

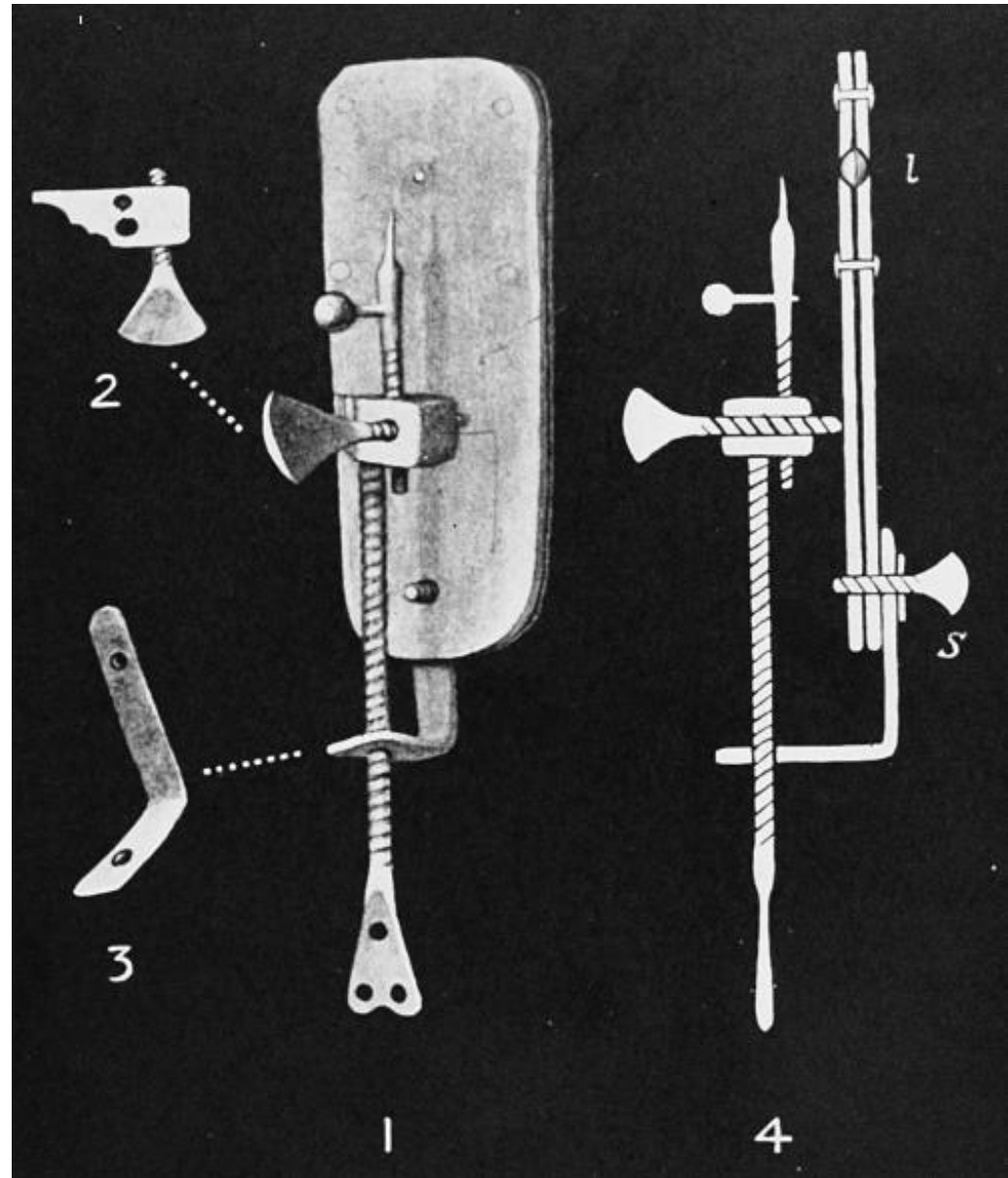
Il MICROSCOPIO alla base della nascita della Microbiologia

Il primo microscopio fu costruito dall'occhialaio olandese Zacharias Janssen e da suo padre dal 1590 ed il 1610.

Il primo ad utilizzare il microscopio per studio di materiale biologico fu lo scienziato **Marcello Malpighi (1628-1694)** considerato il padre degli studi di microscopia.

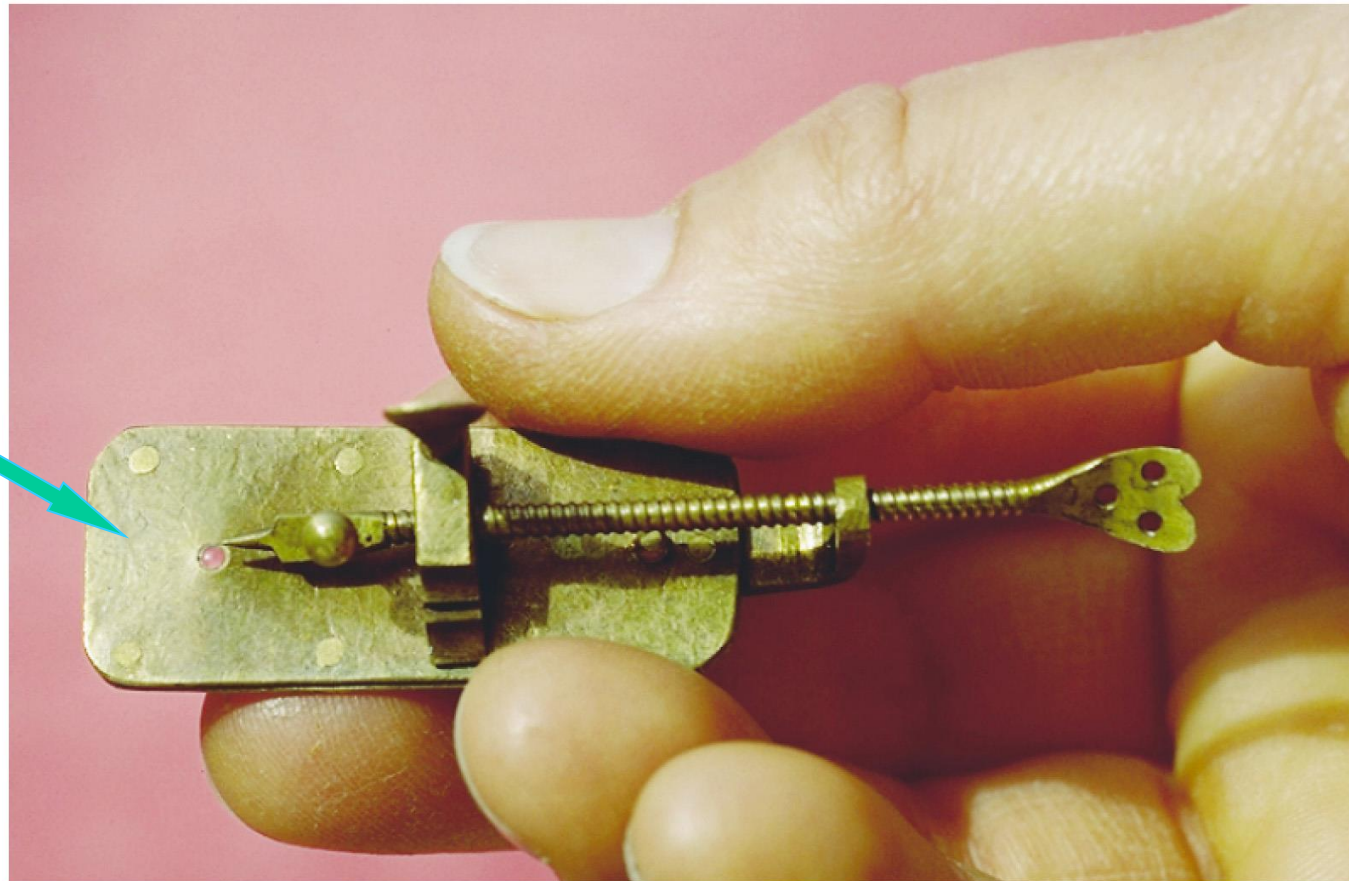
Antoni van Leeuwenhoek,
olandese(1632-1723) riuscì
a vedere per la prima
volta i batteri grazie ad un
rudimentale microscopio ad
illuminazione solare ad
elevato potere di
risoluzione che gli consentì
di avere le prime
osservazioni sui batteri nel
1683





