

IL MONDO DEI MICRORGANISMI

La maggior parte degli organismi presenti sul pianeta terra sono **microrganismi**, essi devono il loro nome al fatto che sono visibili solo tramite **microscopio**. Possono essere **unicellulari** o **pluricellulari** in questo secondo caso presentano diverse cellule morfologicamente e strutturalmente diverse capaci di svolgere numerose funzioni.

Assioma di Rudolph Virchow (1858) : ogni cellula esistente deriva dalla **divisione** di un'altra cellula.

La capacità di riprodursi è alla base della sopravvivenza e del processo evolutivo.

Le cellule sono **sistemi** che scambiano **biomassa** e **energia** con l'esterno e svolgono organizzati processi metabolici per rimanere in vita.

I microrganismi svolgono un ruolo chiave nel consentire la vita sulla terra, questo perché sono in grado di **riciclare** le macromolecole e atomi ponendoli di nuovo a disposizione e impedendo l'esaurimento della biomassa.

Tutti i sistemi biologici devono fare i conti con la **scarsità delle risorse** e in tal caso si genera una sorta di **competizione** che porta gli organismi più adatti a sopravvivere e quelli meno adatti a perire (es: vedi fallimento imprese smith= mano invisibile).

Per capire la vita bisogna ricordarsi:

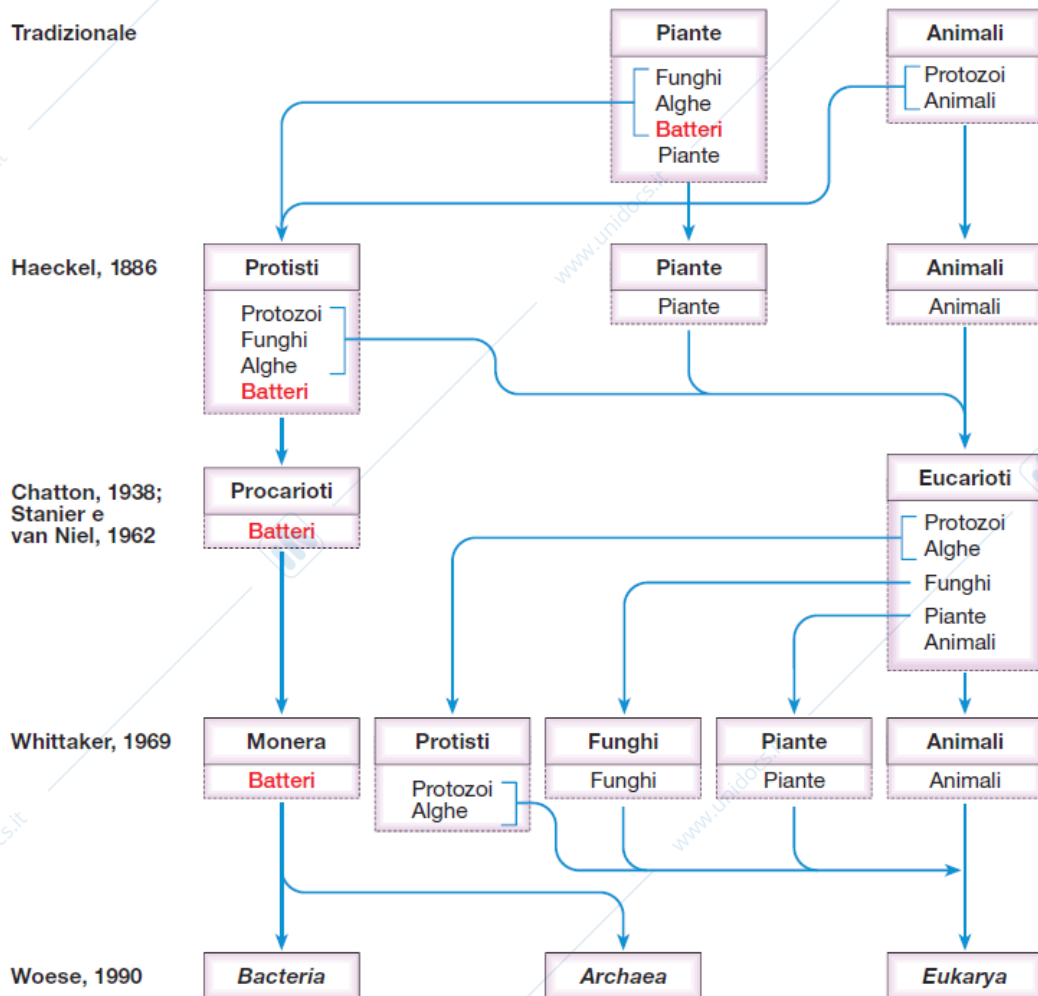
- organismi sono costituiti da **cellule** che sono le unità funzionali, esse sono circondate da una **membrana plasmatica** che le delimita e ne affina lo scambio di materia e nutrienti con l'esterno, esse hanno morfologia e funzioni nettamente differenti in base a quello che svolgeranno.
- Ogni organismo cerca di mantenere un **omeostasi** o **equilibrio interno** scambiando energia e nutrienti che attraverso processi metabolici modificherà per riprodursi.
- La riproduzione comporta che l'informazione genetica sia duplicata attraverso enzimi, tale duplicazione non è perfetta e per caso e necessità porta differenze che comportano vantaggi o svantaggi dal punto di vista della sopravvivenza.
- Dato che per ricevere si deve dare, la biomassa è finita e in continuo riciclo tra nascita e morte. Solo gli organismi più adatti saranno in grado di colonizzare il territorio e sopravvivere a scapito di altri, i quali meno adatti periranno.

