

**BIOLOGIA
MICROBIOLOGIA
BIOTECNOLOGIE**

VOLUME 2

Sommario della sezione online

ESERCITAZIONI DI LABORATORIO

Introduzione

Il reperimento di materiale microbico per le ricerche scolastiche

La realizzazione di uno stagno didattico

Le colture microbiche

1. Preparazione di un terreno di coltura liquido
2. Preparazione di un terreno di coltura agarizzato
3. Semina e coltura di microrganismi in un terreno di coltura liquido
4. Semina e coltura di microrganismi in un terreno di coltura agarizzato
5. Coltivare un lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) in terreni di coltura liquidi e agarizzati
6. Coltivare una muffa (*Penicillium glaucum*)
7. Coltivare le alghe
8. Coltivare i protozoi
9. Coltivare un batterio (*Bacillus clausii*)

Osservazioni microscopiche a fresco

10. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di *Saccharomyces cerevisiae* in gemmazione
11. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica dell'epidermide di bulbo di cipolla
12. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di foglie di *Elodea canadensis*
13. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di ife settate in muffe del genere *Penicillium*
14. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica dei batteri dello yogurt
15. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di bacilli e spore del *Bacillus clausii*
16. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica del carpoforo di un basidiomicete
17. Le briofite (muschi): allestimento di preparati a fresco e osservazione stereomicroscopica e microscopica
18. Le pteridofite (felci): allestimento di preparati a fresco e osservazione stereomicroscopica e microscopica
19. Le angiosperme (piante con semi, fiori e frutti): allestimento di preparati a fresco e osservazione stereomicroscopica e microscopica
20. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di cellule muscolari striate

21. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di cellule dell'epitelio della mucosa orale
22. Allestimento di un preparato a fresco con blu di metilene e osservazione microscopica di cellule muscolari striate
23. Allestimento di un preparato a fresco con blu di metilene e osservazione microscopica di cellule dell'epidermide di cipolla
24. Allestimento di un preparato a fresco con blu di metilene e osservazione microscopica di cellule dell'epitelio della mucosa orale

Osservazioni microscopiche dopo colorazione

25. Allestimento di preparati batteriologici essiccati e colorati
26. Colorazione monocromatica e osservazione microscopica di campioni microbici
27. Colorazione di Gram e osservazione microscopica di stafilococchi e di enterobatteri
28. Colorazione di Alessandrini e osservazione microscopica di spore e di batteri sporigeni
29. Colorazione con verde malachite e osservazione microscopica di spore e di batteri sporigeni
30. Colorazione e osservazione microscopica di batteri dello yogurt
31. Colorazione con orceina acetica e osservazione microscopica delle mitosi in apici radicali della cipolla
32. Colorazione di May-Grünwald-Giemsa e osservazione microscopica di cellule ematiche

GLOSSARIO

I principali termini impiegati in ambito chimico-biologico

APPENDICI

Abbreviazioni chimico-biologiche
Aminoacidi e abbreviazioni
Codice genetico
Unità di misura e abbreviazioni
Prefissi e abbreviazioni del Sistema Internazionale di Misura
Costanti fisiche utilizzate in termodinamica
Alfabeto greco antico
Elementi chimici: simboli, nomi e numeri atomici



LA SEZIONE SCARICABILE ONLINE
è disponibile all'indirizzo

<http://www.piccin.it/libri/9788829927722/biologia-microbiologia-biotecnologie.html>

BRUNO TINTI

BIOLOGIA MICROBIOLOGIA BIOTECNOLOGIE

Per i corsi di Biotecnologie sanitarie

VOLUME 2

- Gli acellulari
- Le interazioni microbiche
- DNA ricombinante e cellule staminali
- Biotecnologie industriali e agrarie
- Alimenti, igiene e salute
- Tossicologia e farmacologia

Con espansione online:

- Schede di laboratorio
- Glossario
- Appendici chimico-biologiche

PICCIN

Opera coperta dal diritto d'autore – tutti i diritti sono riservati.

Questo testo contiene materiale, testi ed immagini, coperto da copyright e non può essere copiato, riprodotto, distribuito, trasferito, noleggiato, licenziato o trasmesso in pubblico, venduto, prestato a terzi, in tutto o in parte, o utilizzato in alcun altro modo o altrimenti diffuso, se non previa espressa autorizzazione dell'editore. Qualsiasi distribuzione o fruizione non autorizzata del presente testo, così come l'alterazione delle informazioni elettroniche, costituisce una violazione dei diritti dell'editore e dell'autore e sarà sanzionata civilmente e penalmente secondo quanto previsto dalla L. 633/1941 e ss.mm.

ISBN 978-88-299-2772-2

In copertina: ameba lobosa (Chaos diffluens)
(foto di Arturo Agostino)

Stampato in Italia



A Elisabetta

Raffaele, Gabriele e Alessandra

Prefazione

La *biologia* (dal greco *bios* = *vita* e *lògos* = *discorso*) è la scienza che studia tutto ciò che riguarda la vita; studia, pertanto, le caratteristiche strutturali, funzionali e comportamentali degli organismi, oltre che la loro classificazione.

La scuola greca fu la prima a studiare i fenomeni naturali con due indirizzi diversi:

- un indirizzo filosofico che mirava a scoprire le leggi della natura;
- un indirizzo medico che studiava l'anatomia e la fisiologia.

Aristotele fu il primo a separare lo studio dei viventi da quello della medicina. Fu in grado di ordinare più di 500 specie di animali in classi, nelle quali incluse anche l'uomo. Distinse gli animali con sangue da quelli senza sangue; divise gli animali con sangue in: pesci, animali terrestri che depongono uova, uccelli e mammiferi. Distinse, inoltre, i cetacei dai pesci.

Gli studi biologici furono scarsamente importanti nel periodo romano. Una figura di rilievo di questo periodo è rappresentata da *Galeno*, il medico dei gladiatori, che dimostrò una notevole conoscenza del corpo umano. Alla caduta dell'Impero Romano gli studi scientifici si spostarono nel mondo orientale; da personaggi del mondo arabo sorse la *Scuola Medica Salernitana*, la più importante istituzione medica del Medioevo.