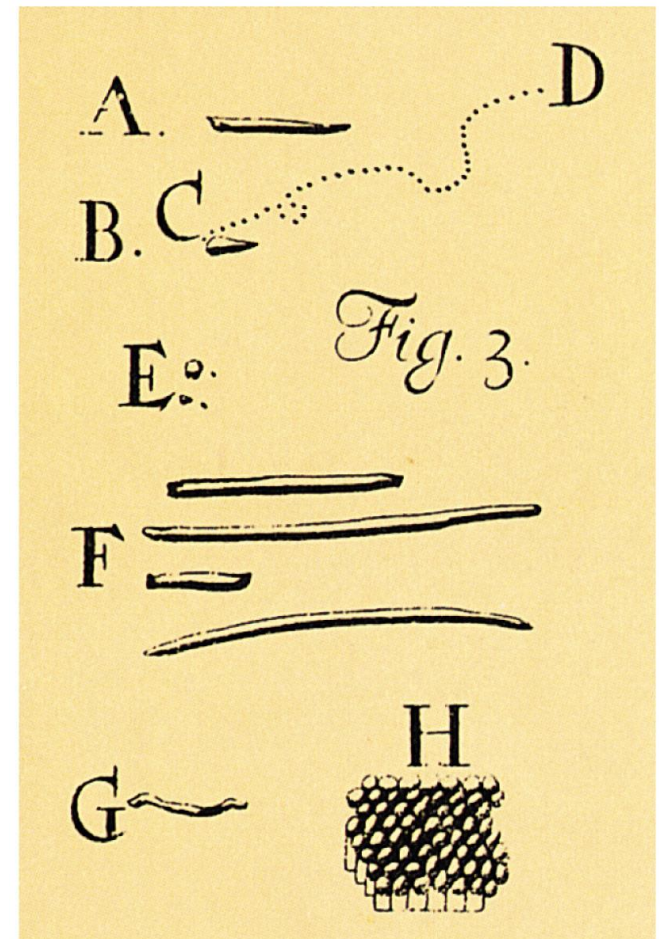
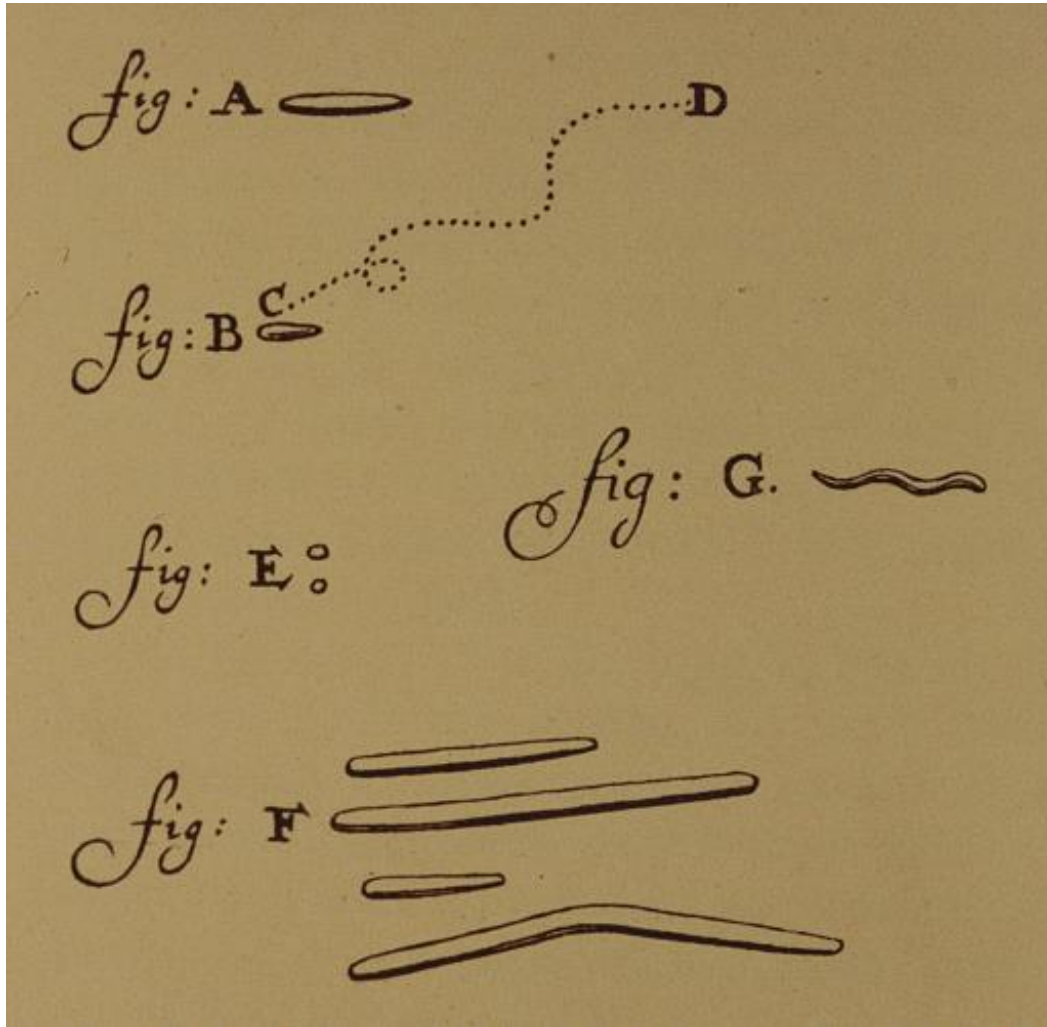
Il Microscopio di Antonj van Leeuwenhoek **che fu il primo a descrivere batteri lieviti e protozoi** grazie ad un microscopio rudimentale con il quale riusciva ad ottenere ingrandimenti da 50 a 300 volte

La lente è montata
nella piastrina
d'ottone



Disegni che riproducono le osservazioni ottenute
ottenute da van Leewenhoek con il suo rudimentale
microscopio .

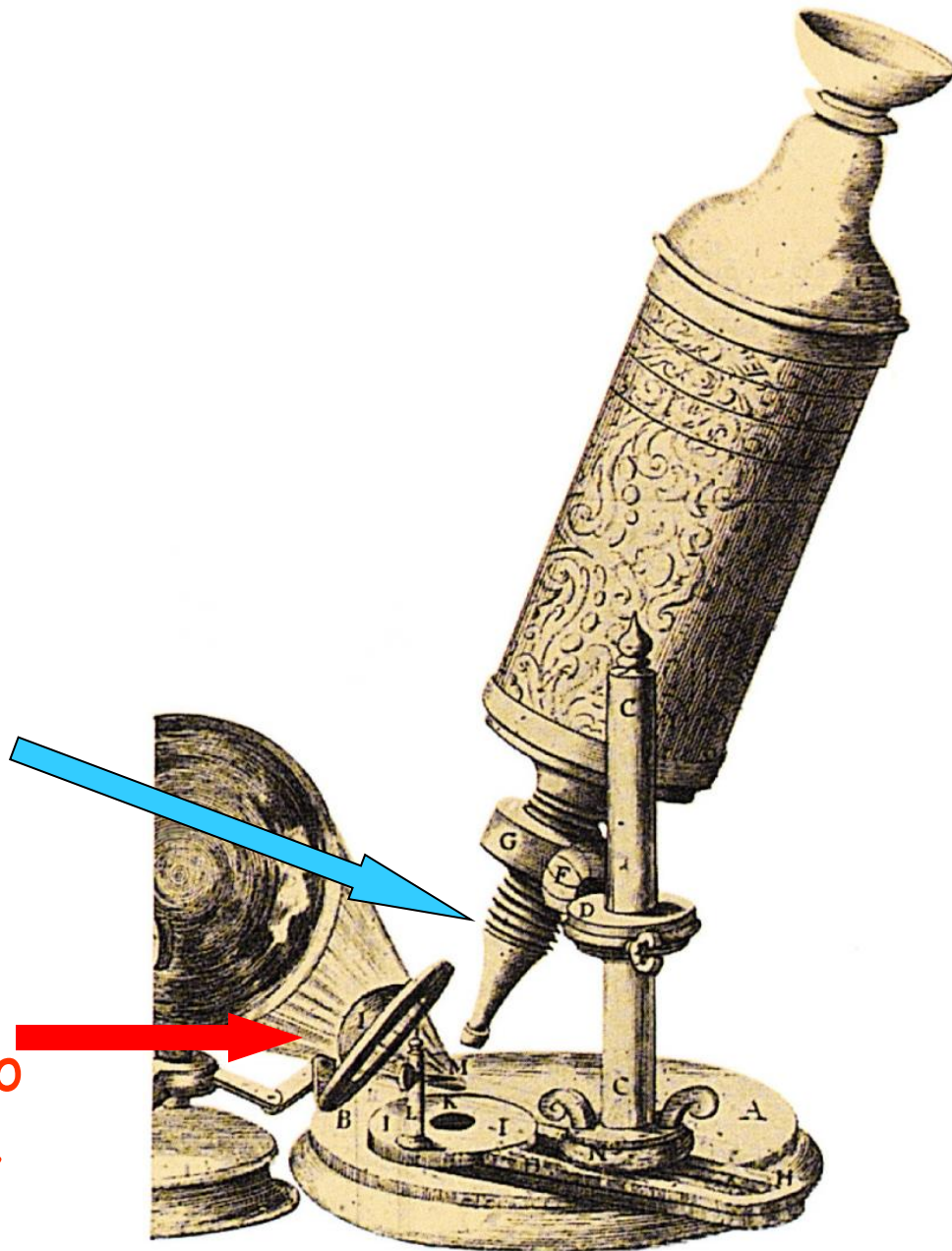
Le forme osservate
furono definite
animalucoli



Il microscopio di Rober Hooke 1635-1703

l'obiettivo è localizzato
alla fine di un soffietto
regolabile

L'illuminazione era
diretta sul preparato
attraverso una lente



I corpi fruttiferi delle
muffe descritti da
Robert Hooke



(b)

La generazione spontanea

Francesco Redi (1626-1697) pubblicò un libro in cui si attaccava la teoria della generazione spontanea provando che le larve derivavano non dalla materia in putrefazione ma dalle uova depositate dalle mosche

Lazzaro Spallanzani (1729-1799) riprese le teorie di Redi e provò che tramite bollitura si poteva ottenere l'eliminazione della cosiddetta "generazione spontanea"

Lavoiser (fine del '700) dimostrò la necessità dell'ossigeno per la sopravvivenza. L'O₂ venne considerata forza vegetativa necessaria per la generazione spontanea, confutando così gli esperimenti di Spallanzani