Per quanto diversificati possano essere gli organismi, alla base dei processi fondamentali per la vita si riscontrano numerose similarità come per esempio le molecole che portano l'informazione genetica sono le stesse, e i macchinari per trasmetterla sono assai simili. In natura si osserva la conservazione di strutture o meccanismi che sono i più efficienti e efficaci a parità di ambiente.

Altre strutture come per esempio le membrane si sono evolute a tal punto da risultare altamente diversificate in organismi della stessa specie e tra specie diverse.

Fu dagli anni '80 del secolo scorso e grazie all'avvento di studi **filogenetici** di **Carl Woese**, che osservò con microscopio elettronico numerosi procarioti analizzandone nello specifico le membrane, che si deve l'introduzione nella **tassonomia** dell'introduzione di 3 **domini** (**eukaria, bacteria, archaea**).

Evoluzione dei sistemi degli organismi viventi:



la microbiologia ha avuto avvio dall'avvento del microscopio dopo probabilmente l'avvento delle lenti da parte di un ottico olandese e galileo.

Dopo l'invenzione del microscopio e la curiosità di un uomo che iniziò a costruirne e guardare inizialmente la bontà dei tessuti e poi qualunque cosa si scoprì il mondo dei microrganismi che dalla sua morte rimase bloccato senza miglioramento fino a circa 100 anni dopo quando i microscopi ebbero una diffusione maggiore.

COMPOSIZIONE:

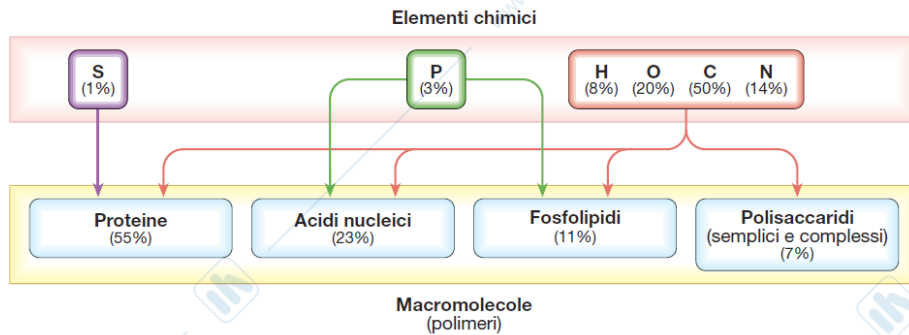


Figura 1.4 **COMPOSIZIONE ELEMENTARE DELLE MACROMOLECOLE CELLULARI.** Sono indicate le quattro classi di macromolecole biologiche presenti in tutti gli organismi viventi (proteine, acidi nucleici, fosfolipidi, polisaccaridi) e i sei elementi chimici principali che compongono il loro scheletro covalente. In parentesi, la composizione percentuale del peso secco di una "cellula microbica tipo".