Lo studio dell'anatomia umana fece notevoli progressi nel periodo rinascimentale con *Leonardo da Vinci* (1452-1519); di lui restano importanti testimonianze degli studi anatomici eseguiti con grande cura sui cadaveri. Un'altra figura di rilievo di questo periodo è rappresentata da *Andrea Vesalio* (*Andreas van Wesel*, 1514-1564) medico e anatomista fiammingo che deve essere considerato il fondatore della moderna anatomia. Di rilievo una sua pubblicazione (*"De humani corporis fabrica"*) basata su studi anatomici da lui stesso eseguiti.

Come tutte le altre scienze, quelle biologiche furono influenzate in modo decisivo dall'opera di *Galileo Galilei* (1564-1642), che evidenziò la necessità di giungere per qualsiasi attività scientifica a "sensate esperienze" insieme alla formulazione delle ipotesi.

Nel diciassettesimo secolo *William Harvey* dimostrò che nel corpo umano il sangue circolava continuamente. *Cartesio* (*René Descartes*, 1596-1650) sostenne che il corpo umano funzionava come una macchina basata su leve e che ogni singola funzione potesse essere spiegata in modo meccanico. *Georg Ernst Stahl* (1660-1734) si contrappose in modo netto a Cartesio; affermò che le parti che compongono l'uomo sono indivisibili e irriproducibili perché tenute insieme da un'anima e le funzioni vitali ubbidiscono a leggi diverse da quelle fisiche.

In questo stesso secolo *Antony van Leeuwenhoek* (1632-1723), impiegando microscopi dotati di una sola lente, da lui stesso costruiti, eseguì osservazioni su numerosi campioni che gli consentirono di scoprire l'esistenza di minuscoli organismi (batteri, protozoi, lieviti, ecc.). Con l'impiego del microscopio composto, *Robert Hooke* (1635-1703) studiò invece le cellule.

La sistematica fece notevoli progressi con l'opera di *Linneo* (*Carl Nilsson Linnaeus*, 1707-1778) che giunse alla classificazione dei viventi, mediante la creazione di un ordine gerarchico e l'impiego della nomenclatura binomiale.

Nel secolo diciannovesimo da *Rudolf Ludwig Karl Virchow* (1821-1902) fu formulata la teoria cellulare, secondo cui gli organismi viventi sono costituiti da elementi cellulari ed ogni cellula deriva da una cellula preesistente. In questo secolo, anche grazie alla messa a punto di microscopi più potenti, si sviluppò lo studio dei microrganismi.

Nel secolo ventesimo gli studi biologici sono stati caratterizzati, in particolare, dal grande sviluppo delle conoscenze genetiche e molecolari, che hanno radicalmente cambiato il modo con cui eseguire le ricerche.

La moderna biologia è diretta conseguenza di questo tipo di approccio.

La nascita e lo sviluppo della microbiologia hanno preso origine dagli studi di *Louis Pasteur* (1822-1895) e *Robert Koch* (1843-1910), che si sono avvicinati ai microrganismi in quanto responsabili di malattie negli organismi superiori. In seguito i progressi sono stati innumerevoli ed il livello delle conoscenze sempre più approfondito. Per la loro semplicità organizzativa, i batteri sono divenuti un modello di studio per tutta la ricerca biologica, tanto che le conoscenze acquisite sui procarioti sono state fondamentali per la comprensione dei processi biologici presenti anche negli organismi più evoluti.

I microrganismi sono rappresentati da innumerevoli specie, distinguibili dal punto di vista morfologico, strutturale, metabolico, antigenico, ecc.; spesso interagiscono con altri organismi viventi ed hanno un ruolo fondamentale nell'economia della biosfera, alcuni di essi partecipano attivamente alla sintesi della sostanza organica, altri alla decomposizione della stessa, grazie alla notevole capacità degradativa che li caratterizza.

Nel corso degli studi i ricercatori si sono resi conto rapidamente del coinvolgimento dei microrganismi in diversi processi utilizzati dall'uomo da tempo immemorabile, come la produzione del vino, della birra, del pane, dello yogurt, dei formaggi. La possibilità di controllare tali processi ha aperto la strada alle moderne microbiotecnologie, vale a dire ad applicazioni finalizzate alla produzione di una grande varietà di beni e servizi.

Dagli anni '70 in poi lo sviluppo delle tecniche di ricombinazione del DNA ha permesso di mettere a punto strategie dalle enormi possibilità applicative. In laboratorio geni molto lontani dal punto di vista evolutivo possono essere ricombinati permettendo processi del tutto inattuabili in natura. Siamo solo all'inizio di questo itinerario, ma, oltre alle grandi potenzialità, si possono intravedere anche importanti problematiche, per l'uomo e per la natura nel suo complesso, che devono rendere attente le diverse Istituzioni nazionali ed internazionali nella regolamentazione e nel controllo dei processi biotecnologici

BIOLOGIA, MICROBIOLOGIA E BIOTECNOLOGIE NELLA SCUOLA SECONDARIA SUPERIORE

Con la recente riforma della scuola secondaria superiore, ai corsi *biologici* e *biologico-sanitari* inseriti nel precedente ordinamento, sono subentrati i corsi *biotecnologici ambientali* e *biotecnologici sanitari*. Naturalmente la revisione dei corsi è stata accompagnata anche da una profonda revisione degli ambiti disciplinari. In particolare nel triennio dei corsi biotecnologici sanitari è stata introdotta una disciplina denominata *"Biologia, Microbiologia e Tecnologie di controllo sanitario"*, men-

tre nei corsi biotecnologici ambientali è stata introdotta la *"Biologia, Microbiologia e Tecnologie di controllo ambientale"*; entrambe le discipline prevedono la trattazione di una complessa serie di argomenti di cui, talora, risulta difficile trovare un filo conduttore. Pertanto il mio lavoro è stato attento a cercare di armonizzare tutto quanto doveva essere trattato, attraverso un itinerario che potesse essere il più organico possibile. In particolare il testo intende essere un supporto per l'insegnamento della *"Biologia, Microbiologia e Tecnologie di controllo sanitario"*, una disciplina che concorre a far conseguire allo studente, al termine del percorso quinquennale, i seguenti risultati di apprendimento relativi al profilo educativo, culturale e professionale:

1. riconoscere gli aspetti geografici, ecologici, territoriali dell'ambiente naturale ed antropico, le connessioni con le strutture demografiche, economiche, sociali, culturali e le trasformazioni intervenute nel corso del tempo;
2. acquisire le competenze sull'uso di strumenti tecnologici finalizzato al miglioramento della sicurezza nei luoghi di vita e di lavoro, alla tutela della persona, dell'ambiente e del territorio;
3. saper intervenire nelle diverse fasi e livelli del processo produttivo, dall'ideazione alla realizzazione del prodotto, utilizzando al meglio gli strumenti di progettazione, documentazione e controllo.

