

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΘΑΝΑΤΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

ΣΥΝΟΠΤΙΚΕΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΑΘΗΜΑΤΟΣ

ΓΕΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Συμπληρωματικό Υλικό Διδασκαλίας

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΘΑΝΑΤΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

- ❖ Προϋπόθεση για την ανάπτυξη ενός μικροοργανισμού είναι να υπάρχει ένας τουλάχιστον κύτταρό του (θεωρεία της βιογένεσης). Από την στιγμή που θα υπάρχει έστω και ένας μικροοργανισμός και εάν συντρέχουν και οι υπόλοιπες προϋποθέσεις, ο μικροοργανισμός μπορεί να *πολλαπλασιαστεί* ταχύτατα και να *αναπτυχθεί σε επίπεδο πληθυσμού*.
- ❖ Τα βακτήρια καθώς και οι ζύμες, ως μονοκύτταροι οργανισμοί, δεν αυξάνονται σε μέγεθος αλλά σε αριθμό. Συνεπώς με την έννοια **ανάπτυξη** (*growth*) – η οποία σχεδόν πάντα αναφέρεται στα βιβλία μικροβιολογίας – εννοείται η αύξηση του αριθμού των κυττάρων (πολλαπλασιασμός) ενός πληθυσμού και όχι η αύξηση του μεγέθους του κυττάρου. *Η αύξηση αφορά πληθυσμό*.
- ❖ Στους περισσότερους προκαρυωτικούς οργανισμούς η ανάπτυξη ενός μεμονωμένου κυττάρου πραγματοποιείται μέσω **διχοτόμησης** (*binary fission*), δηλαδή από ένα κύτταρο προκύπτουν δύο. Στην περίπτωση ενός ραβδόμορφου κυττάρου, το υπό διαίρεση κύτταρο αρχίζει να επιμηκύνεται μέχρι να γίνει διπλάσιο από το αρχικό του μήκος. Αμέσως μετά αρχίζει να σχηματίζεται ένα χώρισμα, το οποίο λέγεται διάφραγμα, στο μέσο του κυττάρου το οποίο σταδιακά διαιρεί το αρχικό κύτταρο σε δύο θυγατρικά. Στην διαδικασία αυτή συμμετέχουν πάνω από 2000 αντιδράσεις.
- ❖ Οι παρακάτω όροι χρησιμοποιούνται, κατά κύριο λόγο, για να περιγράψουν την αύξηση των βακτηρίων:
 - **Ρυθμός ανάπτυξης ή αύξησης** (*growth rate*): εκφράζει την μεταβολή του αριθμού ή της κυτταρικής μάζας ανά μονάδα χρόνου.
 - **Ρυθμός γενεάς** (*time generation*): Είναι το χρονικό διάστημα που απαιτείται για τον διπλασιασμό του πληθυσμού. Συχνά αναφέρεται και ως χρόνος διπλασιασμού. Εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού καθώς και από το περιβάλλον ανάπτυξης. Κυμαίνεται από, 10 min σε ορισμένα βακτήρια, συνήθως είναι 1-3 h για τα περισσότερα βακτήρια, ενώ άλλοι χρειάζονται αρκετές ημέρες επώασης.

Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί (*βακτήρια*) αυξάνονται ταχύτερα από τους ευκαρυωτικούς (*ζύμες*)
- ❖ Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών ακολουθεί «σιγμοειδή καμπύλη» (*sigmoid curve*) ή όπως αλλιώς ονομάζεται «λογιστική» όπως και πλήθος άλλων βιολογικών φαινομένων στην φύση. Η «σιγμοειδής καμπύλη» μπορεί να χωρισθεί σε, γενικές γραμμές, σε τέσσερα διαφορετικά στάδια:
 1. **Φάση προσαρμογής** (*lag phase*): Οι μικροοργανισμοί «ανιχνεύουν» το περιβάλλον τους, ενεργοποιούν ένζυμά τους (επαγωγή) με βάση τα συστατικά του υποστρώματος, αλλά δεν αναπτύσσονται.
 2. **Φάση λογαριθμικής ανάπτυξης** (*log phase*): Ο μεταβολισμός των βακτηρίων έχει ενεργοποιηθεί πλήρως, τα κύτταρα πολλαπλασιάζονται ταχύτατα, και αναπτύσσονται λογαριθμικά ο ρυθμός ανάπτυξης είναι ο μέγιστος. Από φυσιολογικής απόψεως τα βακτήρια στην φάση αυτή είναι περισσότερο ευαίσθητα στην δράση αντιμικροβιακών ουσιών. Επίσης τα κύτταρα κατά την φάση αυτή δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα στην χρώση Gram και είναι κατάλληλα για την μελέτη των βιοχημικών του μηχανισμών. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την φάση αυτή υπάρχουν και κύτταρα τα οποία πεθαίνουν, που έχουν ολοκληρώσει

τον κύκλο τους, απλά ο ρυθμός ανάπτυξης καθώς και ο αριθμός των κυττάρων που αναπτύσσονται είναι πολύ-πολύ μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους του θανάτου.