Tutte le cellule per sopravvivere e riprodursi devono essere in grado di procurarsi questi elementi, i quali assieme a molti altri sono alla base delle macromolecole che svolgono tutte le funzioni cellulari.

Per capire come si costruisce una cellula batterica si osservi lo schema semplificato:

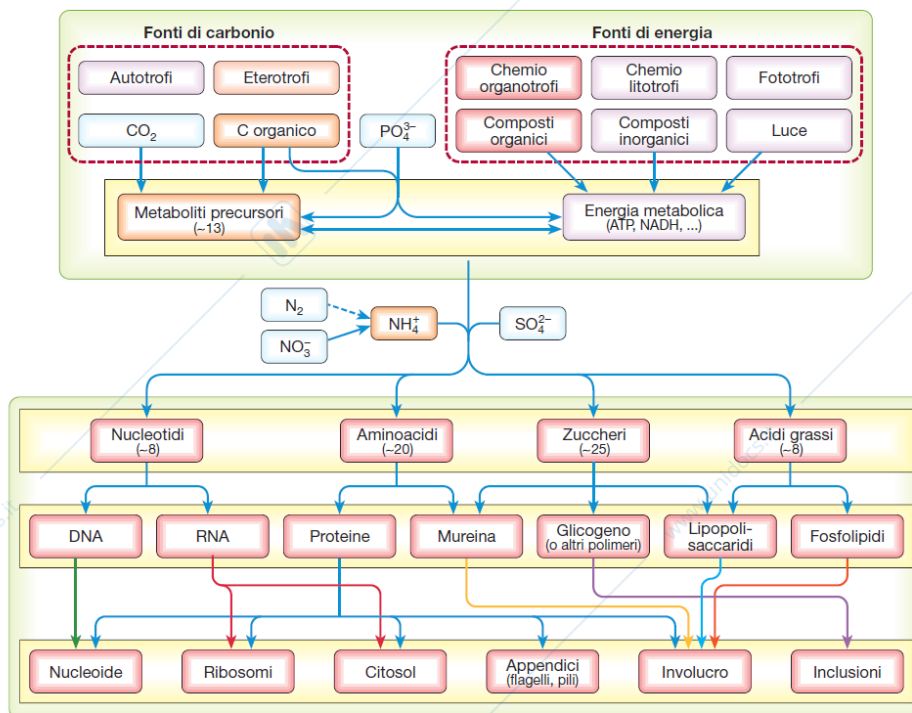


Figura 1.5 **COME SI COSTRUISCE UNA CELLULA BATTERICA.** Il diagramma illustra i passaggi che portano alla costruzione di una cellula batterica tipo (*Escherichia coli*) a partire da composti semplici come fonte degli elementi essenziali e da una fonte di energia. Per i dettagli vedi il testo.

Le macromolecole a loro volta sono formate da **metabolismi precursori** in cui attraverso l'uso di elementi e energia proveniente da varie fonti si costruiscono i "mattoni" per la generazione dei componenti fondamentali.

Possiamo fare una prima distinzione dal punto di vista metabolico se consideriamo il tipo di molecola usata per fornire energia alla cellula: ATP o NADPH, la prima attraverso la rottura di legami **fosfoanidrilici** la seconda attraverso il **trasporto e rilascio di elettroni**.

FONTI DI ENERGIA:

- **Fototrofi**: energia dalla luce.
- **Chemiotrofi**: energia libera derivata da reazioni chimiche che possono coinvolgere sostanze inorganiche o meno.

