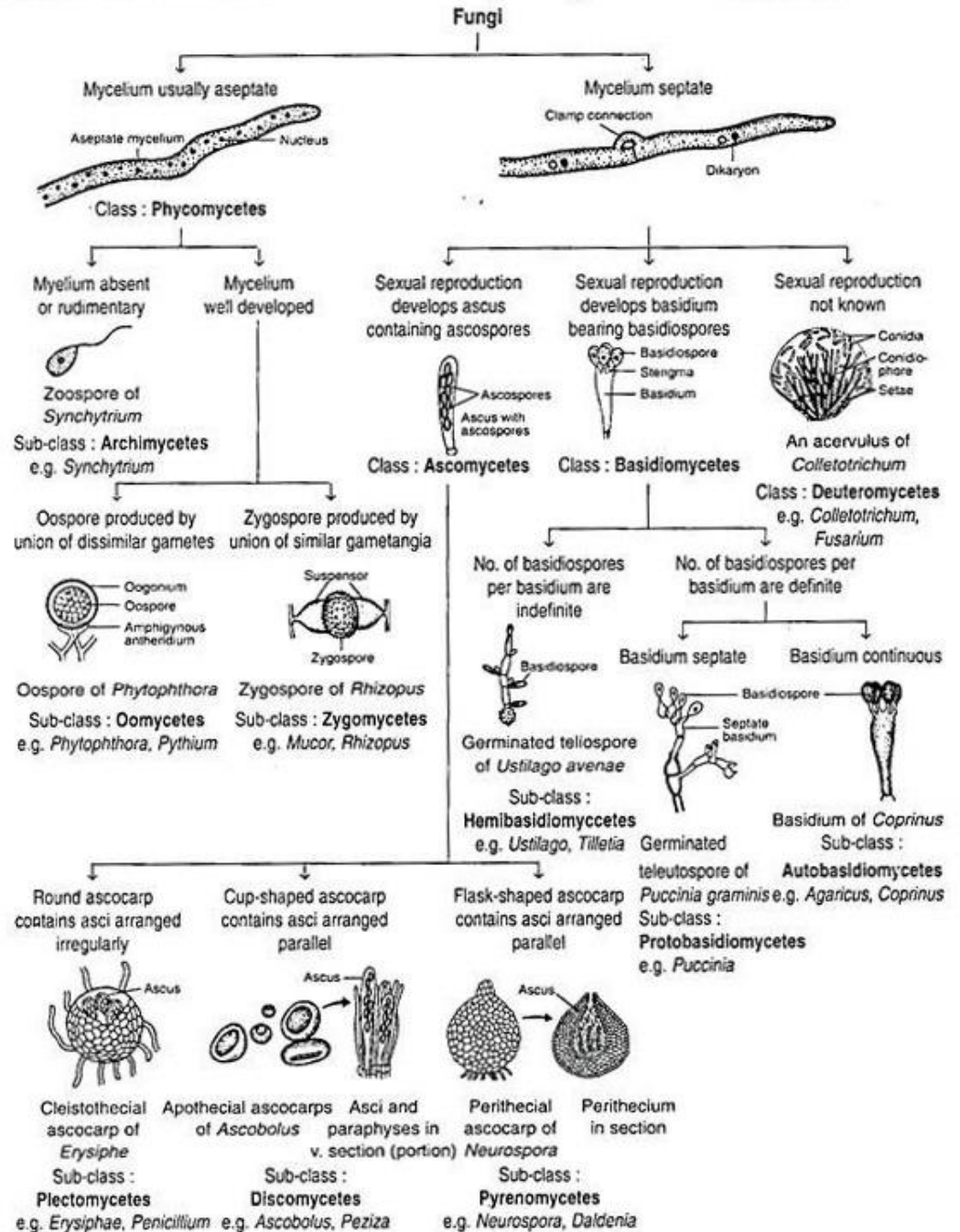


Figure 6.5 Various types of fungal spores.

Αναπαραγωγή μυκητών

Β.Εγγενής αναπαραγωγή

- Σύζευξη γαμετών: πλασμογαμία, καρυογαμία
- Πλανογαμετική σύζευξη
- Γαμεταγγειακή επαφή
- Γαμεταγγειακή σύζευξη
- Σπερματογαμία
- Σωματογαμία

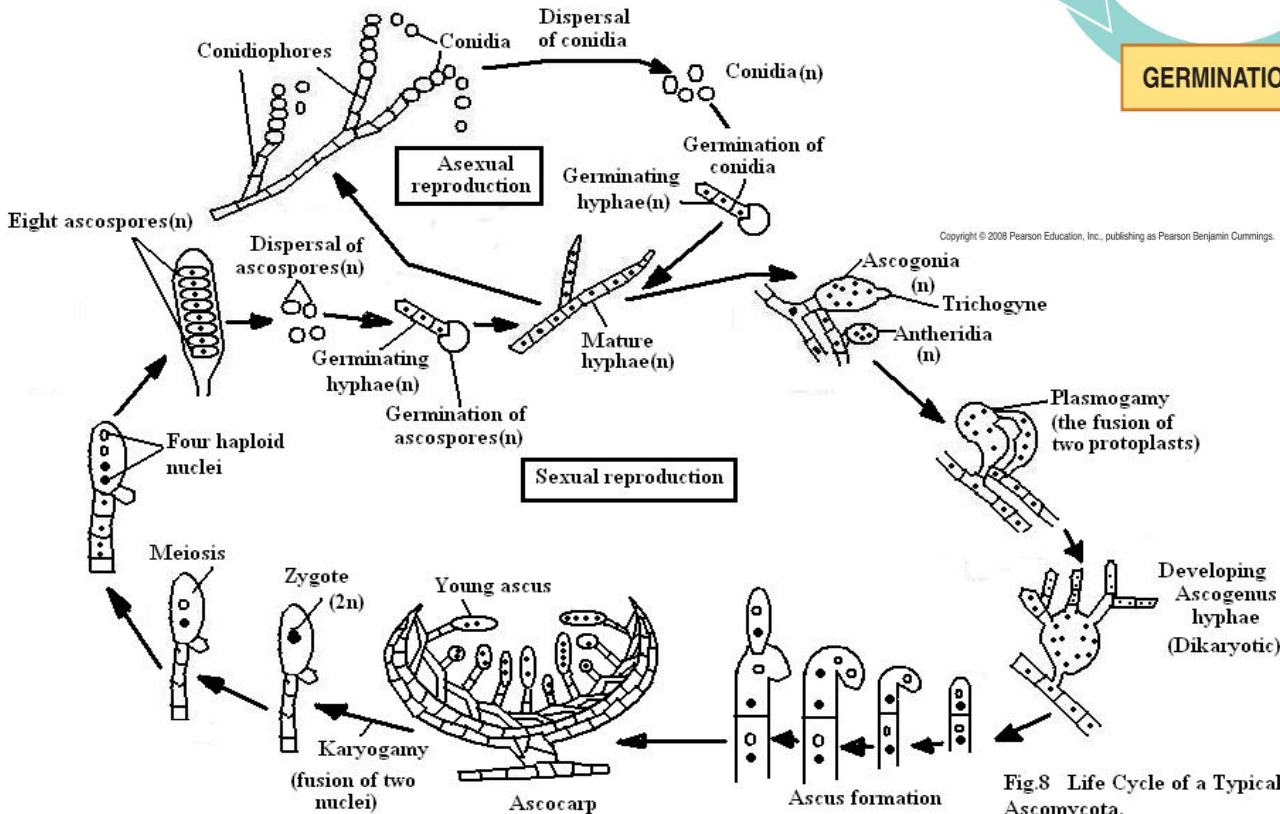
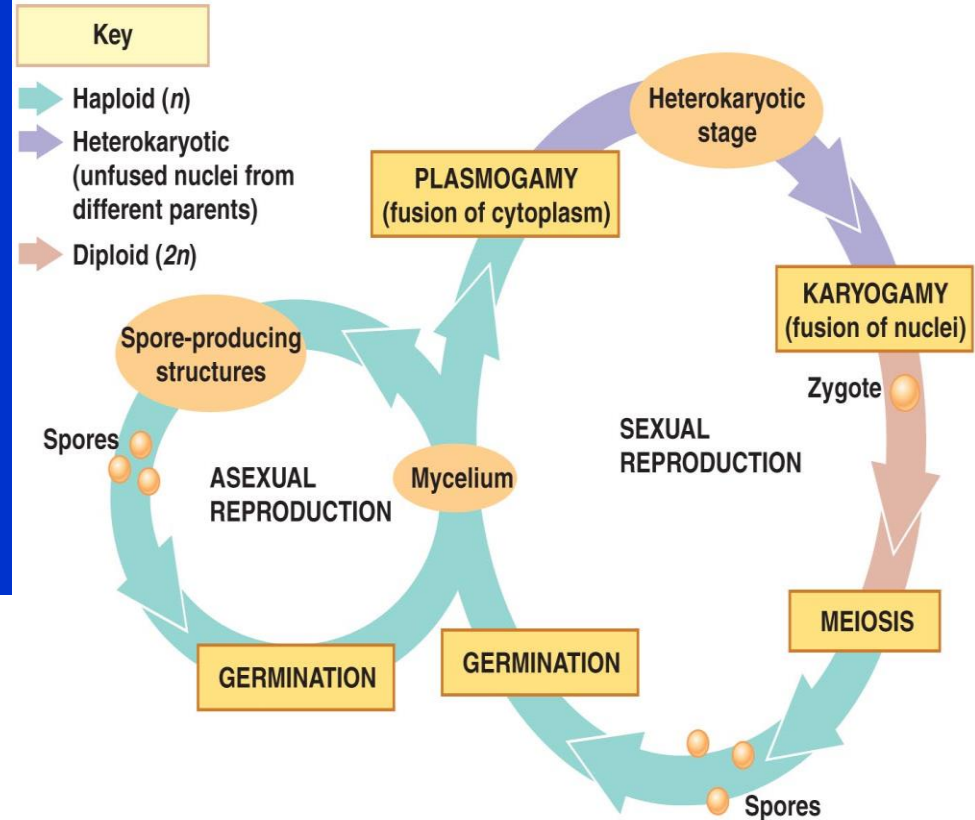
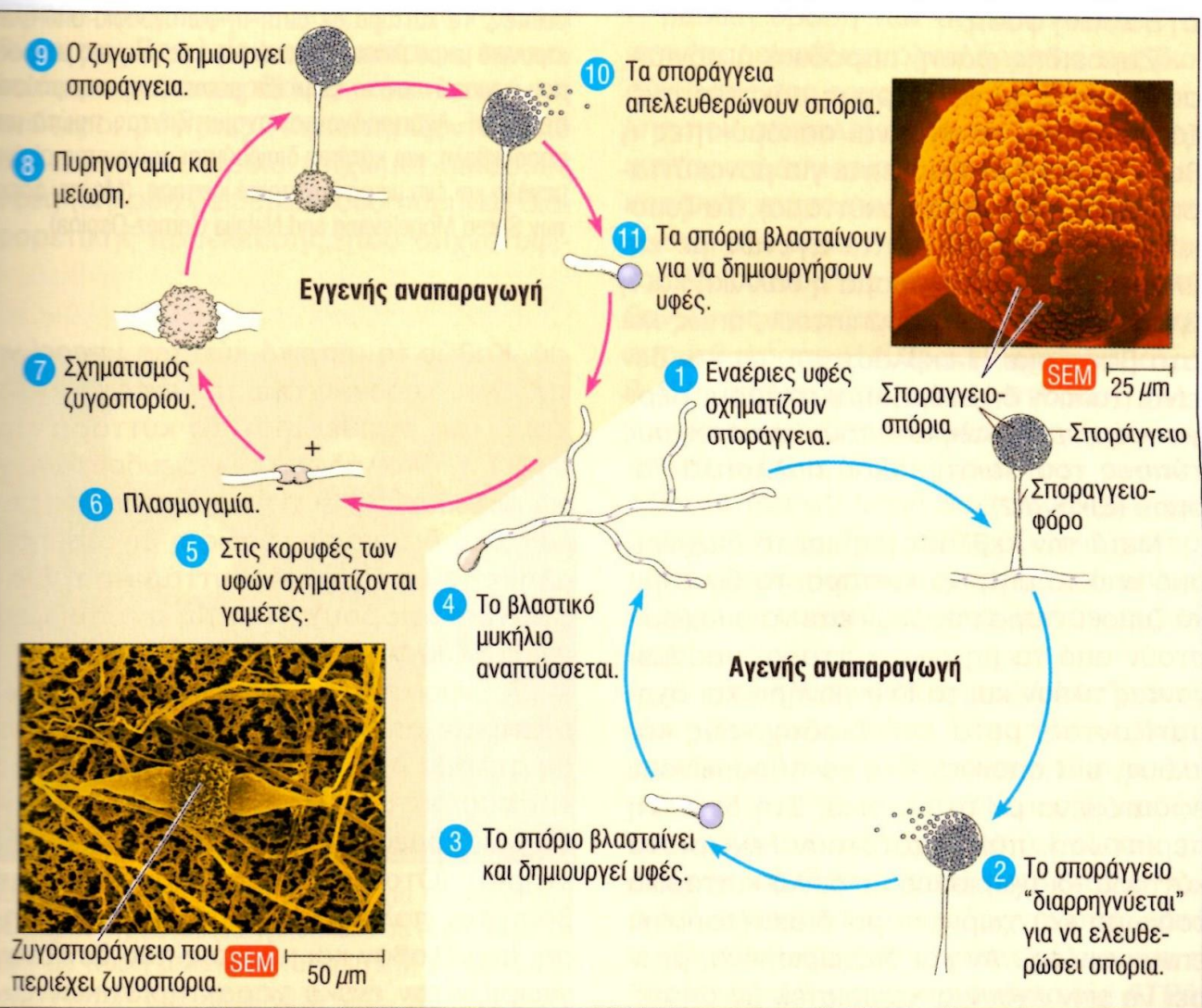