3. **Φάση της στατικής ανάπτυξης (*stationary phase*):** Η ταχύτερη ανάπτυξη των βακτηρίων παύει. Κατά την στατική φάση ανάπτυξης ο αριθμός των βακτηρίων παραμένει σταθερός, διότι όσα είναι τα βακτήρια που πολλαπλασιάζονται τόσα ακριβώς πεθαίνουν (αφανής αύξηση). Αυτή η ισορροπία προκύπτει από το γεγονός ότι σταδιακά τα θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος εξαντλούνται ενώ αντίθετα τα προϊόντα του μεταβολισμού των βακτηρίων αυξάνονται. Η κατάσταση αυτή εντείνεται και οδηγεί στο επόμενο στάδιο της ανάπτυξης των βακτηρίων. Άλλωστε δεν θα ήταν δυνατό να συνεχίζεται επί μακρό χρονικό διάστημα η φάση της λογαριθμικής ανάπτυξης διότι 1 κύτταρο με χρόνο γενεάς 20 min σε 2 μέρες θα έδινε πληθυσμό βάρους 4.000 φορές το βάρος της γης.
4. **Φάση του θανάτου (*death phase*):** Κατά την φάση αυτή ο συνολικός πληθυσμός των μικροοργανισμών μειώνεται, και μάλιστα με έντονο ρυθμό. Η αιτία είναι ότι τα θρεπτικά συστατικά έχουν πλέον εξαντληθεί και τα παραπροϊόντα του μεταβολισμού των βακτηρίων έχουν αυξηθεί τόσο πολύ που δεν επιτρέπουν πλέον την ανάπτυξη των βακτηρίων (π.χ. έχει μειωθεί το pH σε πολύ χαμηλές τιμές). Σε πολλές περιπτώσεις ο θάνατος των βακτηρίων συνοδεύεται από την λύση τους.

❖ Είναι σημαντικό στο διευκρινισθούν οι ακόλουθοι όροι:

- **Αναπτυσσόμενα κύτταρα (*grown cells*):** Είναι κύτταρα ζωντανά και αναπτυσσόμενα διότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες του επιτρέπουν.
- **Επιβίωσαντα κύτταρα (*survived cells*):** Πρόκειται περί κυττάρων τα οποία είναι μεν ζωντανά αλλά οι περιβαλλοντικές συνθήκες δεν επιτρέπουν τον πολλαπλασιασμό τους.
- **Τραυματισμένα κύτταρα (*injured cells*):** Είναι κύτταρα των οποίων οι μεμβράνες και το κυτταρικό τους τοίχωμα είναι τραυματισμένο, δηλαδή κατά τόπους με «ανοίγματα». Ο τραυματισμός έχει προκύψει από την χαμηλές τιμές pH, θερμική επεξεργασία, χρήση ακτινοβολιών, χρήση αντιβιοτικών, κ.α. Τα τραυματισμένα κύτταρα βρίσκονται πολύ κοντά στο θάνατο, αλλά νεκρά δεν μπορούν να θεωρηθούν διότι εάν οι συνθήκες το επιτρέψουν (βρεθούν σε ήπιο περιβάλλον), ανανήπτουν («συνέρχονται») και είναι δυνατόν να αναπτυχθούν.
- **Νεκρά κύτταρα (*dead cells*):** Είναι κύτταρα τα οποία ακόμα και αν βρεθούν στο άριστο γ'αυτά περιβάλλον, δεν αναπτύσσονται.