NB: la fonte di energia luminosa proveniente dal sole è energia "infinita" senza la quale gli organismi, se dovessero sopravvivere per mezzo di reazioni chimiche, non sopravviverebbero in quanto l'energia si esaurirebbe in un tempo abbastanza breve.

APPROVVIGIONAMENTO DI CARBONIO:

- **Autotrofi**
- **Eterotrofi**

MICROBIOLOGIA INCONSAPEVOLE E SCOPERTA MICRORGANISMI:

L'avvento della microbiologia come scienza risale al 1600 con l'avvento dei primi microscopi e vide come pionieri **Robert Hooke e Leeuwenhok**.

Il secondo era un commerciante di stoffe olandese che si era appassionato alla costruzione di microscopi che gli permisero di scoprire numerosi microrganismi ai quali furono assegnati dei nomi.

Dopo la sua morte si deve attendere il 1800 per avere un vero e proprio sviluppo della microbiologia come scienza, sviluppo che è concomitante con l'invenzione e costruzione di microscopi più performanti e nuovi metodi di analisi.

1884: **Christian Gram**, danese, inventa una nuova metodologia per la caratterizzazione morfologica dei batteri.

TEORIA GENERAZIONE SPONTANEA:

Alla base della microbiologia bisogna porre anche quelle che sono la **teoria cellulare** e la **teoria della biogenesi** la quale sfatò il mito della "**generazione spontanea**".

Fu **Francesco Redi** uno scienziato che mettendo in atto un particolare esperimento sfatò il mito della generazione spontanea e aprì la ricerca al mondo della microbiologia favorita anche dalla presenza sempre più frequente di microscopi in commercio.

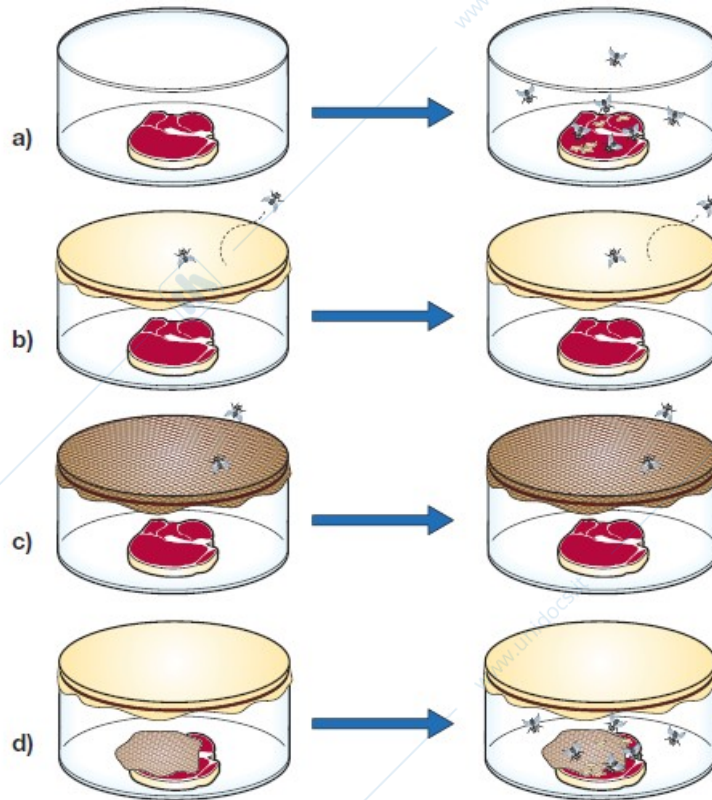


Figura 1.9 ESPERIMENTO DI REDI. (a) Un pezzo di carne è lasciato in un contenitore aperto all'aria senza alcuna protezione: dopo qualche giorno si possono osservare larve di mosca da cui si svilupperanno nuove mosche; (b) un secondo recipiente contenente un pezzo di carne viene sigillato con un foglio di carta: le larve di mosche non si sviluppano; (c) un terzo contenitore con un pezzo di carne è coperto con una fitta garza: anche in questo caso le larve non si sviluppano; (d) un pezzetto di garza utilizzata in (c) è deposta su un pezzo di carne fresca e il recipiente ricoperto con carta: si svilupperanno larve di mosca.