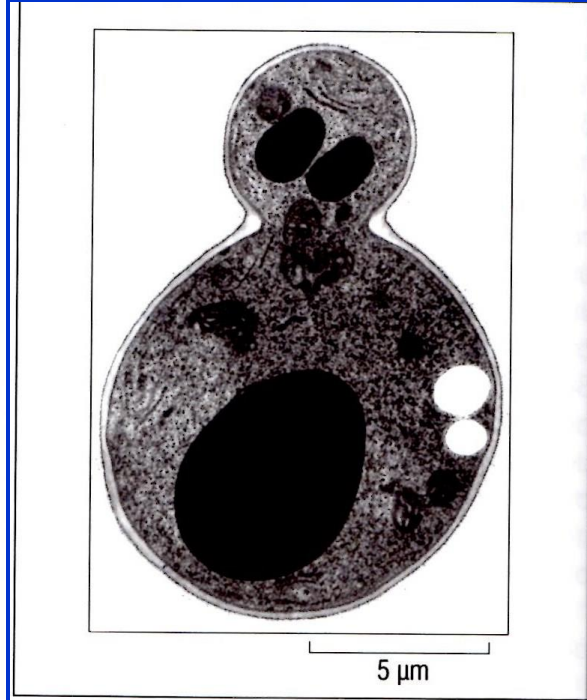
Fig.8 Life Cycle of a Typical Ascomycota.

ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑ

Αναπαραγωγή μυκήτων



Εικόνα 1. Κύκλος ζωής του *Rhizopus*, ενός ζυγομύκητα. Ο μύκητας, στις περισσότερες περιπτώσεις, αναπαράγεται αγενώς. Για τη σεξουαλική αναπαραγωγή είναι απαραίτητα δύο στελέχη του μύκητα (που χαρακτηρίζονται + και -).



Εικόνα 2. Οι ζυμομύκητες είναι απλοί, αυτόνομοι ευκαρυώτες. Τα κύτταρα σε αυτή τη φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι κύτταρα μαγιάς της μπύρας, που φουσκώνουν το ψωμί και μετατρέπουν το μούστο σε κρασί. Αναπαράγονται σχηματίζοντας πρώτα μια προσεκβολή, και κατόπιν διαίρονται ασύμμετρα σ' ένα μεγάλο και ένα μικρό θυγατρικό κύτταρο. (Με την άδεια των Soren Mogelsvang and Natalia Gomez-Ospina).

ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑ

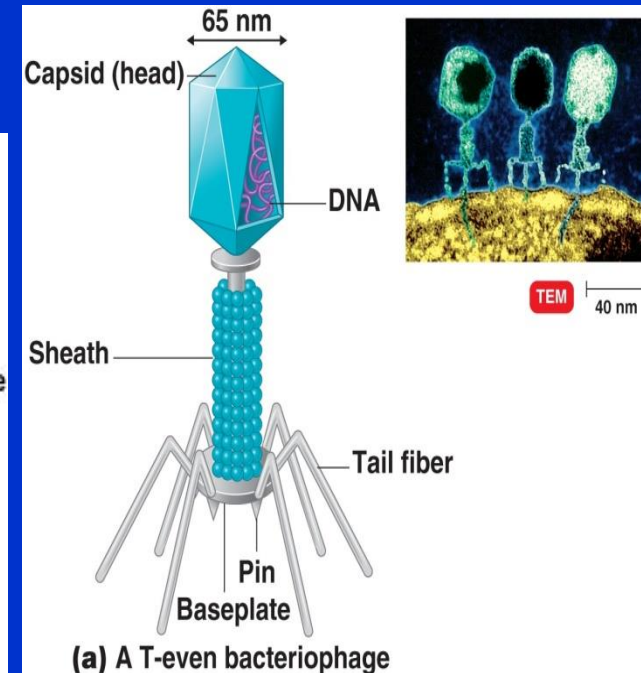
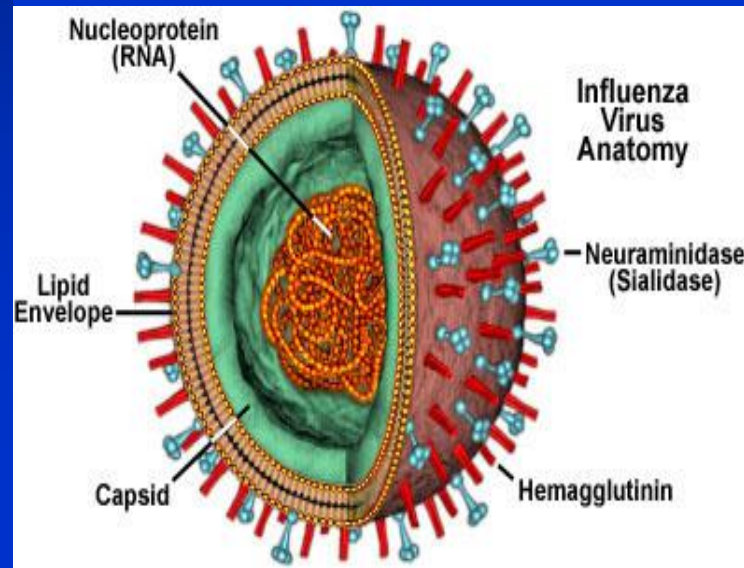
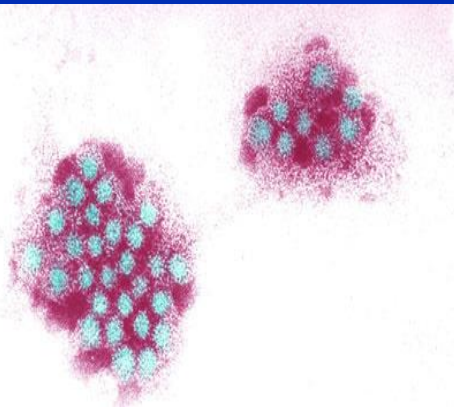
Διμορφισμός μυκήτων