❖ **ΘΑΝΑΤΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ:** Είμαστε εξοικειωμένοι με την ιδέα ότι σε πολλές περιπτώσεις η παρουσία μικροοργανισμών είτε σε τρόφιμα είτε (στις περισσότερες περιπτώσεις) στον άνθρωπο είναι ανεπιθύμητοι. Υπάρχουν δύο γενικές κατευθύνσεις στην αντιμετώπιση των μικροοργανισμών:

- **Η αποτροπή της παρουσίας ή/και της ανάπτυξής τους:** Είναι τα προληπτικά μέτρα που λαμβάνονται προκειμένου να αποφευχθεί η παρουσία ενός μικροοργανισμού σ' ένα υπόστρωμα (π.χ. καθαρά σκεύη για την παραγωγή τροφίμων). Επίσης η δημιουργία αρνητικού περιβάλλοντος για την ανάπτυξη των βακτηρίων (π.χ. διατήρηση των τροφίμων σε θερμοκρασίες ψυγείου ή σε ατμόσφαιρα κενού, με μεγάλη περιεκτικότητα σε αλάτι ή μεγάλη οξύτητα).
- **Θανάτωση των μικροοργανισμών:** Σε πολλές περιπτώσεις τα προληπτικά μέτρα δεν ήταν αρκετά ή το τρόφιμο περιείχε ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς. Στις περιπτώσεις αυτές θα πρέπει να καταφύγουμε στην θανάτωση των μικροοργανισμών.

❖ **Μηχανισμοί θανάτωσης των μικροοργανισμών:** Αν και υπάρχουν πραγματικά δεκάδες τρόποι να θανατώσουμε μικροοργανισμούς, τα τελικά αίτια για την θανάτωσή τους είναι δύο:

- **Καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης:** Καταστροφή της μεμβράνης και λύση του κυττάρου.
- **Καταστροφή των ενζύμων, πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων:** Εάν αδρανοποιηθούν οι βασικότεροι λειτουργικοί λίθοι του κυτταρικού μηχανισμού (ένζυμα, DNA και RNA) παύει να λειτουργεί το κύτταρο. Τα ένζυμα και οι πρωτεΐνες μπορεί να είναι είτε ενδοκυτταρικά είτε ασφαλώς επί της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.

❖ **Μέθοδοι θανάτωσης των μικροοργανισμών:** Υπάρχουν κυριολεκτικά δεκάδες διαφορετικές μέθοδοι για την θανάτωση των μικροοργανισμών. Η αιτία είναι ότι κάθε μία από τις μεθόδους χαρακτηρίζεται από επιμέρους πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, οπότε εφαρμόζονται κατά περίπτωση (π.χ. άλλη μέθοδος θα χρησιμοποιηθεί για την θανάτωση μικροοργανισμών στο γάλα και άλλη για το νερό).

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η θανάτωση βλαστικών μορφών (κύτταρα) καθώς και σπορίων είναι περισσότερο ή λιγότερο εφικτή. Ωστόσο, ειδικά για την περίπτωση των τροφίμων, το τελικό ζητούμενο δεν είναι να απαλλαγούμε μόνο από τους μικροοργανισμούς αλλά παράλληλα να διατηρηθεί, κατά το δυνατόν, η διατροφική και γευστική πληρότητα της τροφής.

Σε γενικές γραμμές οι αντιμικροβιακές μέθοδοι, που μπορούν να εφαρμοσθούν σε υλικά (επιφάνειες) ή σε τρόφιμα είναι:

- **Θερμικές μέθοδοι (*heat methods*):** Η αποτελεσματικότητα της θανάτωσης των μικροοργανισμών με θέρμανση εξαρτάται από ένα πλήθος παραγόντων όπως: υγρασία του τροφίμου, το pH του τροφίμου, την λιποπεριεκτικότητα του τροφίμου, την παρουσία πρωτεϊνών και υδατανθράκων, την ηλικία των μικροοργανισμών.
Πολύ συχνά αναφέρεται ότι ο σημαντικότερος παράγοντας για την θερμική καταστροφή των μικροοργανισμών είναι ο συνδυασμός «ύψος θερμοκρασίας/χρόνος εφαρμογής», δηλαδή για να θανατωθεί ένα συγκεκριμένος μικροβιακός πληθυσμός θα πρέπει ή η θερμοκρασία να είναι υψηλή και ο χρόνος εφαρμογής μικρός ή χαμηλή η θερμοκρασία αλλά ο χρόνος εφαρμογής μακρύς. Αν και ισχύουν τα παραπάνω, ο κρίσιμος παράγοντας για την θερμικό θάνατο των βακτηρίων είναι το «θερμικό φορτίο» που δέχεται ο μικροοργανισμός. Υπάρχουν δηλαδή περιπτώσεις όπου ο συνδυασμός «χαμηλότερη θερμοκρασία και συντομότερος χρόνος εφαρμογής» είναι αντιμικροβιακά ισχυρότερος από τον συνδυασμό «υψηλότερη θερμοκρασία και μακρύτερος χρόνος εφαρμογής». Κρίσιμος παράγοντας είναι το είδος του φορέα της θερμότητας, π.χ. στον φούρνο είναι ο αέρας που δεν είναι ιδιαίτερα καλός αγωγός της θερμότητας, στην χύτρα ταχύτητας είναι ο ατμός που είναι εξαιρετικός φορέας της θερμότητας, ενώ τέλος στο τηγάνισμα το λάδι είναι ο ισχυρός φορέας της θερμότητας (πολύ περισσότερα επί του θέματος στο μάθημα «Επεξεργασία Τροφίμων»).