OBIETTIVI DEL TESTO

L'obiettivo fondamentale del testo è quello di fornire agli studenti strumenti teorico-pratici necessari a giungere alla comprensione del mondo biologico e microbiologico e delle tecniche alla base dei processi biotecnologici, ormai largamente impiegati nelle produzioni industriali ed agrarie. Alcuni contenuti presenti nel testo appaiono strettamente interconnessi a quelli di altri insegnamenti, come la *Biochimica*, la *Biologia molecolare* (ad es. bioenergetica e metabolismo microbico, genetica dei procarioti, ricombinazione del DNA), la *Storia* (ad es. aspetti storici connessi all'evoluzione della microbiologia), la *Fisica* (ad es. spettro elettromagnetico e lenti). Tutto questo per offrire una visione meno settoriale e permettere agli studenti di acquisire una conoscenza organica del mondo biologico e delle sue possibilità applicative nell'ambito dei processi produttivi attuali.

REALIZZAZIONE

Vista la complessa articolazione degli argomenti inseriti nell'ambito della disciplina, la realizzazione del testo ha necessariamente richiesto una lunga fase di ricerca bibliografica ed iconografica. Una significativa parte del presente testo, vale a dire la parte microbiologica, è derivata dalla revisione del precedente testo di microbiologia; di questo è stata rivista anche la par-

te iconografica per meglio armonizzare il rapporto tra contenuti ed immagini, cercando di rendere l'opera più accattivante possibile. Ho cercato di porre particolare attenzione alle illustrazioni inserendo, ove necessario, disegni e grafici, che potessero facilitare la comprensione dei contenuti proposti.

Le immagini all'M.O. sono state ottenute in parte utilizzando l'archivio della *Casa Editrice Piccin Nuova Libreria*, in parte direttamente presso il *Laboratorio di Microscopia dell'ISTVAS di Ancona* impiegando *Microscopio Leica Laborlux* in campo chiaro ed in contrasto di fase con *fotocamera Leica EMC3*. Una parte delle immagini all'M.O. sono state ottenute impiegando microscopio *Zeiss Universal* in campo chiaro, contrasto di fase e contrasto interferenziale con *fotocamera Canon EOS 1000*. Una parte significativa delle immagini è tratta dal sito del *Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, USA*.

STRUTTURA

Il testo è suddiviso in 2 volumi, 13 parti e 49 capitoli. Alla fine di ogni capitolo è presente un questionario che permette un regolare riscontro delle abilità acquisite dagli studenti. Ogni volume è corredato di indice generale ed analitico.

Volume 1

Parte I. Le basi della biologia. Sono approfonditi gli argomenti che riguardano gli aspetti fondamentali del mondo dei viventi, in particolare le molecole alla base della vita, le diverse strutture dei viventi (acellulari, cellulari eucariotici e cellulari procariotici), l'organizzazione e le diverse tassonomie dei viventi.

Parte II. Il laboratorio di biologia-microbiologia. Sono presi in considerazione i diversi aspetti connessi con le attività di laboratorio. È dato adeguato spazio allo studio degli strumenti necessari allo sviluppo delle attività biologiche e microbiologiche. Sono approfonditi, in particolare, gli strumenti microscopici e le tecniche microscopiche utilizzate in ambito istologico, citologico e microbiologico. Una parte significativa è destinata allo studio dei pericoli connessi con le attività biologiche, alla quantificazione dei pericoli e delle condizioni che possono ridurre il rischio biologico.

Parte III. La crescita microbica. Sono trattate le esigenze chimico-fisiche e nutrizionali dei microrganismi, le loro diverse modalità di crescita, le tecniche colturali e le tecniche impiegate nel controllo della crescita microbica.

Parte IV. Bioenergetica e metabolismo. Sono approfonditi gli elementi alla base dei processi bioenergetici, quindi sono analiticamente trattati i principali processi bioenergetici degli organismi eterotrofi ed autotrofi.

Parte V. Riproduzione ed ereditarietà. Sono esaminati la riproduzione mitotica e meiotica, le ricerche men-

deliane e post-mendeliane, per giungere, infine, ad un approfondimento della struttura e funzione del genoma procariotico.

Parte VI. I microrganismi eucariotici. Sono approfonditi i caratteri strutturali fisiologici ed ecologici relativi ai funghi, alle alghe ed ai protozoi e dei principali gruppi in essi compresi.

Parte VII. Tassonomia e identificazione dei procarioti. Sono esaminati i criteri con cui sono classificati i procarioti e descritti i principali gruppi nei quali sono suddivisi. Dei batteri sono anche esaminati i più importanti sistemi impiegati per giungere alla loro identificazione.

Volume 2

Parte VIII. Gli acellulari. Sono approfonditi gli aspetti relativi ai microrganismi privi di una struttura cellulare. Dei *virus*, *viroidi* e *prioni* sono esaminati in particolare: struttura, modalità riproduttive e processi patologici che producono negli organismi ospiti.

Parte IX. Le interazioni microbiche. Sono presi in esame gli aspetti ecologici dei microrganismi, vale a dire i meccanismi con cui interagiscono con l'ambiente circostante nel suo complesso e, in particolare, con gli altri organismi. Sono trattati i diversi processi simbiotici ed i principali meccanismi patogenetici. Sono inoltre esaminati in modo approfondito i processi immunitari presenti negli organismi più evoluti.

Parte X. DNA ricombinante e cellule staminali. Sono presi in esame le basi tecniche della tecnologia del DNA ricombinante, le diverse possibilità applicative di questa tecnologia. Sono trattati, inoltre, i processi impiegati nella produzione delle cellule staminali ed i relativi campi di applicazione.