1668 Francesco Redi confuta la teoria della generazione spontanea : diede fine al dibattito almeno riguardo ad organismi di grandi dimensioni



Figura 1.8 **FRANCESCO REDI.**

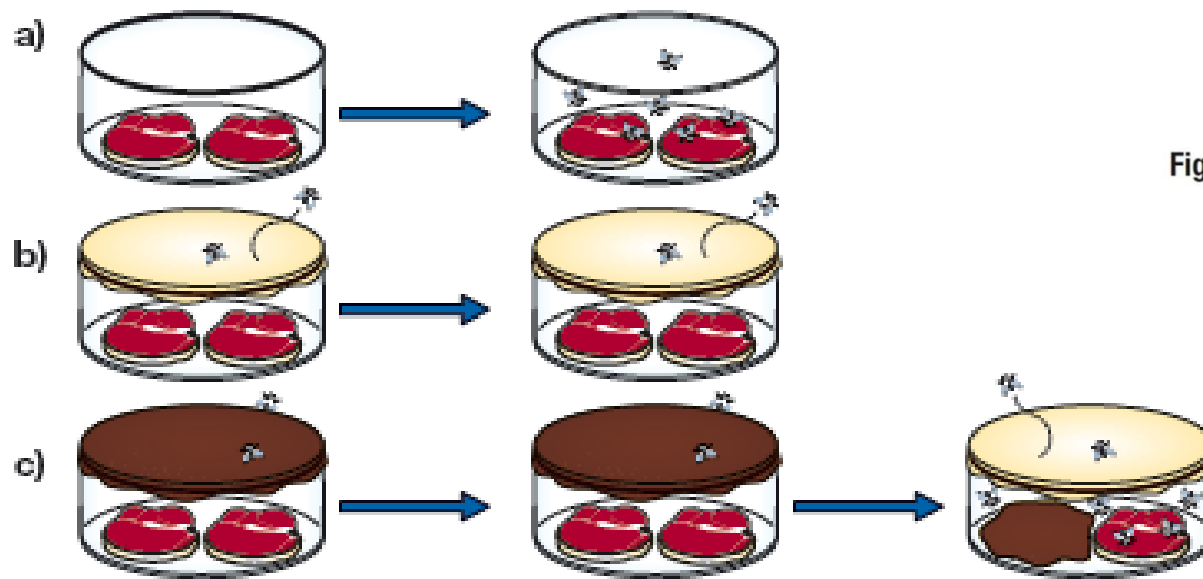


Figura 1.9 L'ESPERIMENTO DI REDI. a) Un pezzo di carne è lasciato in un contenitore aperto all'aria senza alcuna protezione; dopo qualche giorno si sviluppano larve di mosca; b) un secondo recipiente contenente un pezzo di carne viene sigillato con un foglio di carta; le larve di mosche non si sviluppano; c) un terzo contenitore con un pezzo di carne è coperto con una fitta garza; anche in questo caso le larve non si sviluppano. Se però la garza è deposta su un pezzo di carne fresca e il recipiente ricoperto con carta, si osserva lo sviluppo di larve.

All'inizio del '700 si ripropone il problema della generazione spontanea ma relativamente ai microrganismi che sono diventati "VISIBILI" grazie all'introduzione del MICROSCOPIO.

Lazzaro Spallanzani (1729-1799) si esprime contro la generazione spontanea anche per i microrganismi

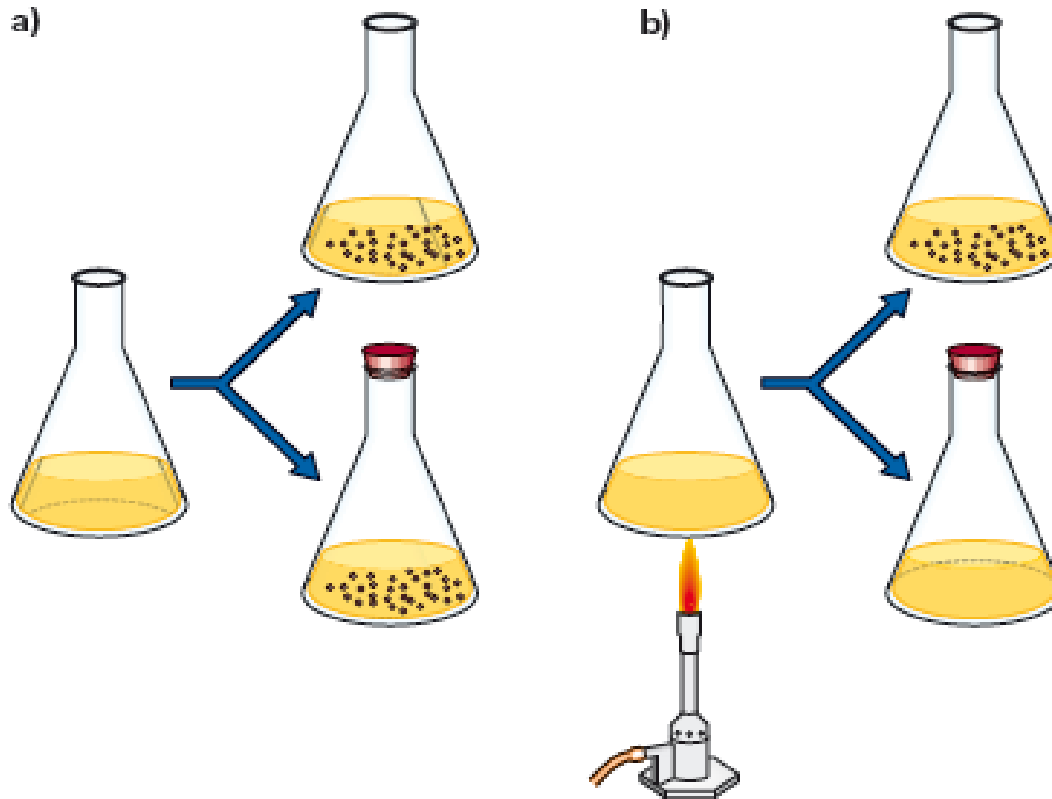


Figura 1.12 L'ESPERIMENTO DI SPALLANZANI. a) Un'ampolla contenente brodo viene lasciata all'aria; dopo un certo periodo di tempo il brodo diventa torbido per la crescita di microrganismi; b) un'altra ampolla contenente brodo viene sottoposta a ebollizione e sigillata; anche dopo parecchi giorni non si osserva alcun intorbidimento del brodo.

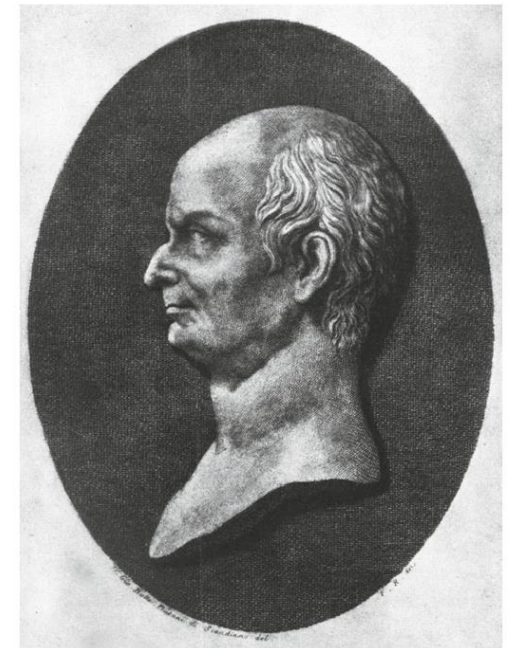


Figura 1.10 LAZZARO SPALLANZANI.

Si opponeva alla teorie di Spallanzani , un ecclesiastico inglese J. T. Needdham (1713-1781) che teorizzava che l'intorbidamento fosse causato dalla generazione spontanea causata dalla "forza vitale" presente nell'aria (distrutta dal calore)

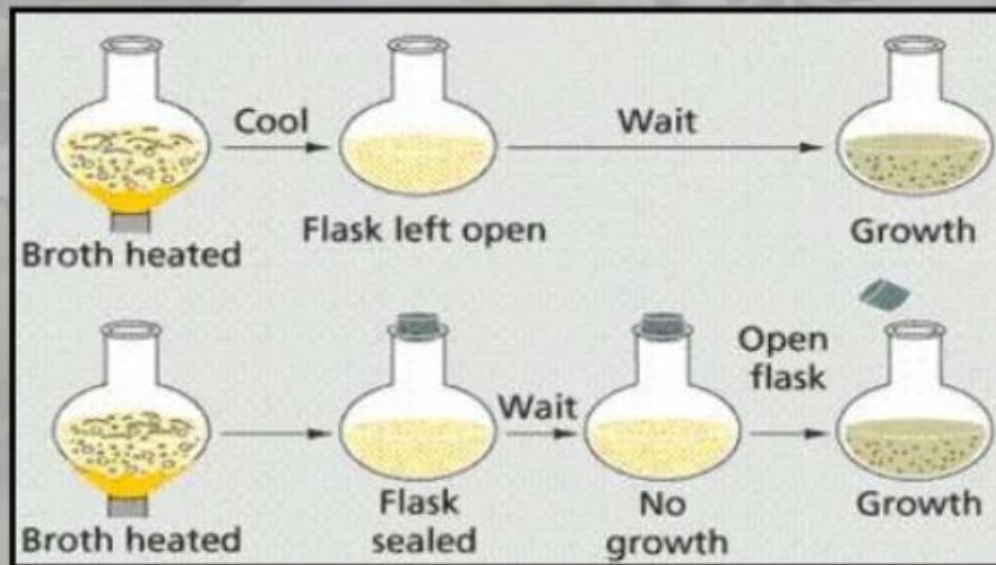


Figura 1.11 JOHN TURBERVILLE
NEEDHAM.