Γενικά οι **θερμικές μέθοδοι καταστροφής** των μικροοργανισμών είναι:

- **Φλογισμός:** Ίσως η αρχαιότερη μέθοδος θανάτωσης μικροοργανισμών. Άλλωστε μια από τις αιτίες για το μαγείρεμα των τροφίμων είναι η θανάτωση, τυχόν, παθογόνων μικροοργανισμών. Άλλοι λόγοι είναι η αύξηση της πεπτικότητάς τους από τον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς και η αδρανοποίηση ενδογενών τοξινών (π.χ. φυτοτοξίνες).
- **Ξηρή θέρμανση (*dry heating*):** Πρακτικά πρόκειται περί θέρμανσης σε «φούρνο», σε ξηρό, θερμό αέρα. Με δεδομένο ότι η θερμοκρασία της υδατικής φάσης του νερού

των τροφίμων δεν μπορεί να είναι πάνω από 100°C, αντιλαμβανόμαστε ότι δεν έχουμε αδρανοποίηση των σποριών, όπως και ορισμένων κύστεων πρωτόζωων, οπότε δεν έχουμε ούτε αποστείρωση. Ωστόσο, όλα τα βακτήρια θανατώνονται. Οι συνδυασμοί που συνήθως χρησιμοποιούνται στους «κλιβάνους αποστείρωσης» είναι: 160°C/55 min ή 180°C/20 min.

- **Υγρή Θέρμανση (*moist heat*):** Είναι η θέρμανση σε νερό σε βρασμό ή σε ατμό ή ακόμα και σε λάδι (τηγάνισμα).
 - **Βρασμός (*boiling*):** Κατά τον βρασμό του νερού, στην ατμοσφαιρική πίεση που επικρατεί στο επίπεδο της θάλασσας, η θερμοκρασία δεν μπορεί να υπερβεί τους 100°C. Κατά τον βρασμό θανατώνονται τα συνηθισμένα βακτήρια που απαντώνται στα τρόφιμα, αλλά αποστείρωση, δηλαδή αδρανοποίηση των σποριών, μπορεί να επιτευχθεί μετά από αρκετές ώρες βρασμού, γεγονός που πρακτικά δεν είναι, συνήθως, πρακτικό.
 - **Θέρμανση σε ατμό (*steaming*):** Όταν ασκείται εξωτερική πίεση σε κλειστό δοχείο η θερμοκρασία βρασμού του νερού είναι συνάρτηση της εξωτερικής πίεσης. Σε εξωτερική πίεση 1 Atm η θερμοκρασία βρασμού του νερού είναι 121°C. Η υψηλή αυτή θερμοκρασία δίνει την δυνατότητα αδρανοποίησης των σποριών όλων των παθογόνων οργανισμών. Χρησιμοποιείται τόσο σε εργαστηριακό επίπεδο (αποστείρωση υποστρωμάτων) όσο και σε βιομηχανικό (π.χ. αποστείρωση κονσερβών). Σε εργαστηριακή κλίμακα η αποστείρωση των υποστρωμάτων γίνεται στον συνδυασμό 121°C/15 min.
 - **Τηγάνισμα (*frying*):** Ως μέσο εναλλαγής της θερμότητας είναι το λάδι. Η θερμοκρασία στο εσωτερικό του τροφίμου, μπορεί να φτάσει και πάνω από τους 100°C.
- **Χημικές μέθοδοι (*chemical methods*):** Πλήθος χημικών ουσιών χρησιμοποιούνται για την απολύμανση, αντισηψία επιφανειών ή ακόμα και ζωικών ιστών. Ορισμένες χημικές αντιμικροβιακές ουσίες είναι φυσικές ή φυσικώς ενυπάρχουν στα τρόφιμα όπως π.χ. η αλκοόλη και φαινόλες στο κρασί, ορισμένες είναι συνθετικές οι οποίες, πλην ελαχίστων εξαιρέσεων, δεν χρησιμοποιούνται στα Τρόφιμα (π.χ. ιώδιο, χλωρίνη). Κύριες χημικές αντιμικροβιακές ομάδες ουσιών είναι:
 - **Φαινόλες και Φαινολικά παράγωγα:** Οι φαινόλες έχουν μέτρια και μεσαία αντιμικροβιακή δράση αλλά έχουν έντονη οσμή. Τα φαινολικά παράγωγα χρησιμοποιούνται σε πλήθος προϊόντων της χημικής βιομηχανίας.
 - **Αλογόνα (*halogens*):** Εξαιρετικά δραστικές αντιμικροβιακές ουσίες με βάση το ιώδιο, χλώριο, βρώμιο, και φθόριο. Σε αυτές ανήκει το γνωστό Betadine που ανήκει στις ενώσεις του ιωδίου. Το χλώριο και οι ενώσεις του χρησιμοποιούνται για την απολύμανση του πόσιμου νερού καθώς και στις δεξαμενές κολύμβησης (πισίνες).
 - **Παράγοντες οξειδωσης (*oxidizing agents*):** Ισχυρά αντιμικροβιακές ουσίες. Στην ομάδα αυτή ανήκουν υπεροξειδικές ενώσεις («οξυζενέ»), καθώς και το όζον. Θερμό «οξυζενέ» χρησιμοποιείται για την αποστείρωση των υλικών συσκευασίας για την «ασηπτική συσκευασία» (*aseptic packaging*) π.χ. των χυμών φρούτων. Το όζον (O₃) χρησιμοποιείται για την απολύμανση του πόσιμου εμφιαλωμένου νερού μαζί βέβαια με άλλες τεχνικές όπως μικροδιήθηση.