- Πολλοί μύκητες είναι διμορφικοί, δηλαδή αναπτύσσονται άλλοτε ως μονοκυτταρικοί (ζυμομύκητες) και άλλοτε ως πολυκυτταρικές νηματοειδείς υφές (μυκήλια), ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες.
- Παράδειγμα 1: *Candida albicans* (παθογόνος μύκητας-ζύμη), είναι ζυμομύκητας σε θερμοκρασία ανθρώπινου σώματος (37C), ενώ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι νηματώδης μύκητας
- Παράδειγμα 2: *Yarrowia lipolytica*, μονοκυτταρική ζύμη που διασπά αλκάνια και λιπαρές ουσίες. Αναπτύσσεται και ως νηματώδες μυκήλιο, αλλά χωρίς να διασπά τα αλκάνια
- Παράδειγμα 3: *Histoplasma duboisii*, προκαλεί τη νόσο ιστοπλάσμωση σε μορφή ζυμομύκητα (μονοκύτταρης ζύμης) στο ανθρώπινο σώμα. Στο περιβάλλον όμως αναπτύσσεται ως νηματώδης μύκητας που παράγει κονίδια, τα οποία εισέρχονται μέσω πνευμόνων στο ανθρώπινο σώμα (όπου μετατρέπονται σε ζυμομύκητα)

Ιολογία

Χαρακτηριστικά των Ιών:

- Ατελή σωματίδια χωρίς κυτταρική οργάνωση
- Το ιϊκό σωματίδιο περιέχει μονόκλωνο DNA ή RNA, και ένα πρωτεϊνικό περίβλημα. Ενίοτε καλύπτεται εξωτερικά από έναν πρωτεϊνικό φάκελο
- Δεν έχουν πυρήνα, οργανίδια και κυτταρική μεμβράνη
- Απαιτούν την παρουσία ζωντανών κυττάρων-ξενιστών, στα οποία εισβάλουν και των οποίων την κυτταρική λειτουργία (ένζυμα, οργανίδια) αξιοποιούν ώστε να αναπαραχθούν
- Υπάρχει μεγάλη εξειδίκευση των ιών ως προς το κύτταρο ξενιστή (μολύνουν αποκλειστικά ανθρώπινα, ζωικά, φυτικά ή και βακτηριακά κύτταρα)
- Μόλις αναπαραχθεί το ιϊκό σωματίδιο, υδρολύει και καταστρέφει τον ξενιστή
- Μέρη ιϊκού σωματιδίου: γονιδίωμα (DNA/RNA), καψίδιο (πρωτεϊνικό περίβλημα), μανδύας/φάκελος ή έλυτρο λιπιδικής φύσεως (αν υπάρχει)



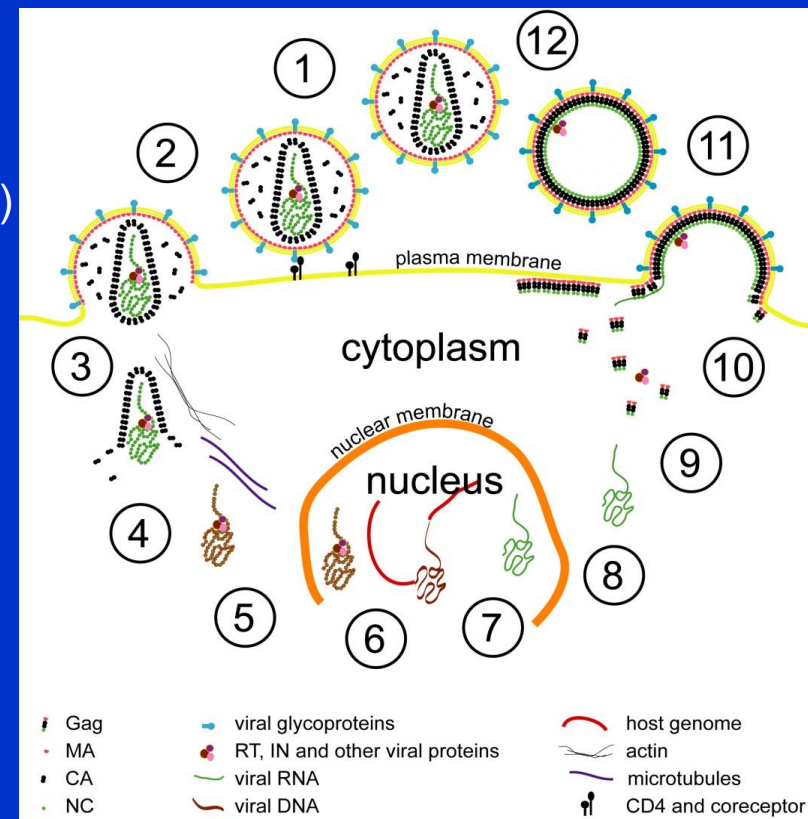
Ιολογία

Στάδια Επιμόλυνσης των ξενιστών από ιούς

- α) Προσκόλληση (αναστρέψιμο) σε υποδοχείς των κυττάρων-ξενιστών (π.χ. μεμβρανικές πρωτεΐνες)
- β) Διάτρηση του κυτταρικού τοιχώματος του κυττάρου-ξενιστή (μέσω ενζύμων ή μέσω ινιδίων της ουράς των βακτηριοφάγων)
- γ) Ένεση νουκλεϊκού οξέος στο κυτταρόπλασμα δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης

Φαινόμενο παρεμβολής(interference)

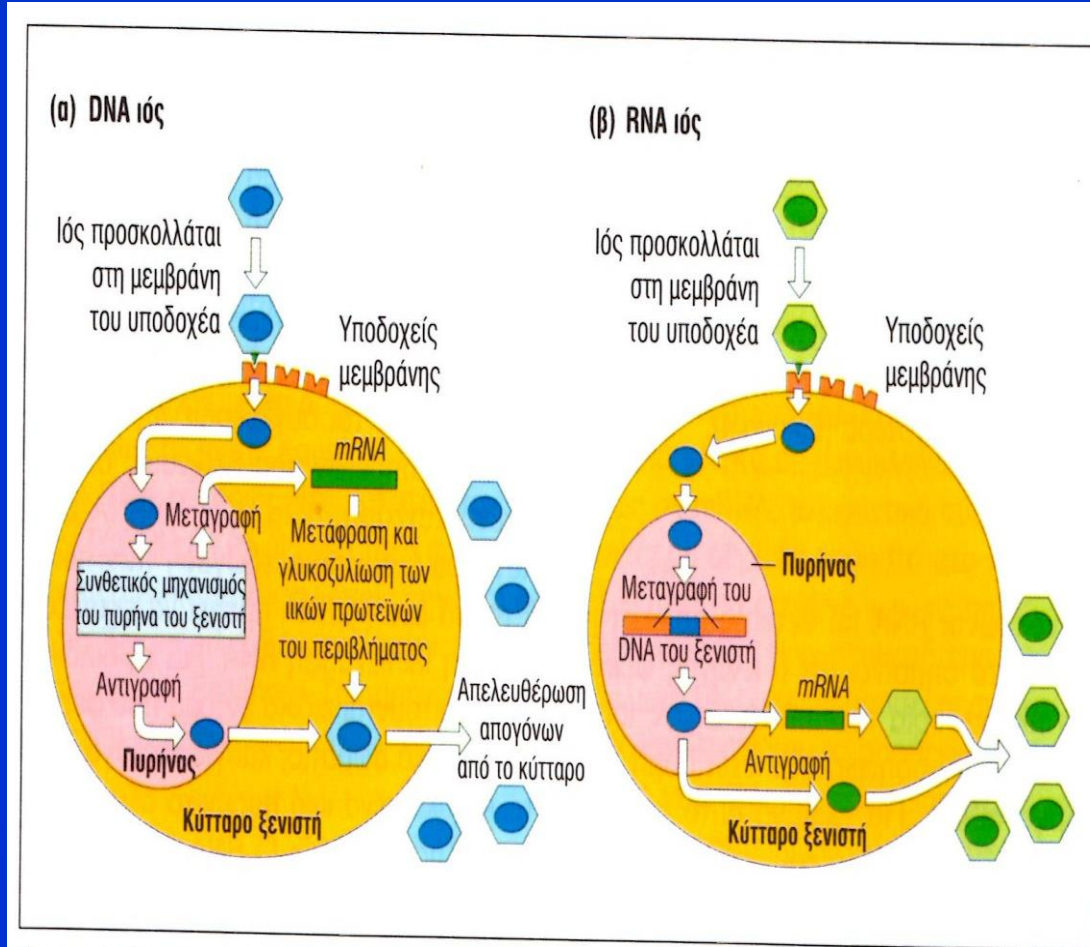
- Παρεμπόδιση μόλυνσης ξενιστών από άλλους ιούς → παραγωγή ιντερφερόνης (αναστολέας αναπαραγωγής ιών) → καταστροφή υποδοχέων του ξενιστή