Successivamente nel '700 **Spallanzani** dimostrò che con una bollitura prolungata e una chiusura ermetica potevano uccidere i microorganismi, anche se non tutti. Solo con **Tyndall (1800-1893)** si scopriranno le **endospore** prodotte da alcuni funghi che non venivano uccise dalla bollitura prolungata.

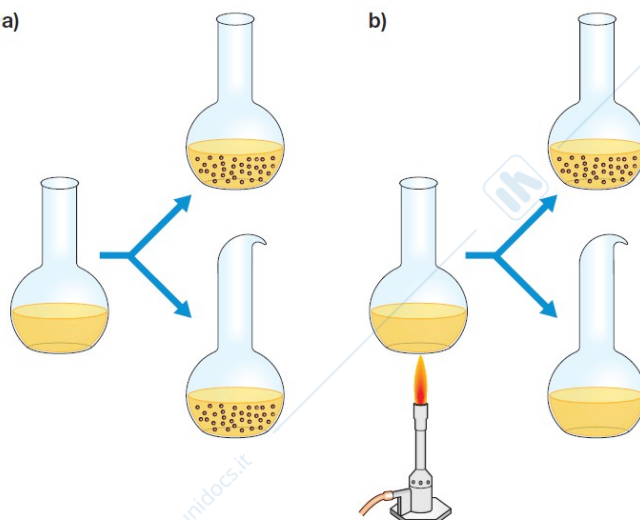


Figura 1.12 ESPERIMENTO DI SPALLANZANI. (a) Un'ampolla contenente brodo è lasciata all'aria, un'altra viene sigillata; dopo un certo periodo di tempo in ambedue le ampolle il brodo diventa torbido per la crescita di microorganismi. (b) Un campione di brodo viene sottoposto a ebollizione e successivamente ripartito in due ampolle: una è lasciata aperta, l'altra viene immediatamente sigillata. Dopo un certo tempo, nella prima ampolla il brodo diventa torbido per la crescita di microorganismi, mentre, anche dopo parecchi giorni, non si osserva alcun intorbidimento del brodo nella seconda.

La disputa fu conclusa da **Pasteur** e la pubblicazione dell'*origine delle specie* di Darwin pose le basi dell'**evoluzionismo** e incrementò la curiosità e ricerca.

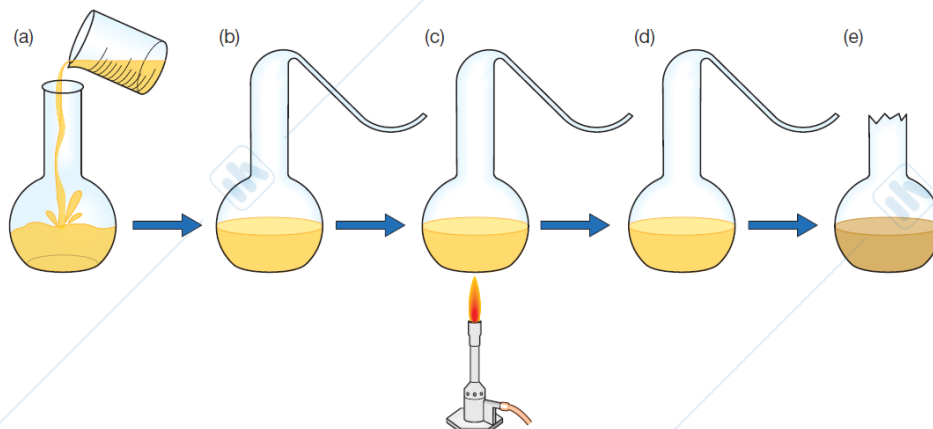


Figura 1.14 ESPERIMENTO DI PASTEUR. Una delle tante varianti dell'esperimento con cui Pasteur dimostrò l'inconsistenza dell'ipotesi della generazione spontanea anche per i microrganismi. Un brodo di coltura è posto in un matraccio (a) la cui imboccatura viene modellata a collo di cigno (b) per permettere il passaggio dell'aria ma non quello delle "particelle" microscopiche presenti