- **Τασιενεργές ουσίες (surfactants):** Οι φυσικοί σάπωνες (παραδοσιακά σαπούνια) δεν έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες. Απλά απομακρύνουν του μικροοργανισμούς από τις επιφάνειες του βρίσκονται (π.χ. χέρια). Τα συνθετικά όμως απορρυπαντικά (συνθετικά σαπούνια) έχουν ισχυρές αντιμικροβιακές ιδιότητες διότι περιέχουν αντιμικροβιακές ουσίες όπως π.χ. τεταρτοταγείς ενώσεις του αμμωνίου.
 - **Βαρέα μέταλλα (heavy metals):** Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί αντιμικροβιακά με βάση τα βαρέα μέταλλα του Ψευδάργυρου, Αργύρου, Αρσενικού, Τιτανίου κ.α. Χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αντιμικροβιακών υλικών όπως χειρουργικά εργαλεία, αντιμικροβιακές κρέμες, αντιμικροβιακές επιφάνειες, αντιμικροβιακά υλικά συσκευασίας, κ.α.
 - **Αλδεΐδες (aldehydes):** Ισχυρότατες αντιμικροβιακές ουσίες, όπως η γλουταρική αλδεΐδη και η φορμαλδεΐδη. Χρησιμοποιούνται για την αποστείρωση χειρουργικών και άλλων νοσοκομειακών εργαλείων, καθώς και σε επιφάνειες μικροβιολογικών εργαστηρίων. Η χρήση της πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή και μόνο όταν υπάρχει σοβαρός λόγος χρήσης της.
 - **Αέρια:** Το αιθυλενοξειδίο, προπυλενοξειδίο και β-προπιολακτόνη είναι αέρια και χρησιμοποιούνται για την αποστείρωση πλήθους υλικών, όπως καρδιακές βαλβίδες, καθετήρες, πλαστικά τρυβλία, αλλά και αφυδατωμένα τρόφιμα.
- **Φυσικές μέθοδοι (physical methods):** Σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχει η δυνατότητα να γίνει απομάκρυνση των μικροοργανισμών καθώς και των σπορίων τους με φυσικούς τρόπους.
 - **Διήθηση ή μικροδιήθηση (Filtration / microfiltration):** Μπορούν να εφαρμοσθούν μόνο σε υγρά και μάλιστα σε αυτά που δεν έχουν υψηλό αριθμό διαλυτών στερεών. Υπάρχουν φίλτρα μικροβιοκατακράτησης, δηλαδή φίλτρων που κρατούν τους μικροοργανισμούς και τα σπόριά τους, καθιστώντας το υγρό στείρο. Χρησιμοποιείται τόσο σε εργαστηριακή κλίμακα για την αποστείρωση υγρών υποστρωμάτων που δεν μπορούν να δεχθούν θερμική επεξεργασία διότι περιέχουν θερμοευαίσθητες ουσίες. Επίσης χρησιμοποιείται στην βιομηχανία εμφιαλωμένων νερών.
 - **Υπερυψηλή πίεση (hyper pressure treatment - HPP):** Με την επίδραση υπερυψηλής πίεσης σε κατάλληλους θαλάμους τα τρόφιμα μπορούν να αποστειρωθούν. Ήδη ορισμένα προϊόντα βρίσκονται στην αγορά.
 - **Επεξεργασία με υπερήχους (sonication):** Η χρήση υπερήχων, πέρα άλλων επιδράσεων που έχουν στη δομή των τροφίμων, έχουν και αντιμικροβιακή δράση. Ωστόσο, δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική και δεν μπορεί να «σταθεί» μόνη της ως αντιμικροβιακή μέθοδος.
 - **Ηλεκτρομαγνητικές Μέθοδοι (Electromagnetic methods):** Αν και φαινομενικά είναι πολύ καινούργιες μέθοδοι, για ορισμένες από αυτές, η αρχή της μεθόδου είναι γνωστή εδώ και χρόνια.
 - **Μικροκύματα (Microwave):** Είναι τα γνωστά μας «μικροκύματα» που σε οικιακό επίπεδο, χρησιμοποιούνται για την θέρμανση των τροφίμων. Στην βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται για παστερίωση και ξήρανση αλλά συνήθως όχι για αποστείρωση. Θανατηφόρος παράγοντας είναι η θέρμανση.