Μολυσματικός κύκλος των ιών

Στάδια αναπαραγωγής των ιών στο κύτταρο-ξενιστή:

- α) Φάση έκλειψης: Δεν ανιχνεύονται σωματίδια ιών εκτός ή εντός του κυττάρου ξενιστή. Το ιϊκό γενετικό υλικό που έχει εγχυθεί στο κύτταρο-ξενιστή επιβάλλει το μηχανισμό βιοσύνθεσης του ιού και την παραγωγή νουκλεϊκών οξέων, πρωτεϊνών (και λιπιδίων) για την σύνθεση νέων ιϊκών σωματιδίων
- β) Φάση ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης: Συναρμολογούνται τα νουκλεϊκά οξέα και οι δομικές πρωτεΐνες των ιϊκών σωματιδίων και ανιχνεύονται πλέον ιϊκά σωματίδια στο κύτταρο-ξενιστή
- γ) Φάση Λύσης και Απελευθέρωσης των ιϊκών σωματιδίων: επέρχεται διάρρηξη του κυττάρου-ξενιστή και απελευθέρωση των νέων ιϊκών σωματιδίων στο περιβάλλον/τρόφιμο/βιολογικό υλικό



Εικόνα 4. Μολυσματικός κύκλος. Ο τρόπος που οι DNA και RNA ιοί εισβάλλουν και μολύνουν τα κύτταρα του ξενιστή. **α.** Οι DNA ιοί, όπως οι ερπητοϊοί, έχουν το δικό τους DNA, και χρησιμοποιούν μόνο τον κυτταρικό μηχανισμό του ξενιστή για να δημιουργήσουν περισσότερο DNA και ιϊκές πρωτεΐνες και γλυκοπρωτεΐνες. Ακολούθως, αυτές συνθέτουν νέα ιϊκά σωματίδια. **β.** Οι RNA ρετροϊοί (π.χ. ο HIV) πρώτα δημιουργούν ιϊκό DNA χρησιμοποιώντας την Αντίστροφη Μεταγραφάση τους, εισάγουν αυτό το DNA εντός του γενετικού υλικού του ξενιστή, έτσι ώστε να μπορεί να μεταγραφεί σε ιϊκό RNA, και, ακολούθως, μεταφράζουν ορισμένο από το μεταγράφο RNA σε ιϊκές πρωτεΐνες. Μετά, η ιϊκή πρωτεΐνη και το RNA συνθέτουν νέα σωματίδια και απελευθερώνονται.

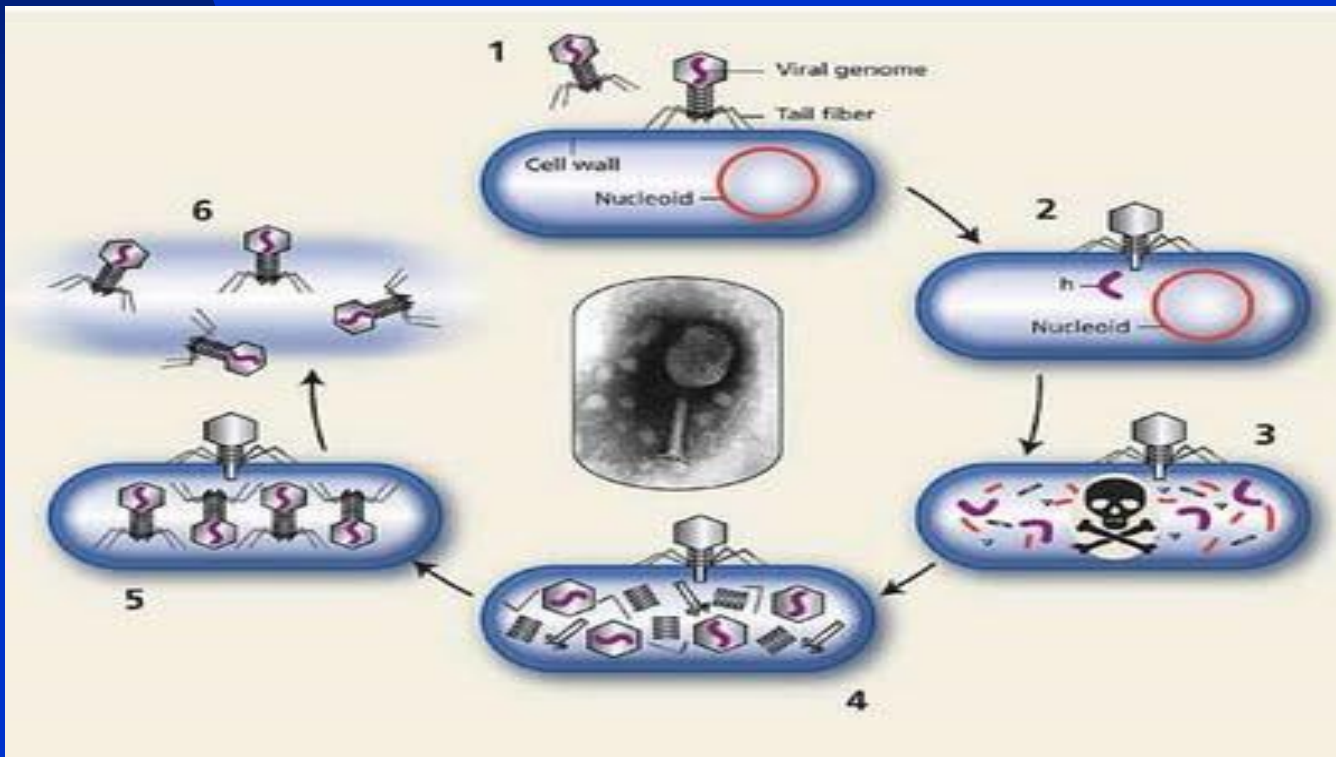
Αναπαραγωγή ιών

Στάδια αναπαραγωγής RNA-ιων(πολυομυελίτιδας)

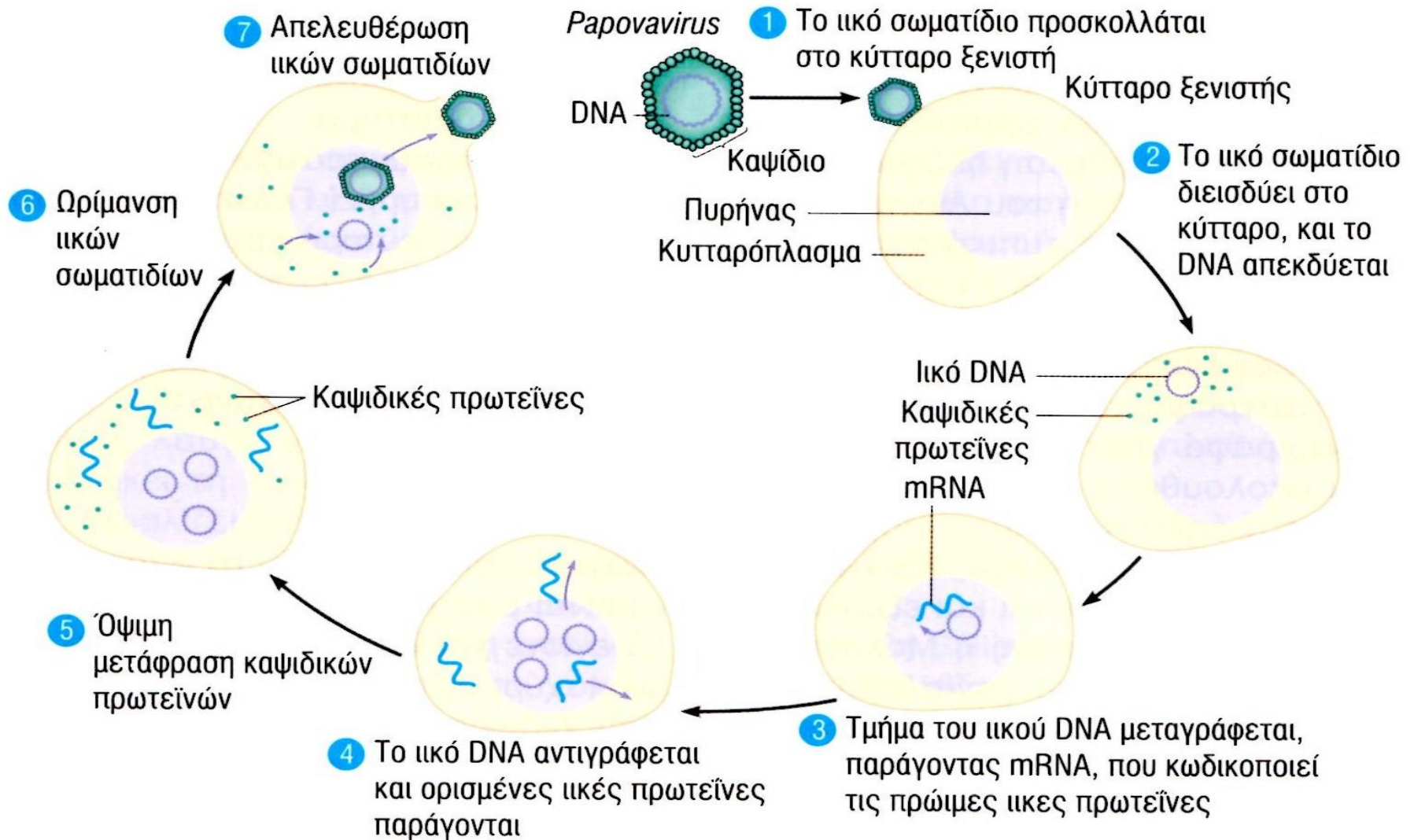
- Προσρόφηση→υποδοχείς→διείσδυση στην μεμβράνη και στο κυτταρόπλασμα→μεταγραφή RNA→σύνθεση πρωτεϊνών→γιγάντιο πολυπεπτίδιο
- Απελευθέρωση καψιδίου→λύση κυττάρου