The Debate over Spontaneous Generation

6. John Needham claimed that microorganisms could **arise spontaneously from heated nutrient broth** (1745).

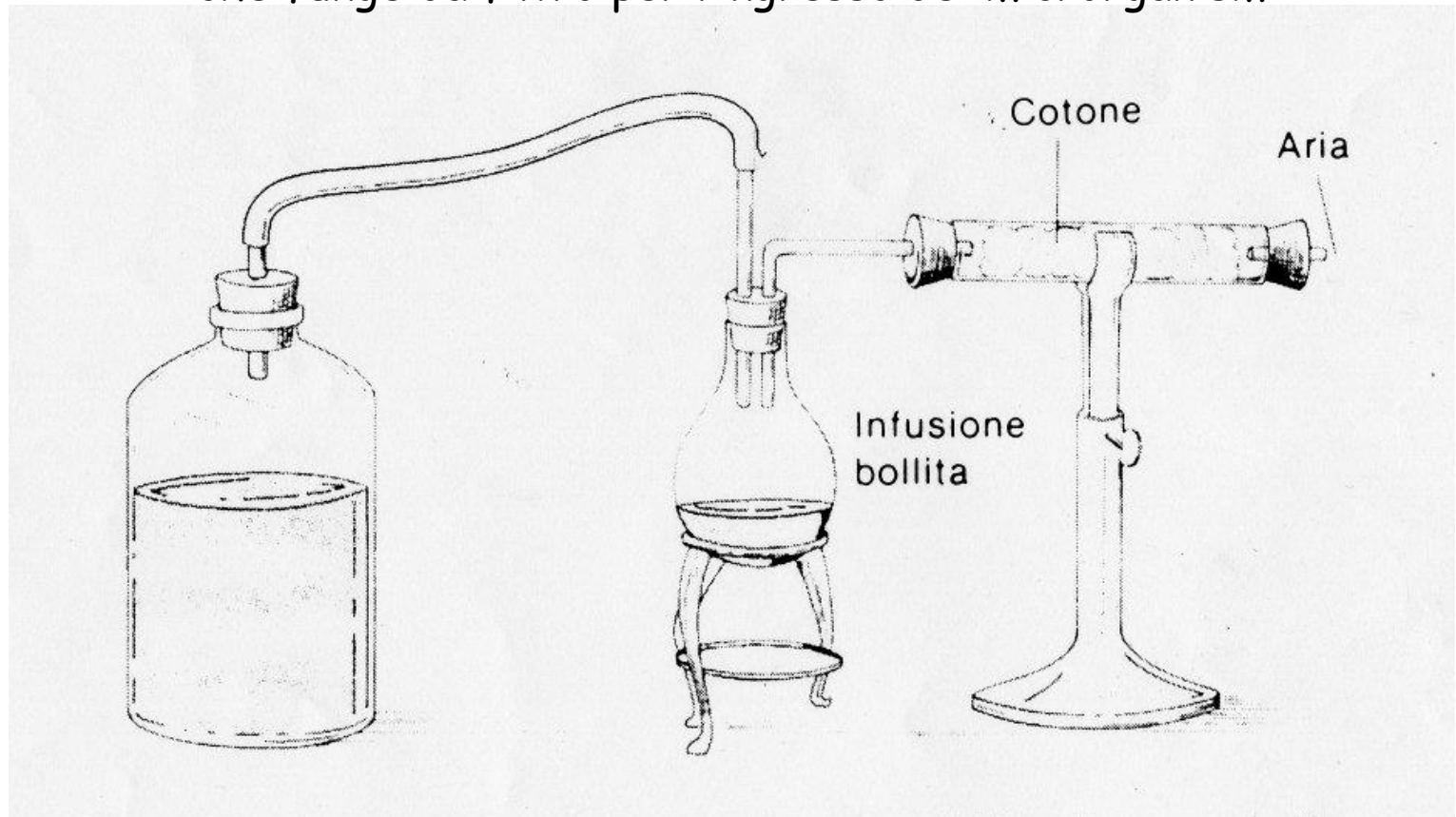
7. Lazzaro Spallanzani showed that **nutrient fluids heated after being sealed in a flask did not develop microbial growth** (1765).



Esperimento di Schroder e von Dusch

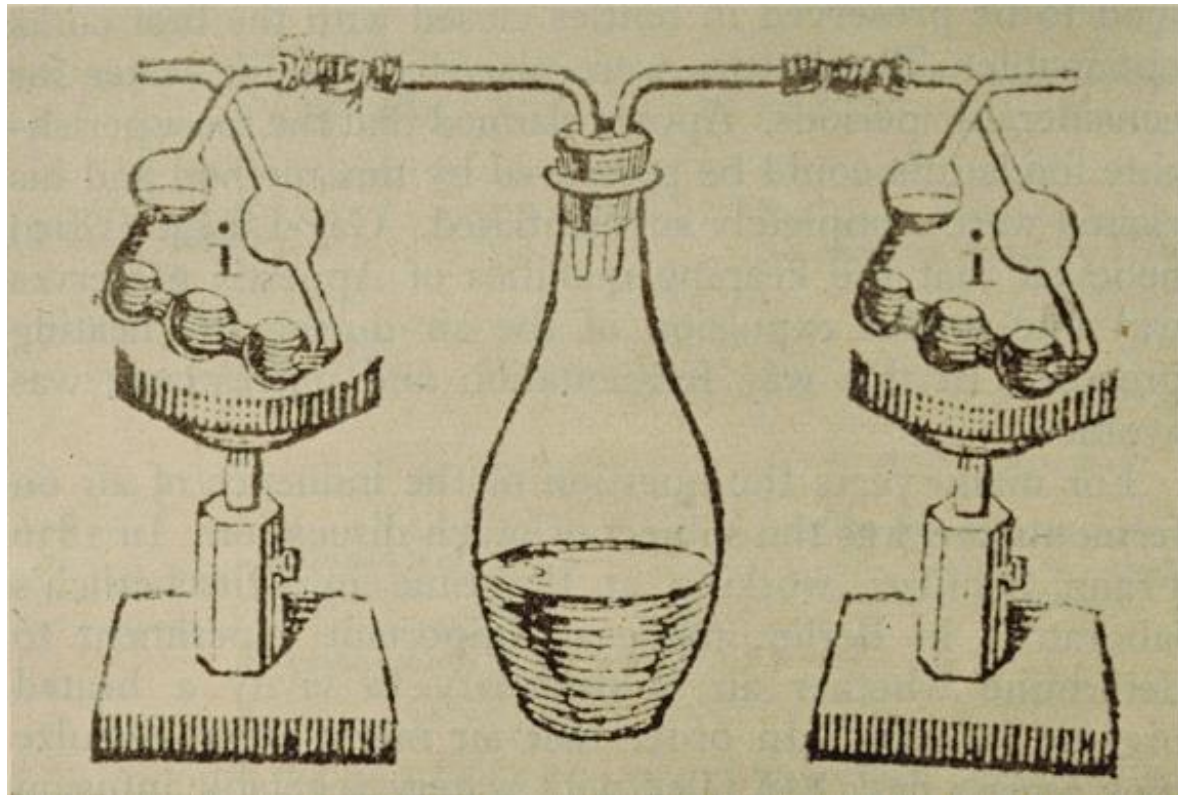
confermò l'inattendibilità della teoria della generazione spontanea.

Un brodo, precedentemente bollito viene posto in una bottiglia e l'aria penetra per aspirazione dopo esser passata per un tubo che contiene cotone che funge da filtro per l'ingresso dei microrganismi



Esperimenti di Franze Shulze (1815-1873) :