nell'aria stessa. Il brodo viene quindi portato a ebollizione (c) in modo da uccidere tutte le forme viventi ivi presenti. Anche dopo un lungo periodo, il brodo non diventa torbido (d). Solo se il collo del pallone viene rotto (e) permettendo alle particelle sospese nell'aria di penetrarvi, si osserva intorbidimento del brodo dovuto alla crescita dei microrganismi presenti nell'aria.

Robert Koch (1843-1910) coltivò e isolò i primi microrganismi usando bucce di patate e successivamente gelatina costruendo i primi terreni di coltura, il suo allievo **Walter Hesse (1846-1911)** osservando la moglie in cucina fu il primo a utilizzare l'**agar** che deriva da un'alga rossa usata per fare le gelatine, in fine **Julius Petri (1852-1921)** introdusse quelle che sono le piastre petri, che inizialmente erano scatolette di vetro all'interno dei quali posizionare il terreno di coltura.

Koch fu lo scienziato che isolò per primo un **agente eziologico** causa dell'**antrace** malattia che colpiva i bovini.

DISTRIBUZIONE MICRORGANISMI NELL'AMBIENTE:

Uno sviluppo della microbiologia fece sì che i ricercatori negli anni scoprirono organismi **azotofissatori** e capaci di ossidare lo zolfo, in concomitanza con queste ricerche si sviluppò anche la **coltura selettiva** (**Martinus Beijernick**, botanico usando terreni con fonti nutritive selezionate o condizioni di crescita diverse.

MICRORGANISMI E MALATTIE:

Successivamente altri ricercatori tra cui **Koch** svilupparono la microbiologia medica scoprendo e identificando microrganismi capaci di indurre malattie in animali e umani, nel 1887 fu isolato il batterio della tubercolosi. Successivamente furono isolati e studiati i batteri delle fermentazioni, qui **Pasteur** capì che nelle fermentazioni alcoliche la presenza di aceto o acido lattico è dovuta ad altri microrganismi diversi, egli implementò migliori metodi per selezionare soltanto alcuni di essi evitando di contaminare il tutto.

Così facendo ebbe un impatto notevole anche nell'ambito economico delle industrie vinicole e birraie che poterono ridurre il quantitativo di prodotto di scarto e aumentare la qualità del loro prodotto.

Pasteur successivamente si concentrò sullo studio della fermentazione lattica e introdusse il processo di **pastorizzazione**.

Tra tutti fu però **Koch** che per la sua ricerca di una vita ricevette il Nobel nel 1905, egli diede le basi della microbiologia e alcuni metodi per la ricerca microbiologica (**postulati di Koch**).

1929 scoperta da parte di **flamming** della penicillina.

1939 inizio produzione dei primi antibiotici e sviluppo di molti altri.

I "postulati" di Koch (1881)

- Il microrganismo deve essere presente in tutti gli individui affetti dalla malattia e assente negli individui sani.
- Il microrganismo deve essere isolato dall'individuo affetto e, posto in coltura, deve dare origine a una popolazione cellulare omogenea.
- L'inoculo di una coltura pura del microrganismo in individui sani può causare la comparsa della malattia di cui è ritenuto responsabile.
- Il microrganismo deve essere reisolato dall'organismo infettato sperimentalmente in cui la malattia sia insorta.



I "postulati" di Koch molecolari

- Il gene implicato nella patogenicità o virulenza deve trovarsi in tutti i ceppi patogeni di una data specie ed essere assente nelle specie non patogene.
- L'inattivazione selettiva del gene deve portare a una diminuzione misurabile della patogenicità o virulenza.
- La complementazione o reversione della mutazione deve ripristinare il livello originario di patogenicità o virulenza. Parimenti, l'introduzione del gene in un ceppo non patogeno lo trasforma in patogeno.