Στάδια αναπαραγωγής DNA-ιών(αδενοϊός-καρκινογόνος)

- Προσρόφηση-διείσδυση , όπως οι RNA ιοί
- Μεταγραφή DNA→RNA→αναπαραγωγή γονιδιώματος → στον πυρήνα
- Σύνθεση πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα → επιστροφή στον πυρήνα για σύνθεση σωματιδίου



Αναπαραγωγή ιών



Εικόνα 3. Πολλαπλασιασμός ενός *Parovirus*, ενός DNA ιού.

Επίδραση φυσικοχημικών βιοχημικών/φυσικοχημικών παραγόντων στους ιούς

- Θερμοκρασία: καταστρέφει εύκολα τους ιούς (>60°C)
- Ακτινοβολία: δεν καταστρέφει τους ιούς σε δόσεις ακτινοβολίας που επιτρέπονται σε τρόφιμα
- Αλκοόλες/απολυμαντικά: μπορούν να αδρανοποιήσουν τους ιούς
- Οξέα : δεν επιδρούν στους ιούς
- Ένζυμα: δεν επιδρούν στους ιούς
- Άλατα: δεν επιδρούν στους ιούς
- Αντιβιοτικά (εκτός ριφαμπικίνης): δεν επιδρούν στους ιούς

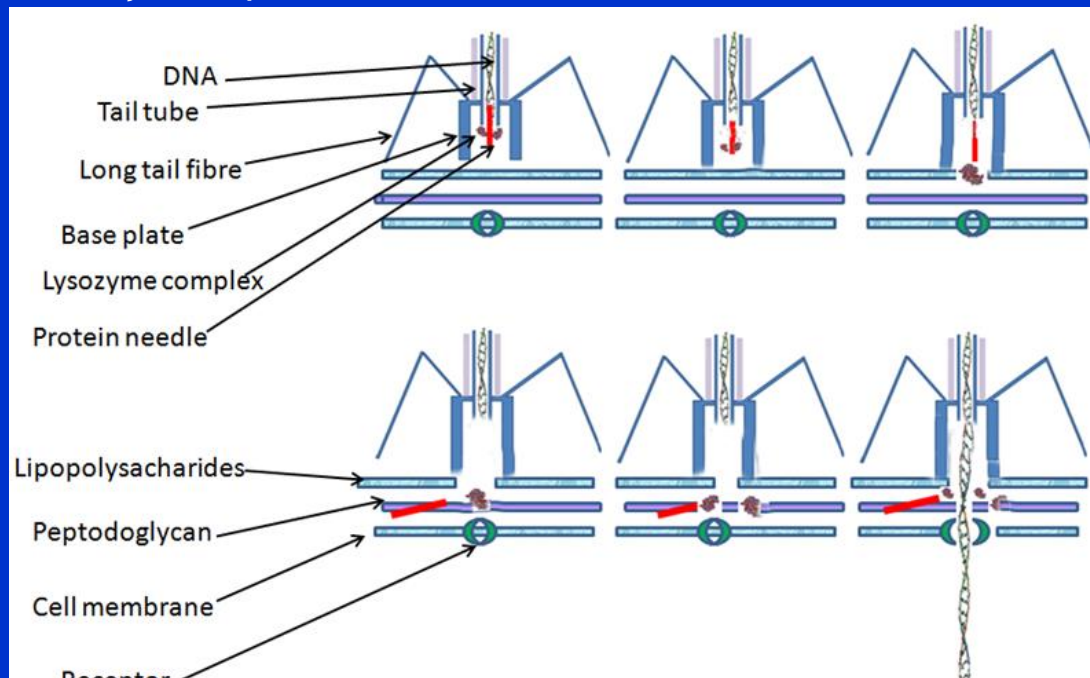
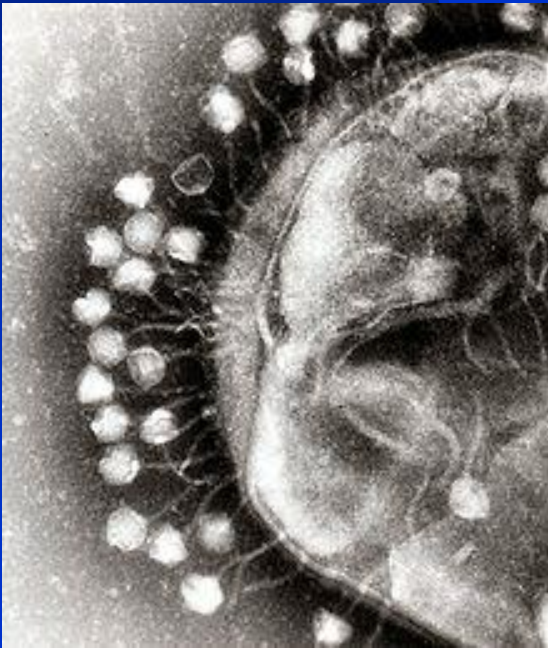
Για την αποφυγή προσβολής κυττάρων από ιούς μπορεί να:

- Εμποδιστεί η πρόσδεση του ιού στον ξενιστή
- Μπλοκαριστεί η αναπαραγωγή του ιϊκού γενετικού υλικού
- Γίνεται εναλλαγή των κυττάρων-στόχων ώστε να μην δημιουργούνται ευαίσθητοι ξενιστές (π.χ. εναλλαγή καλλιεργειών εκκίνησης ώστε να αντιμετωπίζονται προσβολές από βακτηριοφάγους)
- Για την καταστροφή ιών: θερμική επεξεργασία, αντιϊικά φάρμακα