Parte XI. Biotecnologie industriali e agrarie. Sono presi in esame i microrganismi impiegati nei processi biotecnologici ed i più importanti settori applicativi delle biotecnologie. In particolare sono trattati: i microrganismi impiegati nei processi biotecnologici, i principali prodotti biotecnologici, le biotecnologie industriali, le biotecnologie agrarie e le biotecnologie relative alla produzione dei farmaci.

Parte XII. Alimenti, igiene e salute. Sono esaminati in modo approfondito i diversi aspetti relativi alla produzione degli alimenti, con particolare riguardo alle possibili contaminazioni da parte di agenti chimici, fisici e biologici, ai metodi di risanamento, di conservazione e di controllo della qualità degli alimenti stessi.

Parte XIII. Tossicologia e farmacologia. Sono approfonditi gli aspetti relativi alla produzione dei farmaci e le basi della farmacocinetica e della farmacodinamica. Sono esaminati, inoltre, le basi della tossicologia, i meccanismi ed il controllo della mutagenesi ambientale ed alcuni processi biodegradativi che presentano una rilevante importanza applicativa.

Ringraziamenti

La forte passione per la biologia, il disegno e la fotografia ed un certo spirito autarchico mi hanno spinto, oltre alla stesura del testo, alla elaborazione degli schemi, dei disegni e di una gran parte delle immagini. È chiaro, tuttavia, che lo sviluppo di un testo così complesso non sarebbe stato possibile senza l'aiuto di altri. Una parte consistente dei contenuti presenti in questo libro è derivata dalla rielaborazione del testo di microbiologia destinato ai corsi *biologici* e *biologico-sanitari*, la cui realizzazione è frutto di un lungo lavoro svolto in collaborazione con gli studenti ed i docenti di Scienze durante il mio lungo periodo di insegnamento presso l'*Istituto Superiore Vanvitelli Angelini Stracca (ISTVAS) di Ancona*. Quindi un grande ringraziamento va agli studenti che hanno frequentato le mie lezioni e a tutti coloro che hanno partecipato attivamente alla realizzazione dei corsi di *Microbiologia* e *Biochimica e Biologia molecolare*.

Un particolare ringraziamento va alla Sig.ra *Luana Pagliaccio* che, in qualità di assistente tecnico, ha collaborato con me allo sviluppo delle attività di laboratorio in modo sempre puntuale e paziente. Non secondaria è stata la collaborazione fornita dalla Prof.ssa *Elisabetta Morelli*, mia collega per tanti anni all'ISTVAS di Ancona, e da parte degli altri insegnanti di scienze, in particolare di: *Elisabetta Contella, Rosaria Spagnuolo, Catia Massimi, Loredana Brutti, Giuseppina Carrieri* e *Fabio Grandacci*.

Per il reperimento di molte immagini, oltre che dell'archivio della *Piccin Nuova Libreria*, mi sono avvalso della collaborazione di numerosi privati ed Istituzioni pubbliche italiane ed estere. Un importante contributo è stato fornito dal Prof. *George L. Barron (Ph.D., D.Sc., School of Environmental Sciences, University of Guelph, Ontario, Canada)* che mi ha concesso l'autorizzazione per inserire immagini micologiche di notevole qualità grafica ed efficacia didattica.

Alcune immagini di virus ottenute all'M.E. sono state gentilmente fornite dall'*Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche*.

Un sentito ringraziamento va al Sig. *Arturo Agostino*, microscopista di livello elevatissimo (a cui talora mi ispiro nella realizzazione delle mie immagini all'M.O.), che amichevolmente mi ha concesso l'autorizzazione per la pubblicazione di immagini di grande efficacia di microrganismi eucariotici e procariotici ottenute mediante microscopia interferenziale (DIC).

Le immagini dei microscopi elettronici a trasmissione (TEM) ed a scansione (SEM) sono state acquisite presso il *Centro Interdipartimentale dei servizi di Microscopia delle Nanostrutture (CISMIN) dell'Università Politecnica delle Marche*.

Un grazie va alla *Leica Biosystems* ed alla *Leica Microsystems* per le suggestive immagini del citoscheletro ottenute mediante microscopia ottica confocale.

Inoltre, una menzione particolare per:

- *Juris Vanags*, Chairman of Board Biotehniskais centrs, Riga, Latvia;
- *Craig Bremmon*, CEBTech Services, Aberdeen, South Dakota, USA.

Non nascondo un certo orgoglio per aver visto realizzare i miei lavori dalla *Casa Editrice Piccin Nuova Libreria*, i cui testi mi hanno accompagnato lungo tutto il mio percorso di studi universitari e post-universitari. Per cui grande riconoscenza va al Dott. *Massimo Piccin*, con cui ho iniziato una proficua collaborazione ormai da diversi anni, e al Dott. *Nicola Piccin* per l'opportunità che mi ha ulteriormente concesso e per il costante supporto fornito durante la realizzazione del testo. Un particolare ringraziamento è per la Dott.ssa *Carla Criconia*, per la disponibilità, l'estrema attenzione a tutti i particolari del lavoro e la competenza dimostrata.

Per ultimi, ma primi per affetto, devo ringraziare mia moglie *Loredana*, che ha collaborato con me nella realizzazione del precedente testo di *Microbiologia* che ha rappresentato la base del presente lavoro, ed i miei figli, *Gabriele* e *Raffaele* che, con grande pazienza, mi hanno supportato quando, di tanto in tanto, le mie "rilevanti" carenze informatiche venivano inevitabilmente alla luce.