- **Ωμική θέρμανση (*Ohmic heating*):** Η εφαρμογή εναλλασόμενου ρεύματος σ' ένα τρόφιμο θανατώνει τους υπάρχοντες μικροοργανισμούς. Η θανάτωση, προκαλείται, κυρίως από την άνοδο της θερμοκρασίας που προκαλείται στο τρόφιμο λόγω της αντίστασης που ασκεί το τρόφιμο στο διερχόμενο ηλεκτρικό ρεύμα.
- **Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (*Pulsed electric fields- PEF*):** Σε ειδικούς θαλάμους τοποθετούνται τρόφιμα και ασκούνται υψηλής εντάσεως παλμικά πεδία. Σε ηλεκτρονικά μικροσκόπια έχει παρατηρηθεί ότι ο θάνατος μικροοργανισμών σε πεδία τέτοιου τύπου, οφείλεται σε αποστεθεροποίηση της μεμβράνης τους.
- **Ακτινοβολήση (*radiation methods*):** Η ακτινοβολήση τροφίμων και υλικών είναι γνωστό εδώ και μισό αιώνα περίπου ότι μπορεί να θανατώσει μικροοργανισμούς καθώς και τα σπόριά τους, ανάλογα βέβαια με το είδος της και την έντασή της. Ανάλογα με την φύση και το φάσμα της ακτινοβολίας διακρίνεται σε:
 - **Υπεριώδης ακτινοβολία (*UV irradiation*):** Θανατώνει όλες τις βλαστικές μορφές και ιούς, όχι όμως και σπόρια. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για διαυγή υγρά και επιφάνειες.
 - **Ακτινοβολία Δέσμης Ηλεκτρονίων (*electron beam irradiation*):** Σε ειδικές εγκαταστάσεις δέσμες ηλεκτρονίων τρόφιμα δέχονται δέσμες ηλεκτρονίων και θανατώνουν τα βακτήρια. Δεν είναι ιδιαίτερα διεισδυτικές στο τρόφιμο, όμως ο χρόνος εφαρμογής τους είναι πολύ σύντομος.
 - **Ακτίνες γ (*γ-irradiation*):** Χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων σε πολλές χώρες (όχι στην Ε.Ε.) για πάνω από 100 είδη τροφίμων. Είναι εξαιρετικά διεισδυτικές στο τρόφιμο αν και για επαρκή ακτινοβολήση των τροφίμων απαιτείται έκθεση των τροφίμων για αρκετή ώρα.
- ❖ **ΦΥΣΙΚΕΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ:** Με δεδομένη την παρουσία μικροβίων στην Φύση είναι αναμενόμενο όλοι, μα όλοι, οι οργανισμοί από τον μεγαλύτερο μέχρι τον πιο μικρό, από βακτήρια μέχρι φυτά και ζώα έχουν φυσικά, ενδογενή αντιμικροβιακά συστήματα, των οποίων την έκταση και την ποικιλία την ερευνούμε ακόμα. Οι μεγάλες Φαρμακευτικές εταιρίες συστηματικά ερευνούν για νέες αντιμικροβιακές ουσίες, καθώς τα βακτήρια και άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί συνεχώς εξελίσσονται και αναπτύσσουν μηχανισμούς άμυνας έναντι των παλαιών αντιμικροβιακών.
 - **Ένζυμα:** Πολλά ένζυμα έχουν βακτηριολυτική δράση, όπως: λυσοζύμη (βρίσκεται στον ανθρώπινο ιδρώτα και σάλιο), λυσοσταφίνη, αιμολυσίνες, κ.α.
 - **Φυσικά αντιβιοτικά (*antibiotics*):** Υπάρχει πλήθος φυσικών αντιβιοτικών και με βάση την δομή τους, διακρίνονται σε: ανθρακούχα, λακτονικά, κινόνες, αζωτούχα, αλικυκλικά, αλειφατικά, πεπτιδικά, αρωματικά (με αρωματικό δακτύλιο).
 - **Φαινολικές ουσίες (*phenolics*):** Βρίσκονται σε πλήθος φυτικών ιστών, με χαρακτηριστικούς αντιπροσώπους την ελευρωπαΐνη των ελαίων, ταννίνες και φαινολικά οξέα πλήθος φρούτων.
 - **Αιθέρια έλαια (*naturals oils*):** Τα αιθέρια έλαια των πολλών αρωματικών φυτών έχουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση τόσο εναντίων βακτηρίων όσο και ζυμών και μυκήτων. Χαρακτηριστικός αντιπροσώπος είναι η γερανιόλη, η θυμόλη, η καρβακρόλη που βρίσκονται στην ρίγανη, κανέλλα, γαρύφαλλο, κ.α.