Figura 1.19 POSTULATI DI KOCH. Nel 1884 Robert Koch e Jacob Henle formularono alcuni principi generali, presentati qui sopra in una versione leggermente rielaborata, per definire in modo rigoroso se un microrganismo può essere considerato l'agente eziologico di una malattia infettiva. Questi postulati hanno un'importanza storica e di indirizzo metodologico, ma Koch stesso realizzò che non erano universalmente applicabili. Perseguirli in modo dogmatico, anzi, può impedire la corretta identificazione dell'agente patogeno. Ad esempio, i portatori sani di un batterio patogeno contraddicono la seconda parte del primo principio. Oggi si cerca di identificare quali siano in un microrganismo patogeno gli specifici determinanti di virulenza e patogenicità. Sostituendo "gene" a "microrganismo", si possono così formulare "postulati di Koch" molecolari, di cui si riporta una versione.

SCHEDA 1.1 ■ ALCUNI EVENTI FONDATIVI DELLA MICROBIOLOGIA COME SCIENZA

1864 Louis Pasteur esegue esperimenti che confutano la teoria della generazione spontanea di microrganismi.



1876 Ferdinand Cohn studia minuziosamente il ciclo vitale dei batteri del genere *Bacillus* e descrive il meccanismo di produzione delle endospore.

1881 Robert Koch sviluppa terreni di coltura batterici; formula il concetto di coltura pura.

1882 Robert Koch scopre l'agente eziologico della tubercolosi, il *Mycobacterium tuberculosis* o bacillo di Koch.

1883 Robert Koch pubblica i "postulati di Koch".



1884 Hans Christian Gram mette a punto un metodo di colorazione che permetterà di distinguere i batteri in due grandi gruppi: Gram positivi e Gram negativi.

1889 Martinus Beijerinck svela l'esistenza dei virus.

1911 Francis Peyton Rous scopre il primo virus oncogeno (virus del sarcoma di Rous).



1929 Alexander Fleming scopre la penicillina, il capostipite dei moderni antibiotici.



1943 Max Delbrück e Salvador Luria dimostrano che le mutazioni adattative nei batteri insorgono in modo casuale e non sono indotte dall'ambiente.

1946 Edward Tatum e Joshua Lederberg descrivono il fenomeno della coniugazione batterica.

1960 Jacques Monod e François Jacob formulano il primo modello di regolazione dell'espressione genica nei batteri.

1962 Werner Arber chiarisce il meccanismo della "modifica e restrizione" del DNA nei batteri. Gli "enzimi di restrizione" diventeranno, a partire dal decennio successivo, uno degli strumenti principali dell'ingegneria genetica.

1967 Thomas Brock isola "batteri" (poi classificati tra gli archei) ipertermofili provenienti dalle sorgenti calde dei geysir, a temperature superiori a 90 °C, allora considerate proibitive per la vita.

1969 Howard Temin, David Baltimore e Renato

Dulbecco scoprono i retrovirus e la trascrittasi inversa.

1977 Carl Woese e George Fox propongono la suddivisione dei procari in due gruppi filogenetici distinti: *Eubacteria* e *Archaeobacteria* (oggi rinominati *Bacteria* e *Archaea*).



1981 Stanley Prusiner isola per la prima volta un prione, un agente infettivo di natura proteica.



1981 Luc Montagnier isola il virus HIV, considerato responsabile dell'AIDS.

1995 Craig Venter e Hamilton Smith completano il sequenziamento di un genoma batterico.

2007 Philippe Horvath e collaboratori dimostrano che il sistema genico CRISPR-Cas, presente in forme diverse in molti batteri e archei, costituisce una sorta di sistema immunitario che conferisce resistenza all'infezione dei virus. Pochi anni dopo il sistema CRISPR-Cas9 opportunamente modificato diventerà uno degli strumenti più efficaci per la manipolazione genetica di animali e piante.