Βακτηριοφάγοι

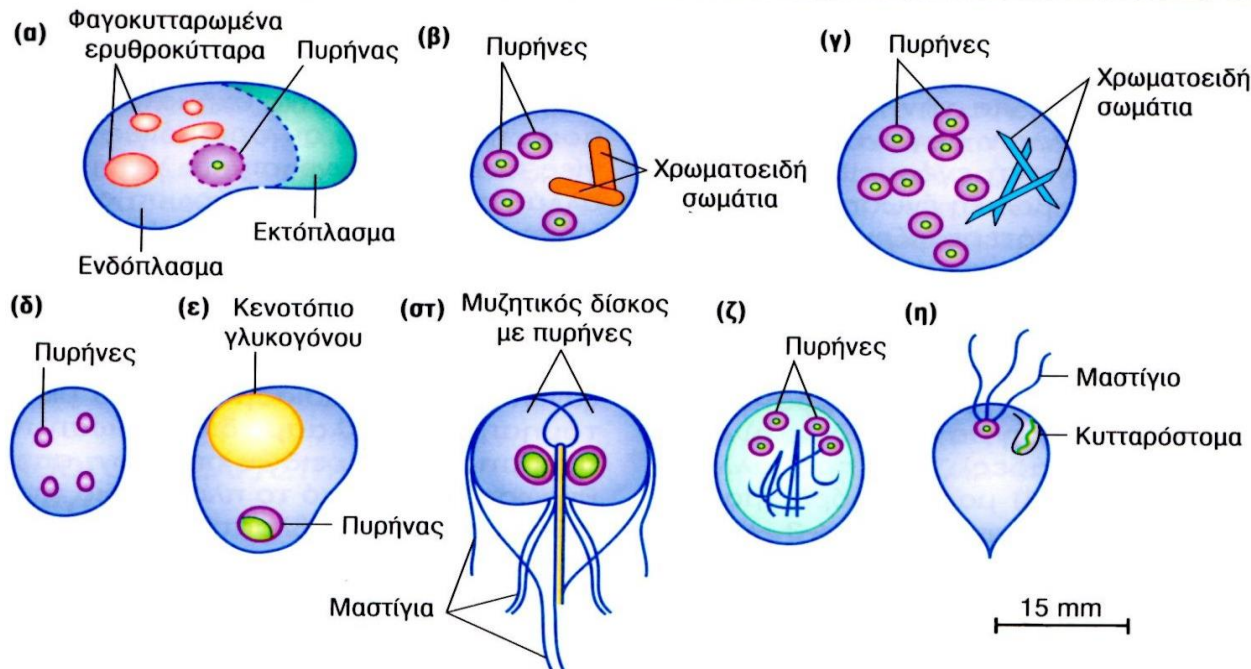
RNA/DNA φάγοι

- Ρόλος στα τρόφιμα:
- α) προσβολή ωφέλιμων καλλιεργειών εκκίνησης,
- Β) καταστροφή παθογόνων/αλλοιογόνων βακτηρίων
- Έγχυση του DNA μέσω ινιδίων της ουράς, η οποία μπορεί να συσπάται για τη διευκόλυνση της έγχυσης του γενετικού υλικού
- Λυτικοί και Λυσιγενείς φάγοι: Οι λυτικοί φάγοι καταστρέφουν το κύτταρο-ξενιστή μετά την αναπαραγωγή των ιϊκών σωματιδίων, ενώ οι λυσιγενείς βρίσκονται σε λανθάνουσα μορφή στο βακτηριακό φάκελο (κυτταρική μεμβράνη/κυτταρικό τοίχωμα) σε μορφή προφάγου, χωρίς να καταστρέφουν τον ξενιστή



Παρασιτολογία

- Παράσιτα: ευκαρυωτικά κύτταρα με δυνατότητα κίνησης που τρέφονται με ζωντανά κύτταρα φυτών, ζώων, ανθρώπων.
- Περιλαμβάνουν: (α) πρωτόζωα (μονοκυτταρικά), (β) σκώληκες/έλμινθες (πολυκυτταρικά)
- Ύπαρξη κύκλου ζωής με έναν ή περισσότερους ξενιστές (δεν έχουν αποκελιστικό ξενιστή όπως οι ιοί)
- Δημιουργία ανθεκτικών κύστεων σε λανθάνουσα κατάσταση
- Πρωτόζωα: Αγενής αναπαραγωγή με διχοτόμηση, οξειδωτική ή ζυμωτική διάσπαση τροφής, δυνατότητα κίνησης με ριζόποδα, μαστίγια, βλεφαρίδες
- Τρόποι μόλυνσης: στόμα, δέρμα, εισπνοή, γεννητικά όργανα, μέσω ωαρίων/πλακούντα
- Πολύ δύσκολη η καταπολέμηση παρασίτων, καθώς κρύβονται μέσα σε υγιή κύτταρα ζωικών/φυτικών ιστών



Εικόνα 1. Σχηματική αναπαράσταση ορισμένων εντερικών παρασίτων: α. τροφοζώιτης *Entamoeba histolytica* με φαγοκυτταρωμένο ερυθροκύτταρο· β. κύστη *E. histolytica*· γ. ώριμη κύστη *Entamoeba coli*· δ. ώριμη κύστη *Entodolimax nana*· ε. ώριμη κύστη *Iodamoeba buetschlii*· στ. τροφοζώιτης *Giardia lamblia*· ζ. ώριμη κύστη *G. lamblia*· η. τροφοζώιτης *Chilomastix mesnili*.

Παρασιτολογία

Στάδια Ζωής Πρωτόζων:

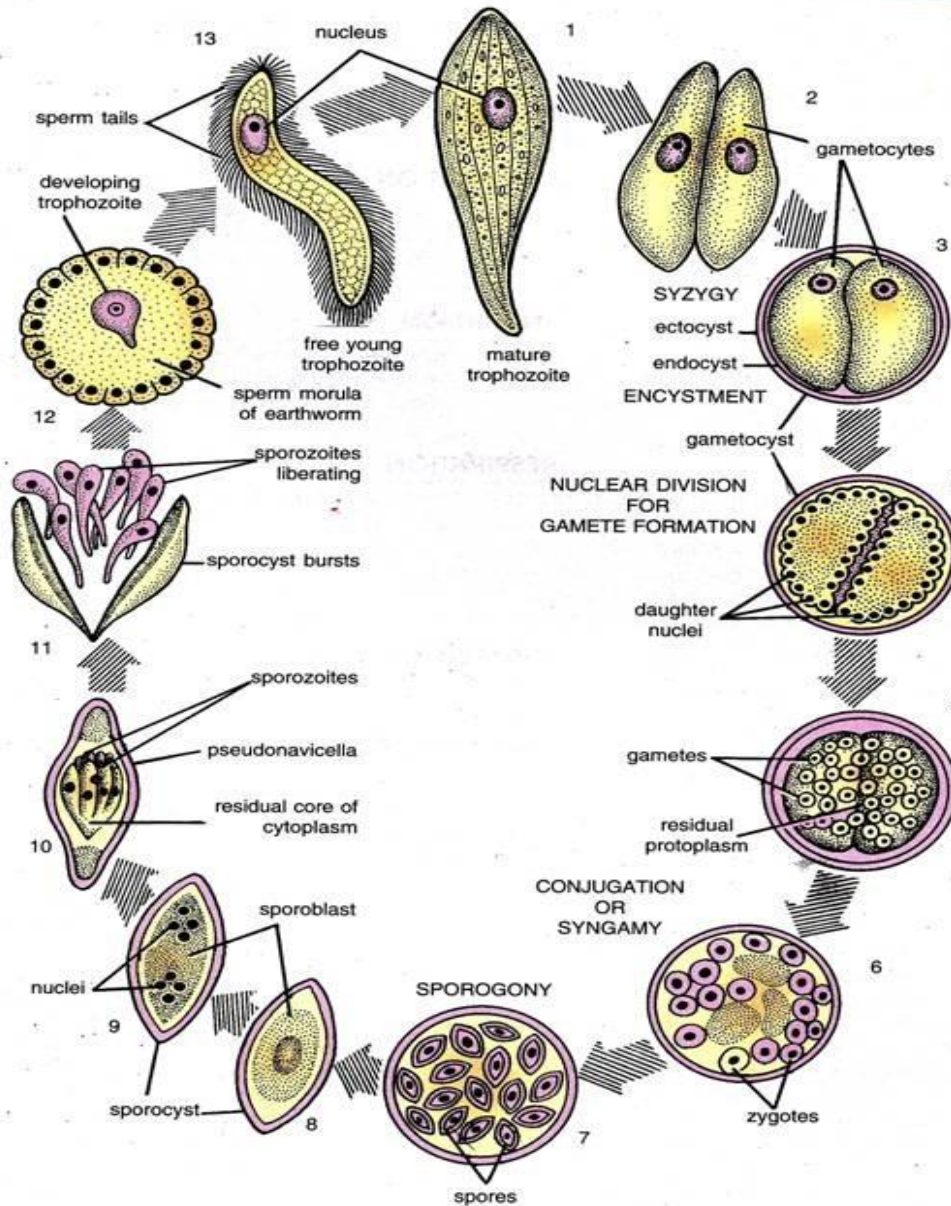
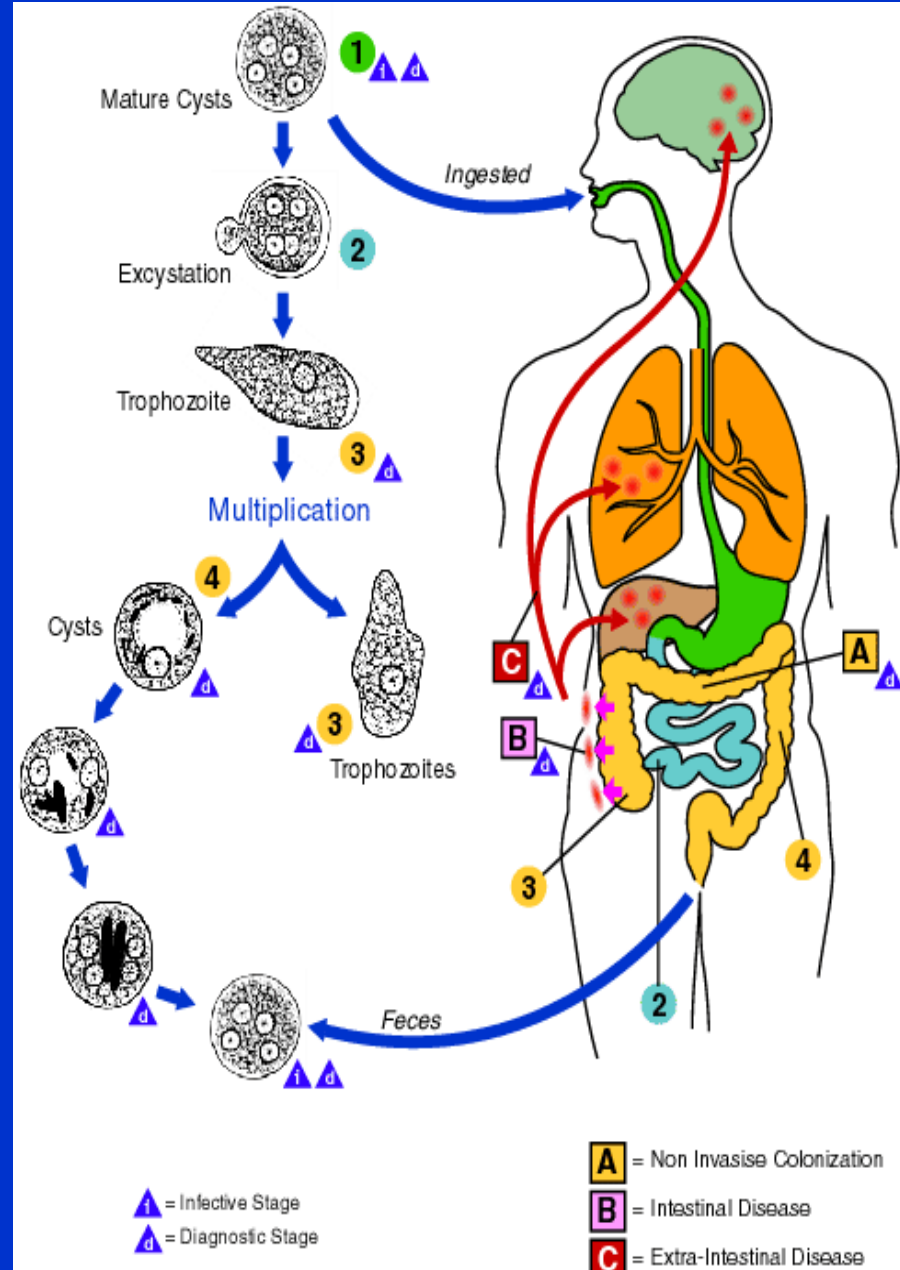