Indice generale

PARTE VIII ■ GLI ACELLULARI

25 ■ I virus 461

- 25.1 Posizione dei virus tra i viventi 461
- 25.2 Storia della virologia 462
- 25.3 Architettura del virione 463
 - 25.3.1 Il genoma virale 463
 - 25.3.2 Il rivestimento capsidico 464
 - 25.3.3 Il rivestimento pericapsidico 465
- 25.4 Tipologie virali 466
- 25.5 Replicazione virale nelle cellule animali 466
 - 25.5.1 Infezione produttiva 468
 - 25.5.2 Infezione latente o integrativa 473
- 25.6 Virus batterici 475
 - 25.6.1 Architettura dei fagi 475
 - 25.6.2 Classificazione dei fagi 477
 - 25.6.3 Ciclo litico 477
 - 25.6.4 Ciclo lisogeno 479
- 25.7 Oncogenesi virale 482
 - 25.7.1 Trasformazione cellulare 482
 - 25.7.2 Meccanismi molecolari dell'oncogenesi virale 483
- Domande di verifica 485

26 ■ Classificazione degli acellulari 487

- 26.1 Criteri di classificazione degli acellulari 487
- 26.2 Virus a DNA a doppio filamento (dsDNA) 488
 - 26.2.1 Famiglia *Adenoviridae* 488
 - 26.2.2 Famiglia *Polyomaviridae* 490
 - 26.2.3 Famiglia *Papillomaviridae* 490
 - 26.2.4 Famiglia *Herpesviridae* 492
 - 26.2.5 Famiglia *Poxviridae* 496
- 26.3 Virus a DNA a singolo filamento (ssDNA) 498
 - 26.3.1 Famiglia *Parvoviridae* 498
- 26.4 Virus a DNA con retrotrascrittasi 499

- 26.4.1 Famiglia *Hepadnaviridae* 499
- 26.5 Virus a RNA a doppio filamento (dsRNA) 500
 - 26.5.1 Famiglia *Reoviridae* 500
- 26.6 Virus a RNA a singolo filamento positivo (ssRNA+) 503
 - 26.6.1 Famiglia *Picornaviridae* 503
 - 26.6.2 Famiglia *Caliciviridae* 506
 - 26.6.3 Famiglia *Togaviridae* 507
 - 26.6.4 Famiglia *Flaviviridae* 508
 - 26.6.5 Famiglia *Coronaviridae* 509
- 26.7 Virus a RNA a singolo filamento negativo (ssRNA-) 511
 - 26.7.1 Famiglia *Orthomyxoviridae* 511
 - 26.7.2 Famiglia *Paramyxoviridae* 514
 - 26.7.3 Famiglia *Rhabdoviridae* 516
 - 26.7.4 Famiglia *Filoviridae* 517
 - 26.7.5 Famiglia *Bunyaviridae* 519
 - 26.7.6 Famiglia *Arenaviridae* 520
- 26.8 Virus a RNA con retrotrascrittasi 521
 - 26.8.1 Famiglia *Retroviridae* 521
- 26.9 Agenti subvirali: viroidi e prioni 528
 - 26.9.1 Viroidi 528
 - 26.9.2 Prioni 529
 - 26.9.3 Patologie prioniche 530
- Domande di verifica 531

27 ■ Diagnostica virale 533

- 27.1 Ricerche dei virus e delle loro componenti... 533
 - 27.1.1 Trattamento dei campioni 533
 - 27.1.2 Esame microscopico 535
 - 27.1.3 Esame colturale 535
 - 27.1.4 Identificazione 537
 - 27.1.5 Titolazione dei virus 538
- 27.2 Ricerche sierologiche 539
- 27.3 Allestimento delle colture cellulari 540
- Domande di verifica 544

PARTE IX ■ LE INTERAZIONI MICROBICHE**28 ■ Ecologia microbica 547**

- 28.1 Terminologia e scopi dell'ecologia 547
- 28.2 L'ecosistema 547
 - 28.2.1 Struttura dell'ecosistema 548
 - 28.2.2 Ecosistema ed energia 548
 - 28.2.3 Ruolo dei microrganismi nell'ecosistema 549
- 28.3 Interazioni nell'ambito della popolazione. 551
- 28.4 Interazioni microbiche con l'ambiente. 552
 - 28.4.1 I cicli biogeochimici 552
- Domande di verifica. 559

29 ■ Il potere patogeno dei microrganismi 561

- 29.1 Introduzione 561
- 29.2 Flora microbica normale dell'uomo 562
 - 29.2.1 La cute 562
 - 29.2.2 L'apparato digerente. 563
 - 29.2.3 L'apparato respiratorio. 563
 - 29.2.4 L'apparato uro-genitale 563
- 29.3 Caratteri fondamentali delle patologie microbiche 564
- 29.4 Azione patogena dei batteri 564
 - 29.4.1 Infettività 564
 - 29.4.2 Invasività. 564
 - 29.4.3 Produzione di enzimi e tossine. 565
 - 29.4.4 Mimetismo antigene 566
- 29.5 Azione patogena dei virus 566
 - 29.5.1 Infezione virale 566
 - 29.5.2 Invasione virale. 567
 - 29.5.3 Elusione delle difese dell'ospite 568
- 29.6 Azione patogena dei funghi 568
 - 29.6.1 Micosi. 568
 - 29.6.2 Micotossicosi. 568
- 29.7 Azione patogena dei protozoi. 570
- 29.8 Azione patogena delle alghe. 571
- Domande di verifica. 572

30 ■ Elementi di immunologia 573

- 30.1 Evoluzione del sistema immunitario 573
- 30.2 Storia delle ricerche immunologiche 574
- 30.3 Organizzazione del sistema immunitario 575
 - 30.3.1 Componenti aspecifiche 576
 - 30.3.2 Componenti specifiche 581
- 30.4 Meccanismi della risposta immunitaria 589
- 30.5 Profilassi immunitaria delle malattie infettive. 590
- 30.6 Fenomeni di ipersensibilità 594
 - 30.6.1 Ipersensibilità immediata (tipo 1) 594
 - 30.6.2 Ipersensibilità citotossica (tipo 2). 595
 - 30.6.3 Ipersensibilità da immunocomplesso (tipo 3) 595
 - 30.6.4 Ipersensibilità ritardata (tipo 4). 595

- 30.7 Autoimmunità. 596
- 30.8 Reazione antigene-anticorpo 596
 - 30.8.1 Tecniche immunologiche 597
- Domande di verifica. 601

PARTE X ■ DNA RICOMBINANTE E CELLULE STAMINALI**31 ■ Biotecnologie tradizionali e innovative 605**

- 31.1 Biotecnologie tradizionali. 605
- 31.2 Nascita delle microbiotecnologie. 606
- 31.3 Biotecnologie innovative 607
- 31.4 Principali tappe delle biotecnologie 607
- 31.5 Principali settori biotecnologici 609
 - 31.5.1 Biotecnologie farmaceutiche (red biotechnology). 609
 - 31.5.2 Biotecnologie agroalimentari (green biotechnology) 609
 - 31.5.3 Biotecnologie industriali (white biotechnology) 609
 - 31.5.4 Biotecnologie ambientali (grey biotechnology). 610
 - 31.5.5 Biotecnologie marine (blue biotechnology) 610
- 31.6 Principali vantaggi delle biotecnologie innovative. 611
- 31.7 Aspetti bioetici 611
- Domande di verifica. 612

