

## ATTIVITÀ SVOLTA DOCENTE A.S. 2022/23

Classe e Sezione 5<sup>M</sup>

Indirizzo di studio Chimica, Materiali, Biotecnologie sanitarie

**Nome e cognome dei docenti:** Francesca Marrocco, Rosina Critelli

**Disciplina insegnata:** Biologia, microbiologia e tecnologie di controllo sanitario

**Libri di testo in uso:**

Fanti” *Biologia, microbiologia e tecniche di controllo sanitario*” Ed. Zanichelli,

F. Fanti *“Biologia, microbiologia e biotecnologie”* Laboratorio di microbiologia Ed. Zanichelli, D. Sadava, e altri *“Biologia La scienza della vita Volume A+B “* Ed. Zanichelli

### Le biotecnologie e loro applicazione

Origine ed evoluzione delle biotecnologie classiche e nuove

Tecnologia del DNA ricombinante: enzimi di restrizione, gel-elettroforesi, sonde molecolari, vettori e cellule ospite, tecniche di trasferimento del DNA nelle cellule ospite, PCR.

Clonaggio genico, librerie geniche.

Sequenziamento del DNA, sequenziatori di nuova generazione, DNA microarray.

Applicazioni biotecnologiche nel settore agrario e zootecnico: le piante e gli animali transgenici.

Applicazioni biotecnologiche nel settore sanitario: editing del genoma con metodo CRISPR e terapia genica, produzione biotecnologica di proteine umane, vaccini, anticorpi monoclonali, ormoni, antibiotici.

Applicazioni biotecnologiche nel settore ambientale: classificazione ed impieghi dei biosensori e concetto di biorisanamento.

Biotecnologie microbiche: i biocatalizzatori cellulari e i prodotti della microbiologia industriale (distinzione tra metaboliti primari, secondari, biomasse microbiche, enzimi e prodotti complessi); produzione di microrganismi unicellulari SCP, *Saccaromyces cerevisiae*, acido lattico, etanolo.

Fasi produttive dei processi biotecnologici: le esigenze nutrizionali ed i terreni di coltura della microbiologia industriale, l'inoculo e la procedura di scale-up, la sterilizzazione, la standardizzazione, il recupero dei prodotti.

Curva di crescita microbica e classificazione delle fermentazioni su base cinetica.

I bioreattori: classificazione in base alla tipologia costruttiva e ai sistemi di areazione ed agitazione.

I processi di microbiologia industriale: *batch*, continui, *fed-batch*,

## **Le cellule staminali**

Il differenziamento cellulare nell'embrione.

Caratteristiche delle cellule staminali e classificazione in base alle potenzialità. Possibili fonti di estrazione delle staminali e staminali pluripotenti indotte.

Impiego delle staminali a scopo terapeutico: dai trapianti di midollo alla medicina rigenerativa.

## **Il metabolismo microbico e la microbiologia alimentare**

Esempi di impieghi delle fermentazioni microbiche nei processi biotecnologici tradizionali: fermentazione lattica e fermentazione alcolica.

Produzioni biotecnologiche alimentari e principali microrganismi utili: la birra e le fasi della sua produzione; lo yogurt e le fasi di produzione; il vino e le fasi della sua produzione.

## **Gli alimenti**

Qualità totale degli alimenti come risultante di diversi aspetti qualitativi.

Contaminazioni microbica degli alimenti e processi di degradazione; fattori intrinseci ed estrinseci che agiscono sugli alimenti.

Conservazione degli alimenti con mezzi fisici: impiego di alte e basse temperature

Conservazione degli alimenti con mezzi chimici: salagione e zuccheraggio, conservazione con olio o aceto.

Malattie trasmesse con gli alimenti: concetti di infezione, intossicazione e tossinfezione.

Tossinfezione da *E. coli*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*.

Infezioni da brucelle.

Botulismo.

Controllo microbiologico degli alimenti: tecniche analitiche, criteri, piani di campionamento, microrganismi indicatori di qualità; controlli su latte, yogurt, carni e uova.

Tipologie di acque potabili e loro controllo microbiologico.

## **Tossicologia**

Xenobiotici, veleni e tossine.

Effetti acuti e cronici della tossicità.

Tossicologia ambientale e danni alla catena alimentare

## **La farmacologia**

Classificazione dei farmaci.

Approfondimento sugli antibiotici: azione degli antibiotici e principali bersagli d'azione; classificazione in naturali sintetici e semisintetici.

Farmacocinetica: assorbimento e vie di somministrazione, biodisponibilità, distribuzione, metabolismo ed escrezione.

Farmacodinamica: meccanismo d'azione, relazione dose-risposta.

Nascita di un farmaco: dalla ricerca alle fasi di sperimentazione preclinica e clinica. Immissione in commercio di nuovi farmaci e ruolo della farmacovigilanza

## Obiettivi minimi

Conoscere le metodologie per l'applicazione della tecnologia del DNA ricombinante.