Fig. 17.4. *Monocystis*. Life cycle.



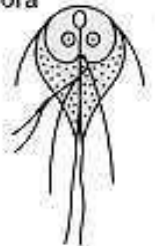

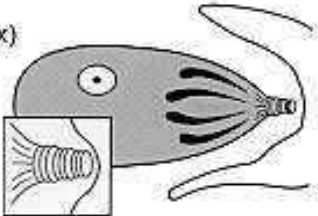

i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage

A = Non Invasive Colonization
B = Intestinal Disease
C = Extra-Intestinal Disease

Παρασιτολογία

Κυριότερα Παράσιτα Ανθρώπων και Ασθένειες που προκαλούν

Table 77-1. Classification of Parasitic Protozoa and Associated Diseases

Phylum	Subphylum	Representative Genera	Major Diseases Produced in Human Beings	Chapter
Sarcomastigophora (with flagella, pseudopodia, or both)	 Mastigophora (flagella)	<i>Leishmania</i>	Visceral, cutaneous and mucocutaneous infection	82
		<i>Trypanosoma</i>	Sleeping sickness, Chagas' disease	80
 Sarcodina (pseudopodia)	<i>Giardia</i>	Diarrhea	80	
	<i>Trichomonas</i>	Vaginitis	79	
	<i>Entamoeba</i>	Dysentery, liver abscess	81	
	<i>Dientamoeba</i>	Colitis	81	
Apicomplexa (apical complex)		<i>Naegleria and Acanthamoeba</i>	Central nervous system and corneal ulcers	81
		<i>Babesia</i>	Babesiosis	83
		<i>Plasmodium</i>	Malaria	83
		<i>Isospora</i>	Diarrhea	80
		<i>Sarcocystis</i>	Diarrhea	84
	<i>Cryptosporidium</i>	Diarrhea	84	
	<i>Toxoplasma</i>	Toxoplasmosis	84	
	Microspora	<i>Enterocytozoon</i>	Diarrhea	—
Ciliophora (with cilia)	—	<i>Balantidium</i>	Dysentery	80
Unclassified	—	<i>Pneumocystis</i>	Pneumonia	85

Παρασιτολογία

- Τρόποι μόλυνσης με παράσιτα

Routes by which humans acquire parasitic infections

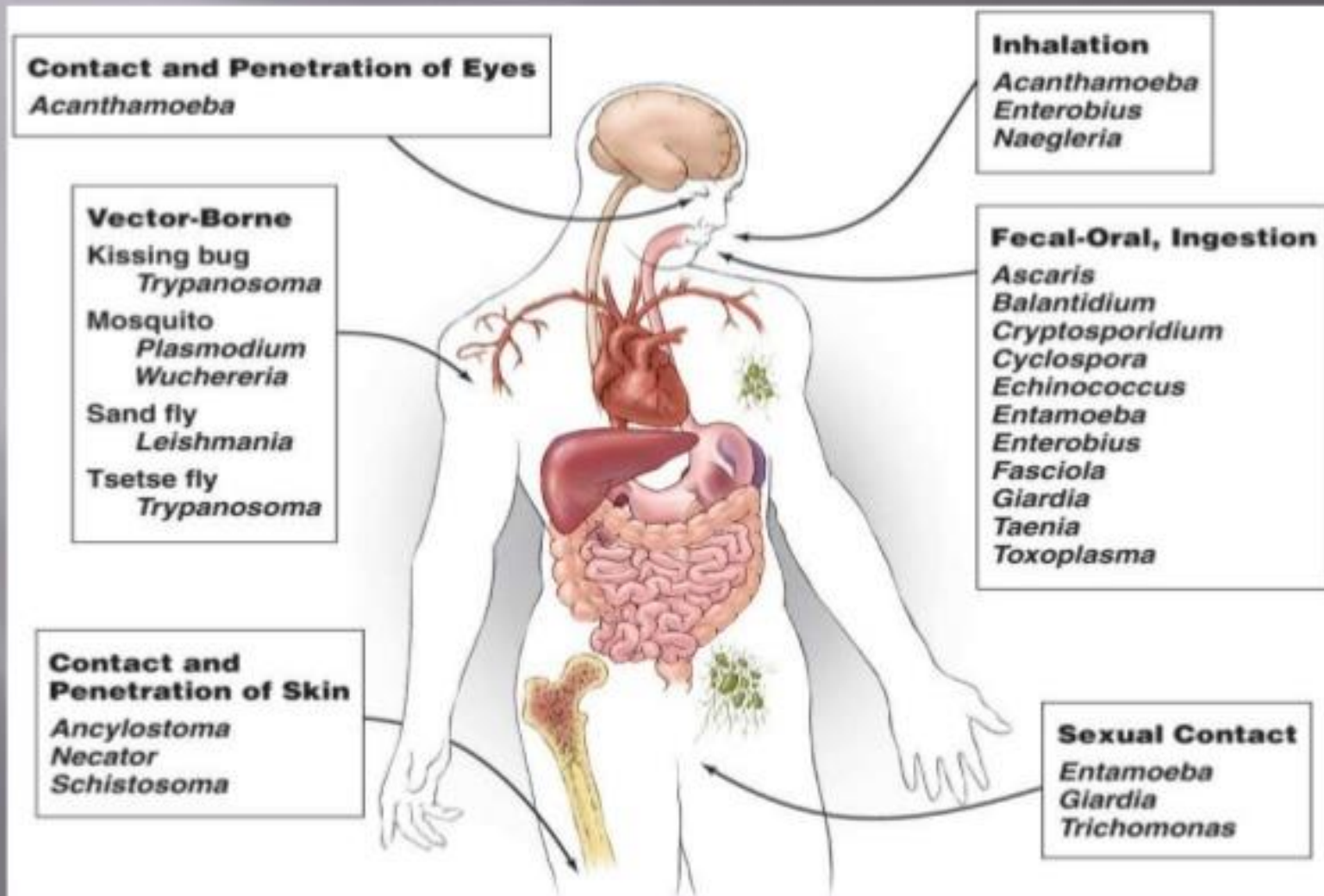


Figure 23.1

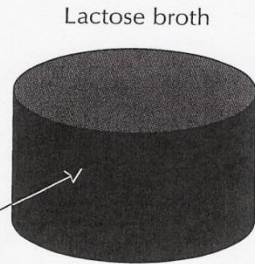
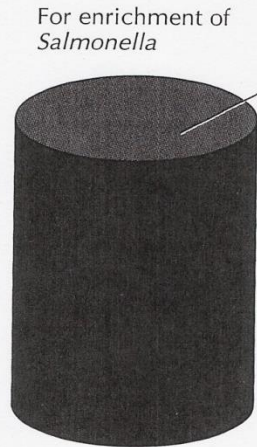
Μέθοδοι μικροβιολογικής ανάλυσης