32 ■ Tecnologia del DNA ricombinante . . 613

- 32.1 Tecniche alla base della ricombinazione del DNA 614
 - 32.1.1 Enzimi di restrizione 614
 - 32.1.2 Elettroforesi del DNA 616
 - 32.1.3 Ibridazione del DNA e sonde molecolari. 617
 - 32.1.4 Southern blotting 619
 - 32.1.5 Amplificazione del DNA mediante PCR 620
 - 32.1.6 Vettori del clonaggio genico 623
 - 32.1.7 Librerie di DNA 626
 - 32.1.8 Sequenziamento del DNA 626
 - 32.1.9 Biosensori e microarray (chip a DNA) 629
- 32.2 Ricombinazione del DNA batterico con geni eterologhi. 631
- Domande di verifica. 635

33 ■ Impieghi del DNA ricombinante . . . 637

- 33.1 Nascita di nuove scienze: genomica, trascrittomica e proteomica. 637
 - 33.1.1 Genomica strutturale 637
 - 33.1.2 Genomi sequenziati 639

33.1.3	Organizzazione del genoma umano..	639
33.1.4	Genomica funzionale	640
33.1.5	Genomica comparativa	640
33.1.6	Trascrittomica	641
33.1.7	Proteomica	641
33.2	Fingerprinting del DNA	641
33.3	Espressione dei geni clonati	643
33.4	Mutazione dei geni clonati	644
33.5	Organismi geneticamente modificati (OGM).	645
33.5.1	Piante GM	646
33.5.2	Animali GM	647
33.5.3	Pericoli connessi con gli OGM	648
33.6	Terapia genica	649
33.7	Biocarburanti	651
33.8	Clonazione riproduttiva e terapeutica	651
33.8.1	Clonazione riproduttiva	651
33.8.2	Clonazione terapeutica	652
33.8.3	Aspetti normativi	653
	Domande di verifica	654

34 ■ Cellule staminali 655

34.1	Aspetti generali	655
34.2	Classificazione delle cellule staminali	656
34.3	Sviluppo embrionale e cellule totipotenti. ...	657
34.3.1	Tappe dell'embriogenesi umana	657
34.4	Trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE)	658
34.4.1	Emopoiesi	658
34.4.2	Eritropoiesi	659
34.4.3	Ruolo del trapianto di CSE	659
34.4.4	Malattie trattabili con le CSE	660
34.4.5	Tecniche impiegate nel trapianto di CSE	660
34.5	Altre terapie con cellule staminali e prospettive future	661
34.5.1	Riprogrammazione cellulare	661
34.5.2	Tecniche impiegate nella riprogrammazione cellulare	662
	Domande di verifica	664

PARTE XI ■ BIOTECNOLOGIE INDUSTRIALI E AGRARIE

35 ■ Microrganismi e virus d'interesse biotecnologico 667

35.1	Bioteecnologie tradizionali	667
35.2	Bioteecnologie innovative	667
35.3	Gruppi microbici e virus d'interesse biotecnologico	668
35.3.1	Lieviti d'interesse biotecnologico	668
35.3.2	Muffe d'interesse biotecnologico	672
35.3.3	Batteri d'interesse biotecnologico	673
35.3.4	Virus d'interesse biotecnologico	677
	Domande di verifica	681

36 ■ Microbiotecnologie industriali 683

36.1	Le fermentazioni: aspetti storici e generali ...	684
36.1.1	Metaboliti primari e secondari	685
36.2	Coltivazioni microbiche industriali	686
36.2.1	Finalità	687
36.2.2	I microrganismi	687
36.2.3	Biochimica delle ossidazioni e delle fermentazioni	691
36.2.4	Le principali fermentazioni industriali .	694
36.2.5	Terreni di coltura industriali	697
36.2.6	Bioreattori	699
36.2.7	Colture industriali	701
36.2.8	Prodotti biotecnologici	705
36.2.9	Recupero dei prodotti biotecnologici (downstream)	706
36.2.10	Le principali tecniche impiegate nel recupero dei prodotti biotecnologici .	707
	Domande di verifica	709

37 ■ Prodotti microbiotecnologici 711

37.1	Prodotti del metabolismo primario	711
37.1.1	Bioetanolo	711
37.1.2	Acido lattico (C ₃)	715
37.1.3	Butanolo (C ₄)	716
37.1.4	Acido glutammico (C ₅)	716
37.1.5	Acido citrico (C ₆)	719
37.2	Produzione di biomasse	721
37.2.1	Lieviti (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	721
37.1.2	<i>Bacillus thuringiensis</i>	722
37.3	Produzione di enzimi microbici	723
	Domande di verifica	726

38 ■ Biotecnologie agrarie 727

38.1	Colture di cellule e tessuti vegetali	727
38.1.1	Coltura degli espianti	728
38.1.2	Terreni di coltura	729
38.2	Le colture in vitro	730
38.2.1	Colture di cellule indifferenziate	730
38.2.2	Coltura di organi	732
38.3	Propagazione delle piante in vitro	733
38.3.1	La micropropagazione	733
38.3.2	Organogenesi in vitro	734
38.4	Prodotti chimici e farmaceutici elaborati dalle piante	735
38.4.1	I metaboliti secondari nelle piante ...	735
38.5	Ingegneria genetica nei vegetali	741
38.5.1	La trasformazione genica	741
38.5.2	I caratteri ingegnerizzabili	745
	Domande di verifica	748

39 ■ Farmaci biotecnologici 749

39.1	Produzione di antibiotici	751
39.1.1	Inibitori della sintesi della parete	751
39.1.2	Inibitori della sintesi della membrana .	755