Conoscere le applicazioni biotecnologiche nel settore sanitario: editing del genoma e terapia genica, sintesi di molecole d'interesse antropico.

riconoscere i componenti dei biosensori e saper spiegarne il funzionamento.  
Analizzare i principali inquinanti ambientali e descrivere i microrganismi in grado di contenerli.  
Descrivere le fasi produttive dei processi biotecnologici.  
Descrivere i prodotti ottenuti tramite processi biotecnologici industriali.  
Illustrare i meccanismi di differenziamento cellulare e analizzare il ruolo delle cellule staminali  
Descrivere i principali processi fermentativi e i relativi microrganismi.  
Riconoscere nella varietà metabolica dei microrganismi i possibili impieghi nei processi biotecnologici e nelle procedure di identificazione microbica.  
Conoscere le principali produzioni biotecnologiche alimentari e i relativi agenti microbici.  
Controllo igienico sanitario nell'industria alimentare: conoscere il ruolo dei microrganismi nei processi di contaminazione e alterazioni degli alimenti e le principali malattie trasmesse con gli alimenti.  
Conoscere le procedure per il controllo microbiologico dell'acqua, della carne, latte e derivati.  
Conoscere i concetti di farmacocinetica, farmacodinamica e farmacovigilanza.  
Essere consapevole della differenza tra medicinale e sostanza tossica.

## **LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA**

### **Semine e conta microbica**

Riepilogo sulla conta microbica.

Colorazione vitale con camera di Burkner, semina su piastra di un campione diluito serialmente in soluzione sterile di Ringer e successiva semina su piastra per inclusione e/o spatolamento.

Semina in anaerobiosi a Sandwich.

Conta microbica su piastra tenendo conto del fattore di diluizione con la tecnica del MPN (Most Probable Number) di McCrady.

Tecnica delle membrane filtranti.

### **DNA**

Tecnologie biomolecolari: tecnica delle PCR;

Estrazione del DNA di cellule vegetali: kiwi e banana

Elettroforesi su gel di agarosio di coloranti

Ricerche autonome su analisi del DNA mitocondriale tramite tecniche di estrazione del DNA e amplificazione tramite PCR.

### **Analisi microbiologica delle acque**

Dal prelievo dei campioni alla semina. Microrganismi indicatori di contaminazione/ inquinamento.

Semina mediante tecnica del MPN (Most Probable Number) di McCrady: preparazione di tubi con Brodo lattosato e per la ricerca di E. coli come microrganismo indicatore.

Colimetria totale e fecale nelle acque: semina di un campione di acqua ambientale nei brodi preparati per determinare la colimetria e la secondo il metodo MPN.

Verifica del MPN in Brodo lattosato e semina in BVBB per la ricerca dei Coliformi totali e fecali: test di conferma della crescita positiva a 37 °C e a 44 °C.

Streptococcometria: semina e lettura dei risultati della conta microbica MPN su campione di acqua ambientale coltivato in Brodo EVA.

**Antibiotici e antibiogramma:** introduzione agli antibiotici, classificazione e modalità di azione.

Metodo Kirby-Bauer: tecnica, tipi di terreni utilizzati, lettura antibiogramma e determinazione della sensibilità del microrganismo in esame agli antibiotici testati.

Determinazione della MIC (concentrazione minima inibente) e MBC (concentrazione minima battericida).

### **Controllo microbiologico degli alimenti**

Latte: ricerca di contaminanti nel latte: semina in doppio su piastra di campioni di latte con metodo delle diluizioni con terreni raccomandati dalle normative ISO su TGYA per carica microbica totale e su EVA Broth per la ricerca di E. fecalis.

Conta microbica totale degli Enterobatteri totali su terreno VRBG, conta microbica dei coliformi totali su VRBL a 37 °C e coliformi fecali su VRBL a 44 °C.

cenni all'attività fosfatasica e perossidasi del latte crudo, pastorizzato e a lunga conservazione.

Yogurt: determinazione della carica di Lattobacillus in MRS agar mediante semina con metodo delle diluizioni.

Determinazione della carica di Streptococcus thermophilus in M17 agar mediante semina con metodo delle diluizioni.

Controllo microbiologico sulla carne.

#### Obiettivi minimi

Saper individuare le prove a cui sottoporre un campione

Ricerca, contare e identificare i microrganismi indicatori di contaminazione

Applicare le varie metodiche

Essere in grado di leggere e allestire prove di laboratorio con le metodiche corrette seguendo protocolli stabiliti

Interpretazione dell'antibiogramma.

### **Educazione civica**

Restituzione attività PCTO

Pisa li 31/05/2023

Le docenti

Prof.ssa Francesca Marrocco

Prof.ssa Rosina Critelli