Συμβατικές μέθοδοι μικροβιολογικής ανάλυσης

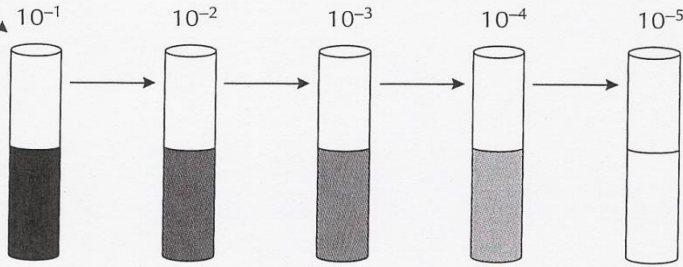
- **Χαρακτηριστικά:** ευρύ φάσμα εφαρμογών, αξιόπιστες αλλά χρονοβόρες και σχετικά επίπονες (αποτελέσματα μετά από 1-5 μέρες)
- **Προσδιορισμός αποικιών σε στερεό υπόστρωμα** (Καταμέτρηση/ανίχνευση σε τρυβλία έπειτα από επώαση)
- **Μέθοδος MPN (Most probable number technique)** (ανίχνευση ανάπτυξης σε δοκιμαστικούς σωλήνες διαδοχικών αραιώσεων με υγρό/στερεό υπόστρωμα, και στατιστική εκτίμηση του πιο πιθανού πληθυσμού)
- **Βιοχημικά τεστ** (για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων γενών/ειδών μικροβίων, με βάση της βιοχημικές/φυσιολογικές τους ιδιότητες, π.χ. τεστ οξειδάσης, καταλάσης, κοαγκουλάσης, υδρόλυση σακχάρων, τεστ ινδόλης, ανάπτυξη σε διαλύματα αλάτων, χολικών οξέων, διαφορετικές θερμοκρασίες, κλπ)

**Συμβατικές
μέθοδοι
ανάλυσης
(σχηματική
αναπαράσταση)**

The 50-ml sample contains ~10 million anaerobes, ~10,000 *E. coli* cells, 100,000 aerobes, unknown numbers of *Staphylococcus*, and ~10 *Salmonella* cells

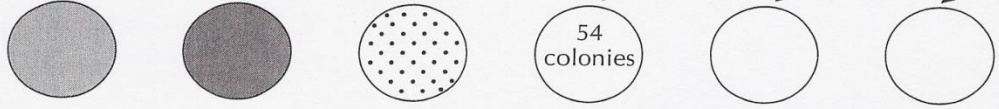


Streak on bismuth sulfite agar



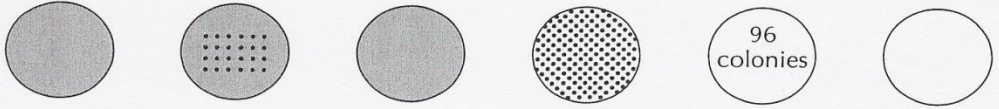
Dilution test tubes contain 9 ml of buffer and 1 ml of sample from the tube to its left; 0.1 ml is plated

Total plate count agar (aerobic incubation)



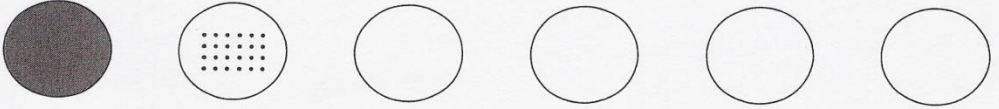
5.4×10^5 CFU/ml

Total plate count agar (anaerobic incubation)



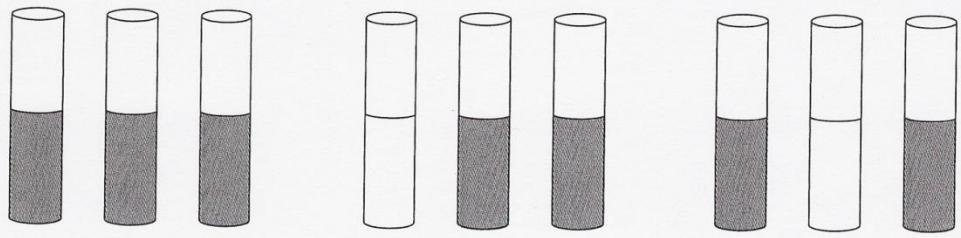
9.6×10^6 CFU/ml

Baird-Parker agar (*Staphylococcus aureus*)



See "Questions for critical thought" for plate count

MPN (EC broth)



~210 CFU/ml (must use MPN table)

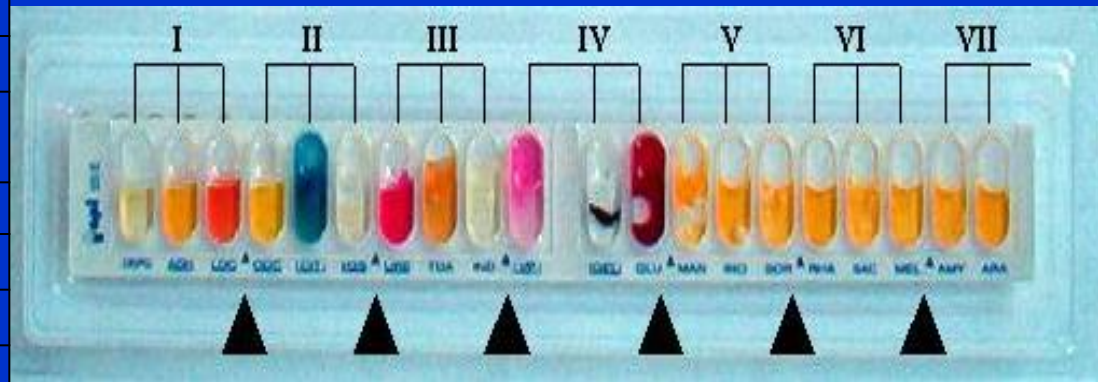
Σύγχρονες/έμμεσες μέθοδοι μικροβιακής ανάλυσης

- **Χαρακτηριστικά:** πολύ γρήγορες μέθοδοι (αποτελέσματα εντός λίγων ωρών ή λεπτών), με ελάχιστα αναλώσιμα αλλά ακριβό εξοπλισμό, περιορισμένη εφαρμογή, κυρίως για παθογόνα μικρόβια και ΟΜΧ
- **Μέτρηση ATP/φθορισμού/οπτικής πυκνότητας :** Για καταμέτρηση ΟΜΧ, ή εκτίμηση του συνολικού μικροβιακού φορτίου, ή της αποτελεσματικότητας της απολύμανσης σε επιφάνειες.
- **Ανοσολογικά τεστ τύπου ELISA (Immunological assays) :** Ανίχνευση παθογόνων βακτηρίων, τοξινών τους ή μυκοτοξινών, (καθώς και φυτοφαρμάκων και αλλεργιογόνων)
- **Μοριακά τεστ (DNA-based assays and probes** (με τη χρήση PCR-polymerase chain reaction) : ανίχνευση παθογόνων, ταξινόμηση-ταυτοποίηση βακτηρίων σε επίπεδο είδους
- **API tests:** συνδυαστικό πολυδιαγνωστικό τεστ βασισμένο σε ταυτόχρονες πολλαπλές βιοχημικές δοκιμές, ξεχωριστές για κάθε μικροοργανισμό
- **Latex coagulation tests:** για την ανίχνευση παθογόνων με βάση ανοσολογικό τεστ συγκόλλησης αντιγόνων-αντισωμάτων

TESTS	SUBSTRATE	REACTION TESTED
ONPG	ONPG	beta-galactosidase
ADH	arginine	arginine dihydrolase
LDC	lysine	lysine decarboxylase
ODC	ornithine	ornithine decarboxylase
CIT	Citrate	citrate utilization
H2S	Na thiosulfate	H2S production
URE	Urea	urea hydrolysis
TDA	tryptophan	deaminase
IND	tryptophan	indole production
VP	Na pyruvate	acetoin production
GEL	charcoal gelatin	gelatinase
GLU	Glucose	fermentation/oxidation
MAN	Mannitol	fermentation/oxidation
INO	Inositol	fermentation/oxidation
SOR	Sorbitol	fermentation/oxidation
RHA	Rhamnose	fermentation/oxidation
SAC	Sucrose	fermentation/oxidation
MEL	Melibiose	fermentation/oxidation
AMY	amygdalin	fermentation/oxidation
ARA	Arabinose	fermentation/oxidation
OX	Oxidase	oxidase

Σύγχρονες/έμμεσες μέθοδοι μικροβιακής ανάλυσης

API τεστ για *E. coli*



- Σε κάθε κυψελίδα προστίθεται ο υπό μελέτη μικροοργανισμός
- Κάθε κυψελίδα αντιστοιχεί σε διαφορετική βιοχημική δοκιμή
- Κάθε θετική/αρνητική βιοχημική δοκιμή αντιστοιχεί σε συγκεκριμένο χρωματικό αποτέλεσμα

Σύγχρονες/έμμεσες μέθοδοι μικροβιακής ανάλυσης

- Μέθοδοι Elisa, π.χ. μηχάνημα τύπου VIDAS®

Πως δουλεύει?

1. Πρόσδεση αντισώματος με τα αντιγόνα του παθογόνου-στόχου (antigen capture)
2. Ένα δεύτερο αντίσωμα ενωμένο με κατάλληλο φθορίζον ένζυμο συνδέεται με το αντιγόνο του παθογόνου-στόχου (sandwich assay)
3. Η ένταση του φθορισμού προκύπτει από την διπλή ένωση αντιγόνου με τα δύο αντισώματα μετριέται στο φωτόμετρο ELISA (Detection)