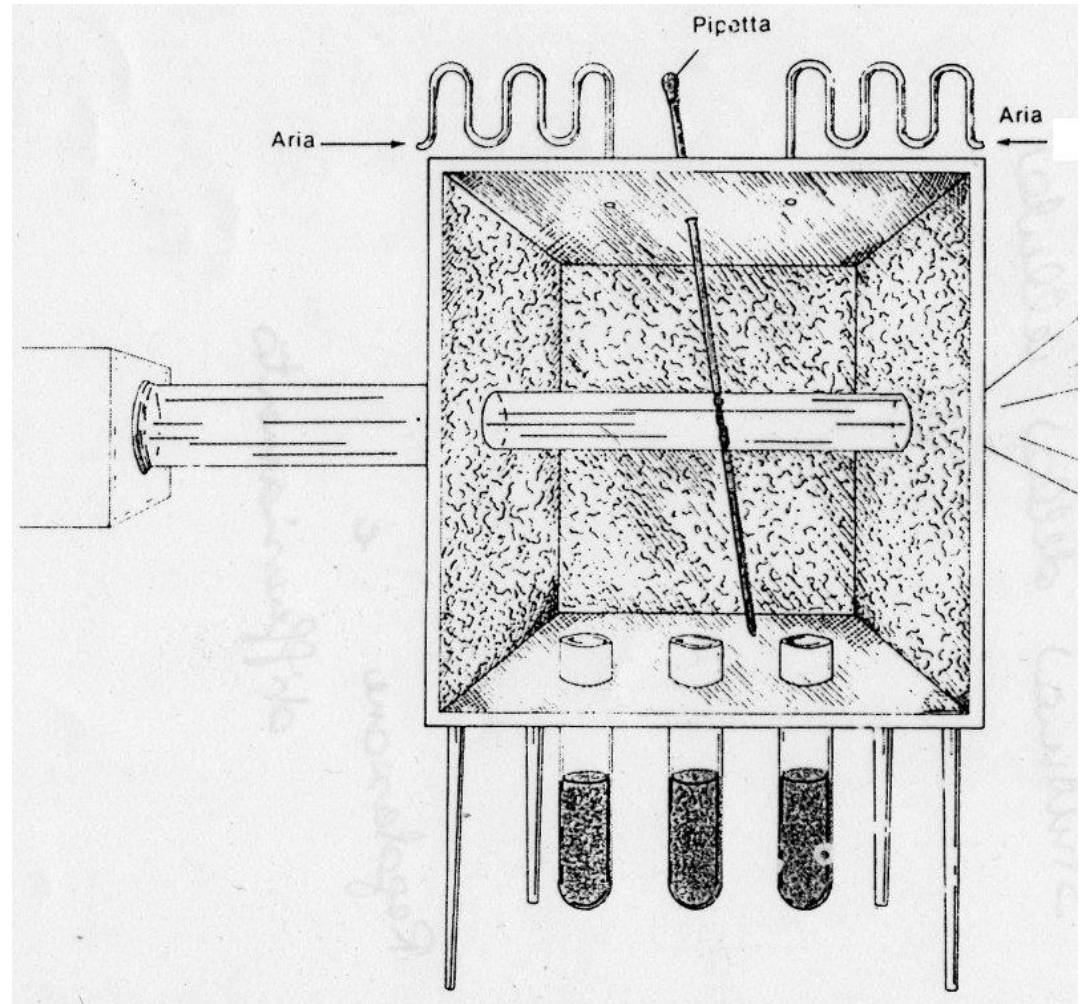
dimostrarono che si poteva mantenere un brodo sterile anche in presenza di ossigeno se l'aria in entrata veniva passata per un tubicino con acido solforico e quella in uscita per un tubicino con idrossido di sodio .



La camera di Tyndall

Le pareti sono spalmate di glicerina non sono più in grado di riflettere il raggio di luce.

Il brodo nelle provette precedentemente bollito rimane sterile perché l'aria viene introdotta attraverso serpentine che mantengono il pulviscolo



Contro la generazione spontanea intervennero vari scienziati esaminando le modalità con cui i microbi sono coinvolti nella fermentazione considerato un processo puramente chimico

1837

Charles Cagniard-Latour descrisse i Lieviti come globuli organizzati privi di motilità, capaci di riprodursi per gemmazione . Egli asserì che l'attività vitale della cellula di lievito era responsabile della conversione di una soluzione di zuccheri ad acido carbonico ed alcol.

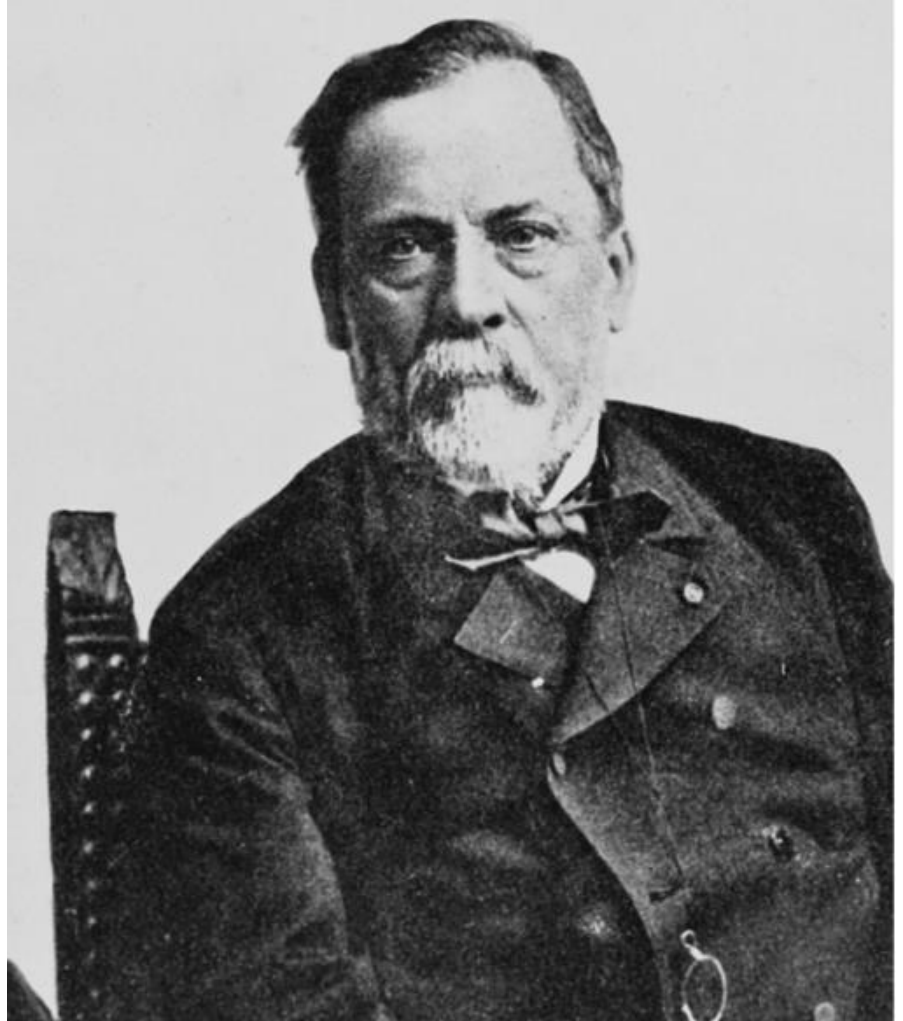
Theodor Schwann (1810-1882) nel 1837 fisiologo tedesco, descrisse il lievito e scoprì la relazione tra crescita del lievito e processo di fermentazione e lo definì fungo dello zucchero *Saccharomyces*

Friederich Kützing , naturalista tedesco attribuì il processo di fermentazione ad organismi viventi

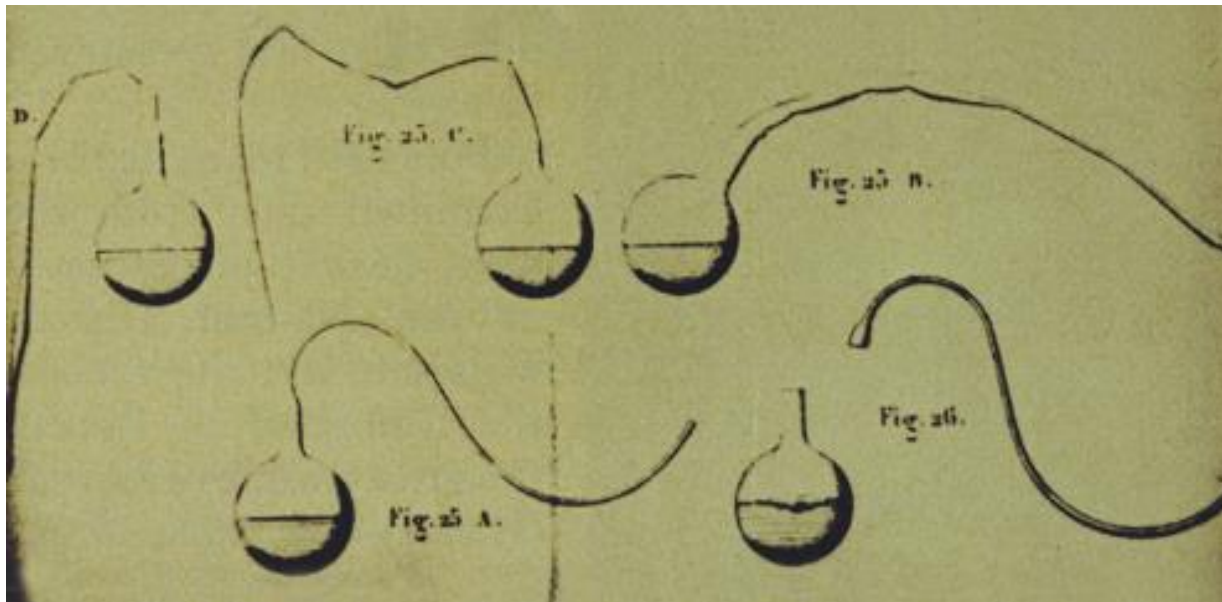
Louis Pasteur (1822-1895)

Confutò definitivamente la teoria della generazione spontanea nel 1861 con il "Trattato sui corpi organizzati che vivono nell'atmosfera"