39.1.3	Inibitori della sintesi proteica	755	41.3	Tossinfezioni	796
39.1.4	Inibitori del metabolismo del DNA	756	41.3.1	Salmonellosi	796
39.2	Produzione di farmaci proteici ricombinanti	756	41.3.2	Tossinfezioni da <i>Escherichia coli</i>	797
39.2.1	Ormoni polipeptidici	756	41.3.3	Shigellosi	798
39.2.2	Requisiti dei farmaci ricombinanti	757		Domande di verifica	800
39.2.3	Ospiti d'espressione dei farmaci proteici ricombinanti	757	42 ■ Conservazione degli alimenti	801	
39.2.4	Procarioti come ospiti d'espressione	757	42.1	Deperibilità degli alimenti	801
39.2.5	Eucarioti come ospiti d'espressione	758	42.2	Conservazione degli alimenti	802
39.2.6	Processi fermentativi industriali	758	42.3	Conservazione con metodi fisici	802
39.2.7	Purificazione	760	42.3.1	Alte temperature	802
39.2.8	Trattamenti finali dei farmaci	761	42.3.2	Basse temperature	805
39.3	I principali farmaci proteici ricombinanti	761	42.3.3	Radiazioni ionizzanti	807
39.3.1	Insulina umana	761	42.3.4	Essiccamento/disidratazione	808
39.3.2	Eritropoietina	763	42.3.5	Liofilizzazione	808
39.3.3	L'ormone della crescita (hGH)	764	42.3.6	Affumicamento (o anche affumicatura)	809
39.3.4	Gli anticorpi monoclonali	765	42.4	Conservanti chimici tradizionali	809
39.3.5	Vaccini proteici	767	42.4.1	Salatura	809
39.4	Bioconversioni industriali	768	42.4.2	Zuccheraggio	810
	Domande di verifica	770	42.4.3	Conservazione con alcol etilico	810
			42.4.4	Conservazione sott'olio	810
			42.4.5	Conservazione con aceto	811
			42.5	Additivi e conservanti	811
			42.5.1	Conservanti chimici ad azione antimicrobica	811
			42.5.2	Conservanti chimici utilizzati per scopi particolari	812
			42.5.3	Sostanze chimiche destinate principalmente ad altri usi ma aventi un effetto conservativo secondario	813
			42.5.4	Antiossidanti	813
			42.5.5	Addensanti	814
			42.5.6	Gli emulsionanti o tensioattivi (E322 e da E470 a E483)	814
			42.5.7	Esaltatori di sapidità	814
			42.5.7	Coloranti	814
				Domande di verifica	815
			43 ■ Alimenti fermentati	817	
				Settori della microbiotecnologia alimentare	817
			43.1	Vinificazione	817
			43.1.1	Composizione del mosto	818
			43.1.2	Scelta del ceppo di lievito	819
			43.1.3	Reazioni della vinificazione	819
			43.1.4	Tecnologia della produzione del vino	820
			43.2	Birrificazione	821
			43.2.1	Ingredienti nella produzione della birra	821
			43.2.2	Processo di birrificazione	822
			43.3	Produzione di formaggi e yogurt	823
			43.3.1	Composizione del latte	823
			43.3.2	Batteri coinvolti nella produzione di formaggi	824
39.1.3	Inibitori della sintesi proteica	755	41.3	Tossinfezioni	796
39.1.4	Inibitori del metabolismo del DNA	756	41.3.1	Salmonellosi	796
39.2	Produzione di farmaci proteici ricombinanti	756	41.3.2	Tossinfezioni da <i>Escherichia coli</i>	797
39.2.1	Ormoni polipeptidici	756	41.3.3	Shigellosi	798
39.2.2	Requisiti dei farmaci ricombinanti	757		Domande di verifica	800
39.2.3	Ospiti d'espressione dei farmaci proteici ricombinanti	757	42 ■ Conservazione degli alimenti	801	
39.2.4	Procarioti come ospiti d'espressione	757	42.1	Deperibilità degli alimenti	801
39.2.5	Eucarioti come ospiti d'espressione	758	42.2	Conservazione degli alimenti	802
39.2.6	Processi fermentativi industriali	758	42.3	Conservazione con metodi fisici	802
39.2.7	Purificazione	760	42.3.1	Alte temperature	802
39.2.8	Trattamenti finali dei farmaci	761	42.3.2	Basse temperature	805
39.3	I principali farmaci proteici ricombinanti	761	42.3.3	Radiazioni ionizzanti	807
39.3.1	Insulina umana	761	42.3.4	Essiccamento/disidratazione	808
39.3.2	Eritropoietina	763	42.3.5	Liofilizzazione	808
39.3.3	L'ormone della crescita (hGH)	764	42.3.6	Affumicamento (o anche affumicatura)	809
39.3.4	Gli anticorpi monoclonali	765	42.4	Conservanti chimici tradizionali	809
39.3.5	Vaccini proteici	767	42.4.1	Salatura	809
39.4	Bioconversioni industriali	768	42.4.2	Zuccheraggio	810
	Domande di verifica	770	42.4.3	Conservazione con alcol etilico	810
			42.4.4	Conservazione sott'olio	810
			42.4.5	Conservazione con aceto	811
			42.5	Additivi e conservanti	811
			42.5.1	Conservanti chimici ad azione antimicrobica	811
			42.5.2	Conservanti chimici utilizzati per scopi particolari	812
			42.5.3	Sostanze chimiche destinate principalmente ad altri usi ma aventi un effetto conservativo secondario	813
			42.5.4	Antiossidanti	813
			42.5.5	Addensanti	814
			42.5.6	Gli emulsionanti o tensioattivi (E322 e da E470 a E483)	814
			42.5.7	Esaltatori di sapidità	814
			42.5.7	Coloranti	814
				Domande di verifica	815
			43 ■ Alimenti fermentati	817	
				Settori della microbiotecnologia alimentare	817
			43.1	Vinificazione	817
			43.1.1	Composizione del mosto	818
			43.1.2	Scelta del ceppo di lievito	819
			43.1.3	Reazioni della vinificazione	819
			43.1.4	Tecnologia della produzione del vino	820
			43.2	Birrificazione	821
			43.2.1	Ingredienti nella produzione della birra	821
			43.2.2	Processo di birrificazione	822
			43.3	Produzione di formaggi e yogurt	823
			43.3.1	Composizione del latte	823
			43.3.2	Batteri coinvolti nella produzione di formaggi	824