- **Φυτοαλεξίνες** (*phytoalexins*): Αντιβιοτικά που παράγονται από τα φυτά όταν αυτά προσβάλλονται από φυτοπαθογόνους παράγοντες (μικροβιακούς και μη).

❖ **ΤΡΟΠΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ:** Οι μηχανισμοί δράσεις των αντιβιοτικών μπορεί να είναι:

- Αντιβιοτικά που προκαλούν είτε την διακοπή της σύνθεσης του βακτηριακού τοιχώματος είτε την διάνοιξή του (π.χ. πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες, βακτηριοσίνες).
- Αντιβιοτικά που επιδρούν στην κυτταρική μεμβράνη ως τασιενεργές ουσίες και την αποδιοργανώνουν (π.χ. νυστατίνη).
- Αντιβιοτικά που παρεμποδίζουν πλήρως την λειτουργία των ριβοσωμάτων, δηλαδή την πρωτεϊνοσύνθεση (π.χ. χλωραμφενικόλη, τετρακυκλίνες, κλινταμισίνη).
- Αντιβιοτικά που παρεμποδίζουν μερικώς την λειτουργία των ριβοσωμάτων, και δίνουν λανθασμένες, μη-λειτουργικές πρωτεΐνες (π.χ αμινογλυκοσίδια).
- Αντιβιοτικά που παρεμποδίζουν τον μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων (π.χ. ριφαμικίνες).
- Συνθετικά αντιβιοτικά που είναι επίσης γνωστά ως «αντιμεταβολίτες» διότι η παρουσία τους αναστέλλει τη λειτουργία βασικών μεταβολικών δρόμων (π.χ. σουλφοναμίδια).

❖ Υπάρχουν διάφοροι ορισμοί και τρόποι περιγραφής του θανάτου των μικροοργανισμών ή/και αδρανοποίησης σπορίων και ιών.

- **Αντισηψία** (*antiseptis*): Χημική μέθοδος. Η μείωση του αριθμού, όχι όμως και η εξάλειψη, μικροοργανισμών καθώς και ιών από την επιφάνεια ζωντανών ιστών. Παραδείγματα αντισηπτικών είναι το ιώδιο, η αλκοόλη, ορισμένα σαπούνια, κ.α. Τα σπόρια επιβιώνουν της αντισηψίας.
- **Απολύμανση** (*disinfection*): Χημική μέθοδος. Η μείωση του αριθμού, όχι όμως και η εξάλειψη, μικροοργανισμών καθώς και ιών από επιφάνειες. Παραδείγματα αντισηπτικών είναι το φαινόλες, αλδεΐδες, ορισμένα σαπούνια, κ.α. Τα σπόρια επιβιώνουν της απολύμανσης.
- **Παστερίωση** (*pasteurization*): Θερμική μέθοδος όπου θανατώνονται όλοι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί καθώς και οι ιοί. Παραμένουν, ωστόσο, θερμοάντοχα βακτήρια, καθώς και τα σπόρια μικροοργανισμών – παθογόνων και μη.
- **Αποστείρωση** (*sterilization*): Θερμική μέθοδος όπου θανατώνονται όλοι οι μικροοργανισμοί, οι ιοί, καθώς και τα σπόρια όλων των οργανισμών (Σημ. στην «εμπορική», την συνηθισμένη αποστείρωση μπορεί να παραμείνουν, εάν υπάρχουν, τα σπόρια ορισμένων θερμοάντοχων, μη-παθογόνων, βακτηρίων).