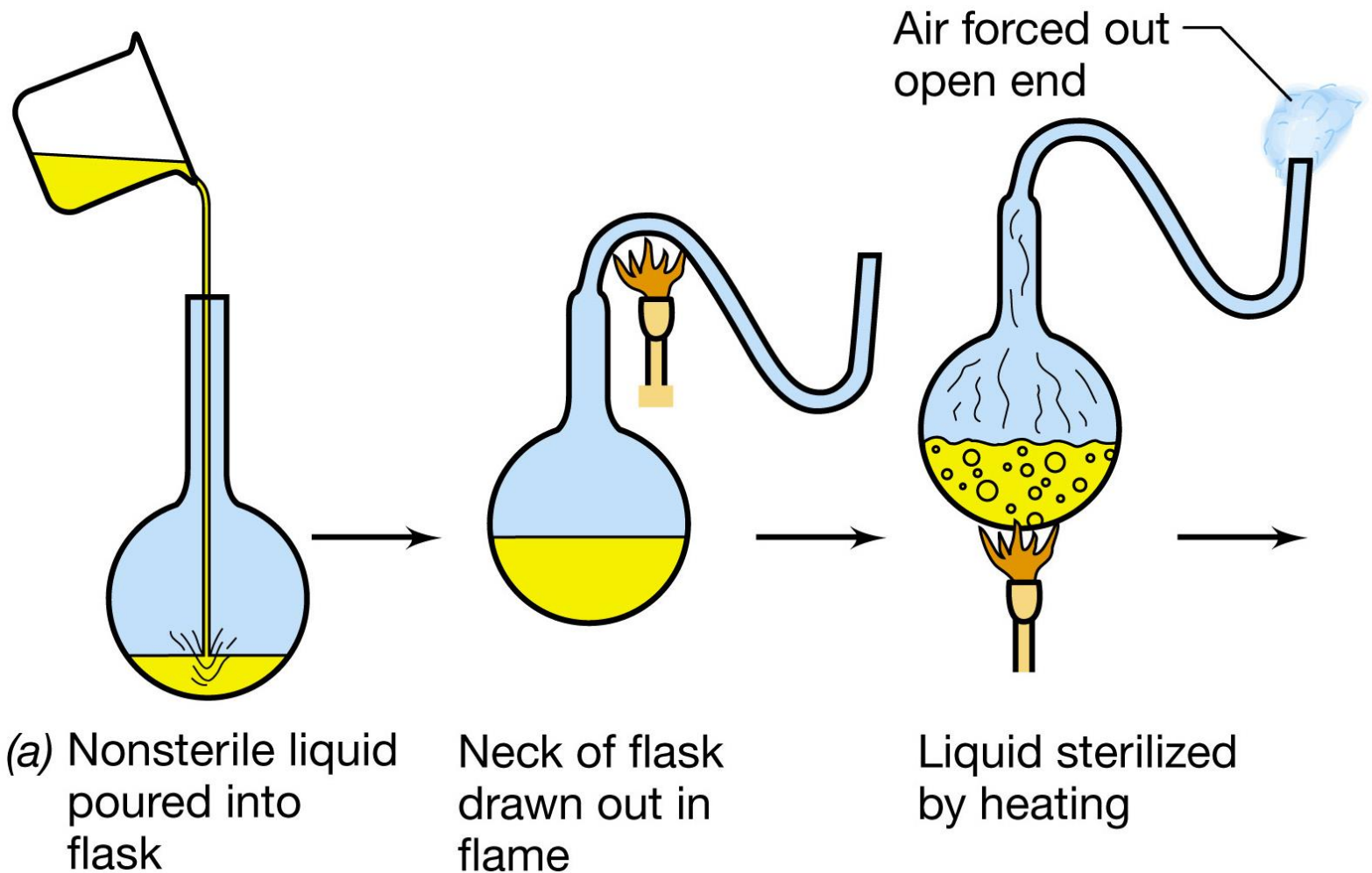
Chimico con una forte mentalità analitica aveva doti di grande comunicatore. Diede forte contributo in tutti i campi della microbiologia



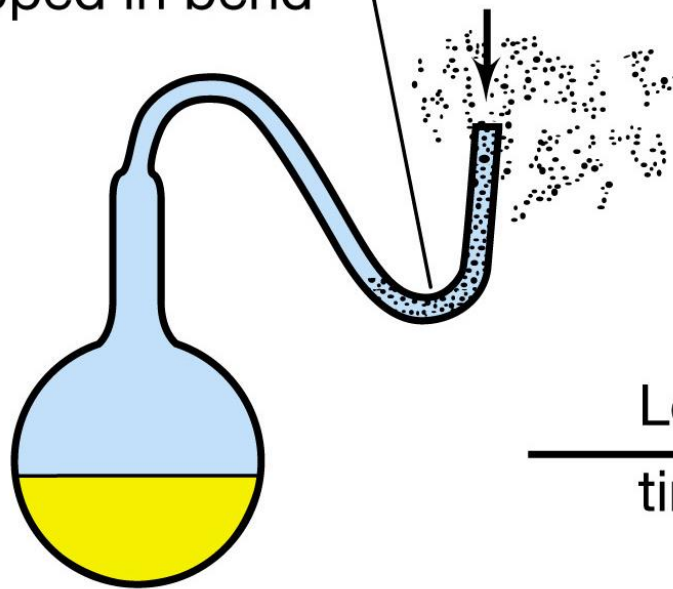
Fiasche di vetro a collo ricurvo di Pasteur impiegate nel famoso esperimento



Classico esperimento di Pasteur: migliora e potenzia gli esperimenti precedentemente descritti di Tyndall, di Schroeder and Von Dusch



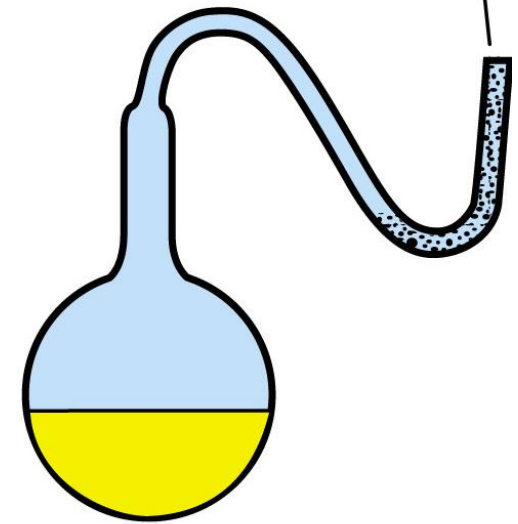
Dust and
microorganisms
trapped in bend



Long
time

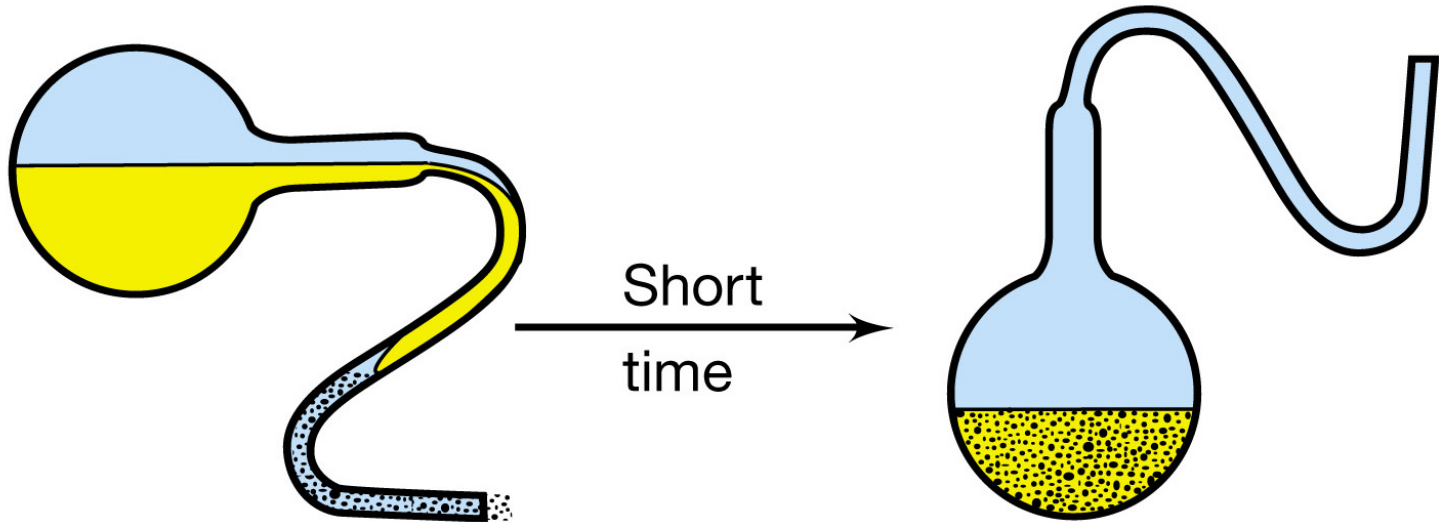


Open
end



(b) Liquid cooled
slowly

Liquid remains
sterile for
many years



(c) Flask tipped so
microorganism-laden
dust contacts sterile
liquid

Microorganisms
grow in liquid

Robert Koch (1843-1910)

il grande microbiologo clinico tedesco che
confermò la teoria microbica delle malattie

Premio Nobel x la Medicina 1905





Disegni di Koch che
riproducono i batteri
osservati.

L'agente del carbonchio,
Bacillus anthracis, viene
descritto come un batterio a
forma di bastoncino.
Koch era convinto che vi
fosse un agente di qualche
natura a provocare le
malattie.