PARTE XII ■ ALIMENTI, IGIENE E SALUTE

40 ■ Contaminazioni alimentari 773

40.1	La qualità organolettica	773
40.2	La qualità oggettiva	773
40.3	Contaminazioni alimentari	774
40.4	Contaminanti fisici	775
40.5	Contaminanti chimici	776
40.5.1	Metalli pesanti	776
40.5.2	Fitofarmaci	778
40.5.3	Ormoni ed antibiotici	778
40.6	Contaminanti microbici	779
40.6.1	Patologie alimentari prodotte da microrganismi	779
40.6.2	Indicatori di sicurezza microbiologica	780
40.7	Contaminazioni da protozoi e metazoi	783
	Domande di verifica	785

41 ■ Patologie microbiche alimentari . . . 787

41.1	Intossicazioni alimentari microbiche	787
41.1.1	Intossicazione da <i>Staphylococcus aureus</i>	787
41.1.2	Intossicazione da <i>Clostridium botulinum</i>	789
41.1.3	Intossicazione da <i>Clostridium perfringens</i> (<i>Clostridium welchii</i>)	790
41.1.4	Micotossicosi	791
41.2	Infezioni alimentari	792
41.2.1	Tifo addominale e paratifi A, B e C	792
41.2.2	Colera	792
41.2.3	Brucellosi	793
41.2.4	Listeriosi	794
41.2.5	Infezione da Rotavirus	795
41.2.6	Epatite A	795

43.3.3	Yogurt e latte fermentato	825
43.3.4	Pane e prodotti da forno lievitati	826
	Domande di verifica	828
44	■ Igiene degli alimenti	829
44.1	Contaminazioni fisiche, chimiche e biologiche	829
44.2	HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points)	831
44.2.1	Campi d'applicazione	832
44.2.2	Tappe preliminari del sistema HACCP	832
44.2.3	I sette principi del sistema HACCP	832
44.2.4	Compiti del titolare e dei dipendenti di un'azienda alimentare	834
44.2.5	Manuali di buona prassi igienica (GHP)	834
44.2.6	Manuali GHP validati dal Ministero della Salute	835
44.3	Rintracciabilità degli alimenti	835
44.4	Principali riferimenti normativi che coinvolgono i settori alimentari	837
	Domande di verifica	838

PARTE XIII ■ TOSSICOLOGIA E FARMACOLOGIA

45	■ Basi della tossicologia	841
45.1	Campi d'azione della tossicologia	841
45.2	Effetti delle tossine	841
45.3	Classificazione delle tossine	841
45.4	Tossicità acuta, subcronica e cronica	843
45.5	Relazione dose-risposta	843
45.6	Valutazione e controllo del rischio tossicologico	845
45.7	Interazione tossina-organismo	845
45.7.1	Tossicocinetica	845
45.7.2	Tossicodinamica	848
	Domande di verifica	850
46	■ Elementi di farmacologia	851
46.1	Farmacocinetica e farmacodinamica	851
46.1.1	Farmacocinetica	851
46.1.2	Farmacodinamica	854
46.2	Creazione di un farmaco	855
46.2.1	Primi passi nella creazione di un farmaco	855
46.2.2	Farmacologia molecolare	856
46.2.3	Sintesi dei "composti guida"	856
46.3	Sperimentazione del farmaco	857
46.3.1	Sperimentazione preclinica	857
46.3.2	Sperimentazione clinica	857
46.4	Registrazione e commercializzazione del farmaco	858

46.5	Farmacovigilanza (Fase 4)	859
46.5.1	Obiettivi	859
46.5.2	Organi preposti alla farmacovigilanza	860
46.5.3	Servizi di farmacovigilanza	860
46.6	Le principali norme italiane ed europee	860
	Domande di verifica	861
47	■ Mutagenesi e cancerogenesi	863
47.1	Tossicità, genotossicità e cancerogenesi	863
47.2	Mutagenesi	863
47.3	Mutageni fisici: le radiazioni	864
47.3.1	Radiazioni mutagene ionizzanti	865
47.3.2	Radiazioni mutagene non ionizzanti	866
47.3.3	Danni biologici prodotti dalle radiazioni	867
47.4	Mutageni chimici	867
47.5	Mutazioni	869
47.5.1	Alterazioni spontanee del DNA	870
47.5.2	Mutazioni geniche	870
47.5.3	Mutazioni cromosomiche	870
47.5.4	Mutazioni genomiche	871
47.6	I meccanismi riparativi del DNA	872
47.7	Le neoplasie	874
47.7.1	Caratteristiche delle cellule neoplastiche maligne	875
47.7.2	Origine e sviluppo delle neoplasie maligne (cancerogenesi o oncogenesi)	875
47.7.3	Oncogenesi virale	877
	Domande di verifica	880

48	■ Controllo della genotossicità	881
48.1	Linee guida OCSE per i tests relativi alle sostanze chimiche che hanno effetti sulla salute	881
48.2	Controllo della genotossicità nelle matrici ambientali	882
48.2.1	Controllo del particolato atmosferico PM10	882
48.2.2	Acque	883
48.2.3	Suolo	884
48.2.4	Ambiente confinato	884
48.2.5	Alimenti	885
48.3	Controllo della genotossicità sulle popolazioni	886
48.3.1	Biomarkers di esposizione	886
48.3.2	Biomarkers di effetto precoce	888
48.3.3	Biomarkers di suscettibilità individuale	889
48.4	Tests di genotossicità	889
48.5	Legislazione attuale	892
48.5.1	Immissione in commercio di nuove sostanze	892

48.5.2 Quadro normativo della gestione delle sostanze chimiche (REACH).....	892	49.2.1 Degradazione aerobica degli idrocarburi.....	900
48.5.3 Agenzia Europea delle sostanze chimiche (ECHA)	893	49.2.2 Degradazione anaerobica degli idrocarburi.....	901
Domande di verifica.....	894	49.3 Degradazione dei policlorobifenili.....	903
49 ■ Biorisanamento.....	895	Domande di verifica.....	905
49.1 I principi del biorisanamento.....	896	<i>Bibliografia e sitografia</i>	<i>B-1</i>
49.2 Degradazione degli idrocarburi alifatici ed aromatici.....	899	<i>Indice analitico.....</i>	<i>I-1</i>