Ερωτήσεις

Οι απαντήσεις των ερωτήσεων μπορεί να προέρχονται από τις διαφάνειες του μαθήματος, τις συζητήσεις επί των ερωτήσεων κατά τη διάρκεια του μαθήματος, καθώς και οποιαδήποτε άλλη έγκυρη επιστημονική πηγή

1. Οι μονοκύτταροι οργανισμοί αναπτύσσονται ;

2. Τί είναι «ρυθμός ανάπτυξης» και τί «ρυθμός γενεάς»;
3. Τι σημαίνει η φράση «τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται με διχοτόμηση»; Πρακτικά τι σημαίνει αυτό ;
4. Αν σε χρόνο $t=0$ έχουμε 2 κύτταρα, σε 120 min πόσα κύτταρα θα έχουν σχηματισθεί ; Ο υπολογισμός έχει μία πολύ σημαντική παραδοχή. Ποια είναι αυτή ;
5. Τί σχήμα έχει η καμπύλη ανάπτυξης ενός μικροοργανισμού; Να τη σχεδιάσετε και να την σχολιάσετε.
6. Σ' ένα μικτό πληθυσμό βακτηρίων-ζυμών ποιός μικροοργανισμός θα επικρατήσει;
7. Τί συμβαίνει στο βακτηριακό κύτταρο κατά την φάση της προσαρμογής;
8. Τί συμβαίνει στο βακτηριακό κύτταρο κατά την φάση της στατικής ανάπτυξης;
9. Σε ποιές περιπτώσεις επιθυμούμε να έχουμε τα βακτήρια για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στη φάση προσαρμογής; Με ποιους τρόπους μπορούμε να το επιτύχουμε αυτό;
10. Σε ποιές περιπτώσεις επιθυμούμε να έχουμε τα βακτήρια για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην φάση της λογαριθμικής ανάπτυξης; Με ποιους τρόπους μπορούμε να το επιτύχουμε αυτό;
11. Σε ποιές περιπτώσεις επιθυμούμε να έχουμε τα βακτήρια για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην φάση της στατικής φάσης ανάπτυξης; Με ποιους τρόπους μπορούμε να το επιτύχουμε αυτό;
12. Γιατί οι μικροοργανισμοί δεν αναπτύσσονται συνεχώς;
13. Τί είναι τα τραυματισμένα κύτταρα;
14. Πόσοι τρόποι θερμικού θανάτου των κυττάρων υπάρχουν;
15. Τι είναι η «κινητική θανάτωσης» ;
16. Από ποιους παράγοντες εξαρτάται η ταχύτητα θανάτωσης των μικροοργανισμών ;
17. Πόσοι τρόποι υγρής αποστείρωσης υπάρχουν;
18. Κατά την ξηρή αποστείρωση ο συνδυασμός θερμοκρασίας/χρόνου είναι 180°C/20 min. Για την υγρή αποστείρωση ο αντίστοιχος συνδυασμός είναι: 121°C/15 min. Γιατί αυτές οι διαφορές;
19. Κατά την αποστείρωση με ατμό ο συνδυασμός είναι 121°C/15 min. Ο συνολικός χρόνος αποστείρωσης είναι 45 min. Γιατί;
20. Στο σπίτι σας, θέλετε να αποστειρώσετε, μία μεταλλική βελόνα. Πώς μπορείτε να το επιτύχετε;
21. Πόσοι τρόποι χημικού θανάτου των βακτηρίων υπάρχουν;
22. Είναι όλα τα σαπούνια αντιμικροβιακά;
23. Πόσες φυσικές μέθοδοι θανάτωσης/απομάκρυνσης των μικροοργανισμών υπάρχουν;
24. Πόσα είδη ακτινοβολίας υπάρχουν για την θανάτωση των μικροοργανισμών;
25. Θέλετε να αποστειρώσετε ένα δωμάτιο. Ποιά πρακτική θα ακολουθήσετε;
26. Θέλετε να αποστειρώσετε ορό αίματος (θερμοευαίσθητος). Τί θα κάνετε;
27. Ποιό φυσικό αντιμικροβιακό έχει το σάλιο και ο ιδρώτας μας;
28. Πώς δρουν τα αντιβιοτικά;