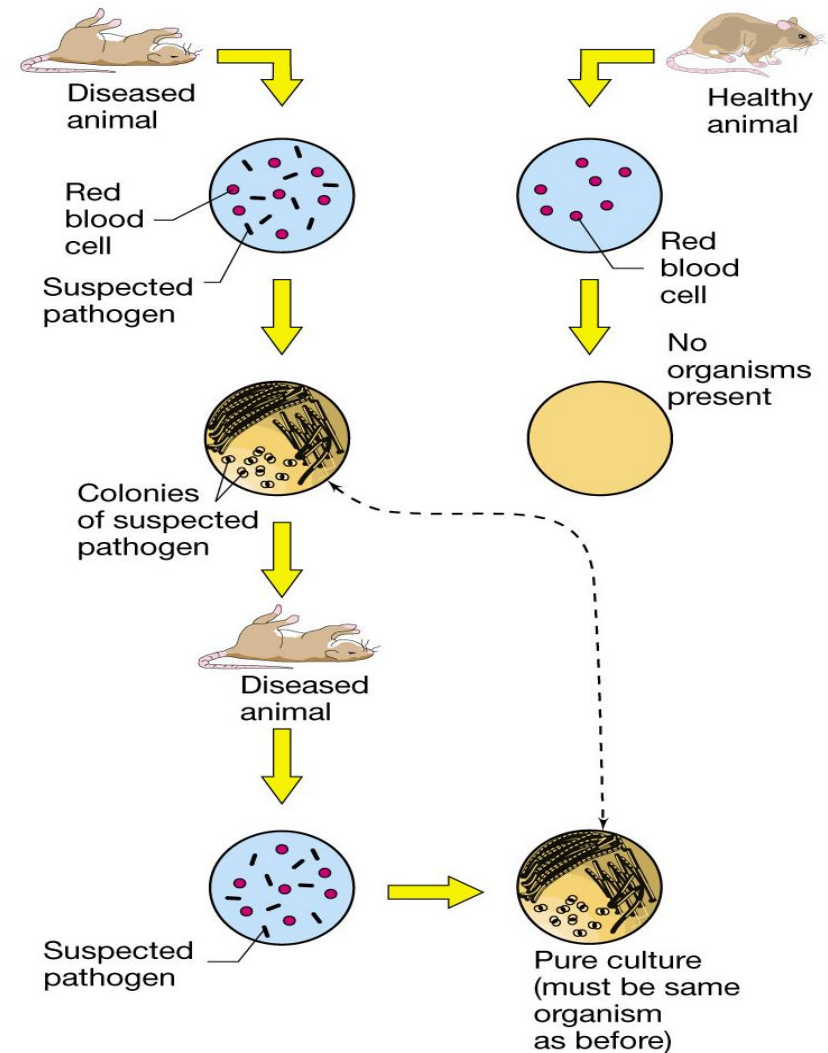
I postulati di Koch definirono che i microrganismi potevano causare delle specifiche malattie

1. L'organismo è sempre presente in animali ammalati e assente in individui sani

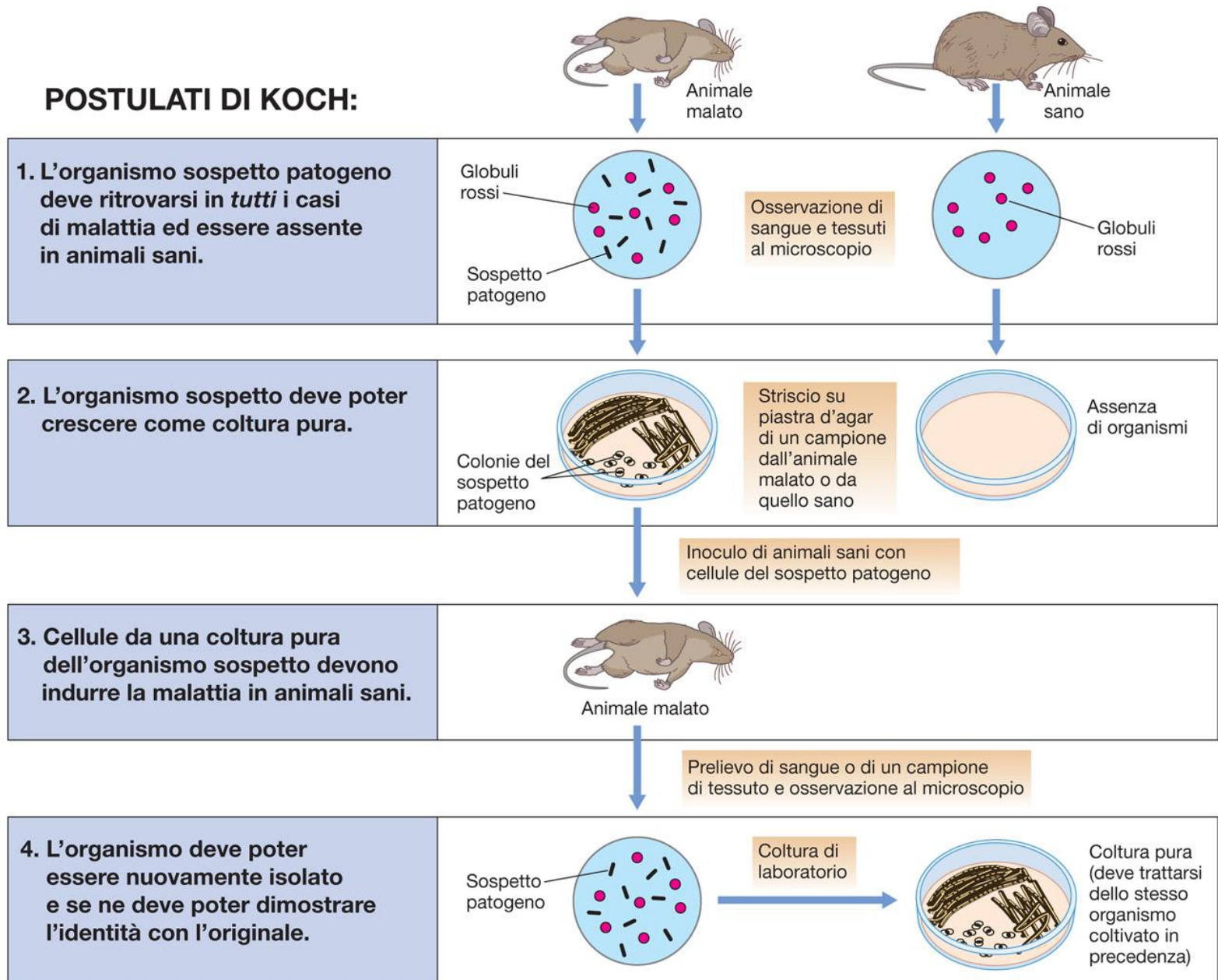
2. L'organismo è in grado di crescere in colture pure al di fuori del corpo dell'animale

3. Se inoculato in animali sani porta alla comparsa dei sintomi caratteristici uguali a quelli nell'ospite da cui è stato isolato

4. L'organismo isolato da quest'ultimi non mostra alterazioni e può crescere in laboratorio



POSTULATI DI KOCH:



a) I postulati di Koch (1881)

- Il microorganismo deve essere presente in tutti gli individui affetti dalla malattia e assente negli individui sani.
- Il microorganismo 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 microorganismo in individui sani può causare la comparsa della malattia di cui è ritenuto responsabile.
- Il microorganismo deve essere reisolato dall'organismo infettato sperimentalmente in cui la malattia sia insorta.

b) 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 I POSTULATI DI KOCH. Nel 1884 Robert Koch e Jacob Henle formularono alcuni principi generali, presentati qui sopra (a) in una versione leggermente rielaborata, per definire in modo rigoroso se un microorganismo 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 microorganismo patogeno gli specifici determinanti di virulenza e patogenicità. Sostituendo "gene" a "microorganismo", si possono così formulare "postulati di Koch" molecolari, di cui si riporta un esempio (b).

L'AGAR e la solidificazione delle piastre



L'agar è un polisaccaride derivato da alghe rosse che solidifica intorno ai 50°C , non viene utilizzato dalla gran parte dei batteri come fonte di carbonio

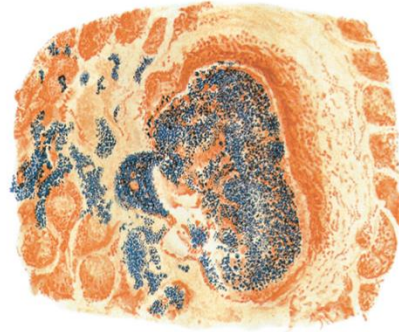
Fannie Hesse ebbe l'intuizione che poteva essere utilizzato nei terreni di coltura in sostituzione della gelatina

Koch introdusse il concetto di coltura pura:

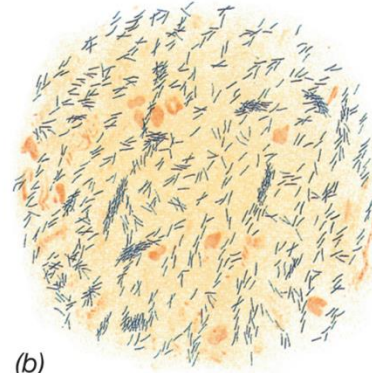
ipotizzo che ogni colonia derivasse da una singola cellula batterica

nacque la ricerca di terreni di coltura per la crescita delle colonie batteriche

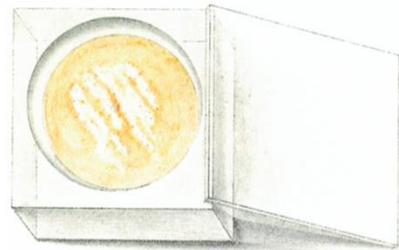
Il contributo di Koch allo studio della tubercolosi



(a)



(b)



(c)



(d)

M.T. Madigan, J.M. Martinko

Brock, Biologia dei Microrganismi

Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

Disegni di Koch riguardanti le cellule di *Mycobacterium tuberculosis*

Sezione di un tubercolo del tessuto polmonare: le cellule di *M.tuberculosis* appaiono blu

Schema di un espettorato , le cellule sono visibili in blu

Crescita su piastra di Petri

Osservazione al microscopio (700x) : le cellule appaiono come cordoncini

Koch nel 1881 iniziò a dedicarsi alla tubercolosi, una malattia responsabile all'epoca di un settimo dei casi di mortalità.

Mycobacterium tuberculosis è un agente difficile da colorare per la presenza di lipidi cerosi sulla parete.

Grazie ad una specifica colorazione basata sull'utilizzo di una soluzione alcalina di blu di metilene in associazione con un colorante (Bismark brown) che colorava solo i tessuti Koch riuscì ad identificare cellule di **M.tuberculosis** di forma bastocellare.

La coltivazione del batterio risultò alquanto difficile visti i lunghi tempi di generazione e le numerose richieste nutritive .

Beijerinck (1851-1931)

fondatore della microbiologia ambientale

e non solo....

si dedicò ai microrganismi del suolo

concetto di coltura da arricchimento

propose il metodo di coltura selettiva per far crescere solo alcuni gruppi di microrganismi rispetto ad altri.

Isolò i batteri azotofissatori facendo crescere una coltura mista su piastre con terreno privo di azoto.

Riuscì ad isolare in coltura pura alcuni batteri da campioni di suolo o di acque

- solfato-riduttori
- solfato ossidanti
- azoto-fissatori
- Lattobacilli

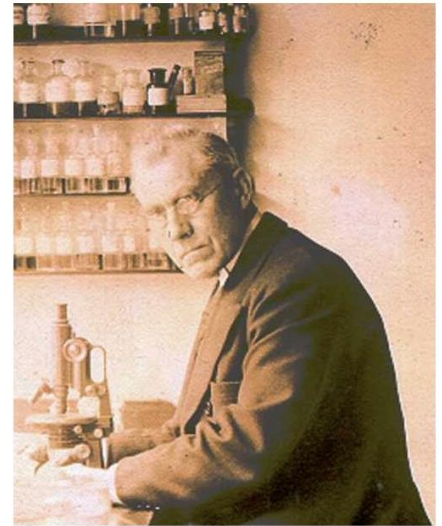


Figura 1.16 MARTINUS BEIJERINCK.

A M. Beijerinck si deve anche la scoperta dei VIRUS Fondatore della virologia

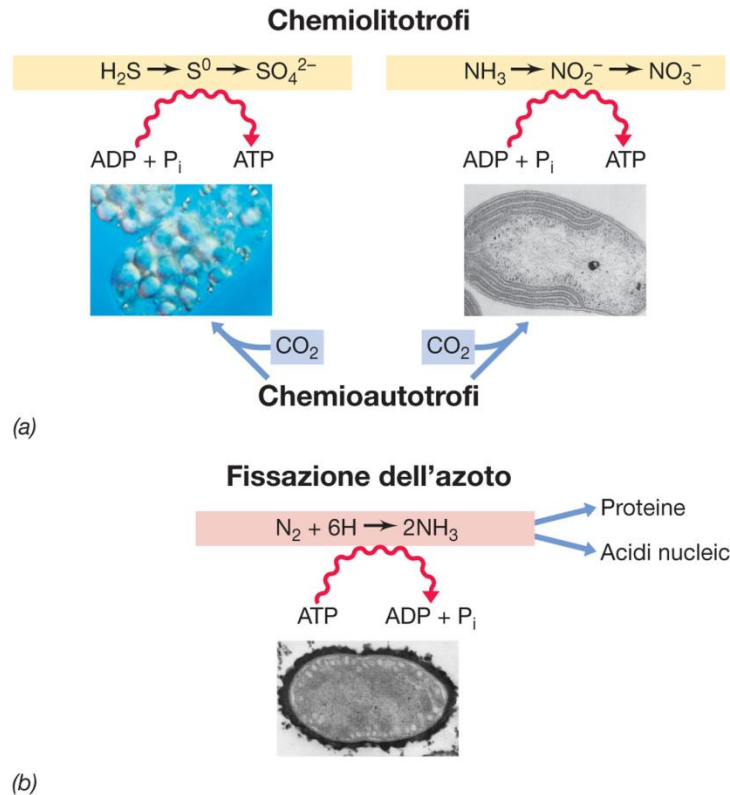
1889 : dimostrò che l'agente infettivo poteva non essere un batterio ma un elemento filtrabile definito virus che richiedeva una cellula vitale per potersi riprodurre.

- Il virus mosaico del tabacco
- A lui si deve il concetto che il patogeno può essere una "molecola solubile" che prolifera quando diviene inserita nel citoplasma di una cellula vivente

Vinogradskij (1856-1953) molto interessato alla microbiologia del suolo

- studio i gruppi batterici coinvolti nei cicli dell'azoto e dello zolfo;
- dimostrò che il processo di nitrificazione (ossidazione di NH_3 a nitrati) era dovuto a metabolismo batterico;
- propose il **concetto di chemiolitiotrofia**, l'ossidazione di composti inorganici accoppiata a rilascio di energia
- introdusse il concetto di **autotrofia** nei batteri ovvero l'utilizzazione di CO_2 come fonte di Carbonio
- introdusse il concetto di **fissazione dell'azoto** da parte dei microrganismi isolando *Clostridium pasteurianum*

Principali concetti sviluppati da Sergei Vinogradskij.



M.T. Madigan, J.M. Martinko

Brock, Biologia dei Microrganismi

Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

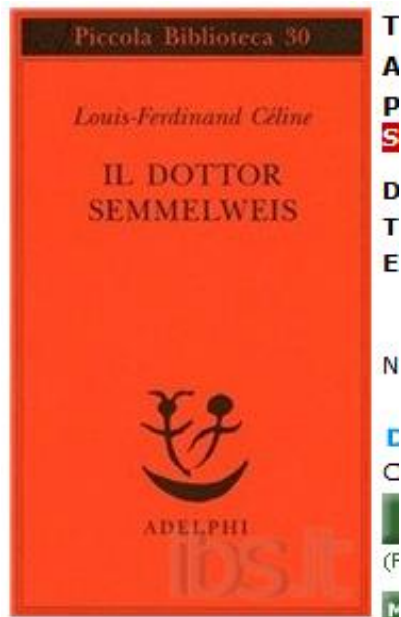
Chemiolitotrofia: Ossidazione dei composti di zolfo o dell'azoto per la produzione di ATP

Chemioautotrofia: Fonte di carbonio ottenuta da CO₂

Fissazione dell'azoto consuma ATP ma viene utilizzato azoto gassoso come fonte di azoto

Scopritori dei principali batteri patogeni

Anno	Malattia	Batterio	Scopritore
1873	Lebbra	<i>Mycobacterium leprae</i>	G. Hansen
1877	Antrace	<i>Bacillus anthracis</i>	R. Koch
1878	Infez. Suppor.	<i>Staphylococcus</i>	R.Koch
1879	Gonorrea	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	A. Neisser
1880	Febbre tifoide	<i>Salmonella typhi</i>	C. Eberth
1882	Tubercolosi	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	R. Koch
1883	Colera	<i>Vibrio cholerae</i>	R. Koch
1883	Difterite	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	T. Klebs
1884	Tetano	<i>Clostridium tetani</i>	Nicolaier
1885	Diarrea	<i>Escherichia coli</i>	T. Escherich
1886	Polmonite	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	A. Fraenkel
1887	Meningite	<i>Neisseria meningitis</i>	A. Weichlbaum
1894	Peste	<i>Yersinia pestis</i>	A. Yersin S. Kitasato
1896	Botulismo	<i>Clostridium botulinum</i>	van Ernengem
1898	Dissenteria	<i>Shigella dysenteriae</i>	K. Shiga
1903	Sifilide	<i>Treponema pallidum</i>	Schaudin Hoffmann
1906	Pertosse	<i>Bordetella pertussis</i>	Bordet Gengou

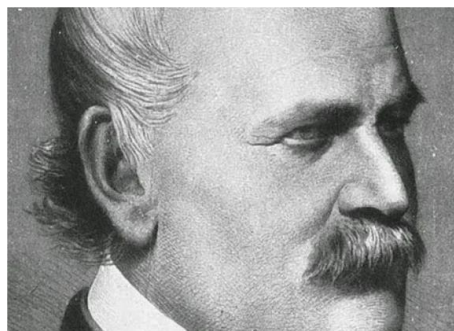


T
A
P
S
D
T
E

N
C
C
F
T

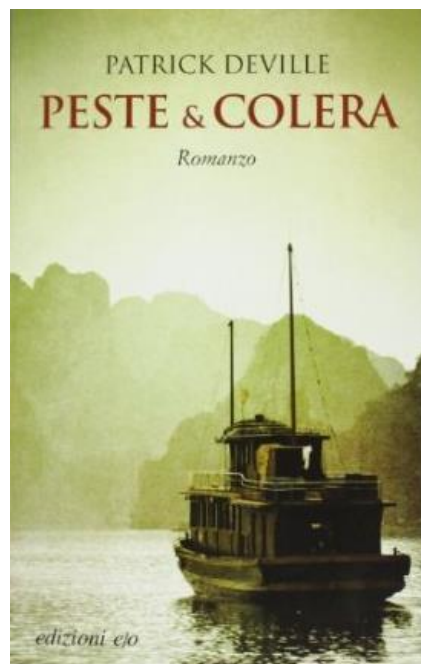
Lettere consigliate

Romanzo : la scoperta delle malattie infettive



1818-1865

1847 scopre la trasmissione tramite contatto delle malattie infettive



Romanzo : la vita di A. Yersin, allievo di L. Pasteur e la scoperta di Y.pestis



1863-1943

1894 scopre l'agente della peste Yersinia pestis