

Sammanfattning mikrobiologi, tenta 18 januari 2006

F1 Introduktion

Alger: Utnyttjar fotosyntesen och har kloroplaster. De kan vara encelliga eller flercelliga. Alla celler är ganska lika. Vatten- och jordlevande. Cellvägg av cellulosa.

Svamp: Jäst, mögel och storsvampar. Cellvägg av kitin. Bryter ner materia (ofta död) för att få energi.

Protozoer: Saknar cellvägg, tex amöbor och toffeldjur. Frilevande eller på/i djur och växter som parasit eller i symbios. Energi genom att "äta" organiskt material eller andra organismer.

Virus: är inga celler, bara nukleinsyra och proteiner. Eukaryota virus = virus som infekterar en eukaryot cell. Prokaryot virus = virus som infekterar en prokaryot cell = bakteriofager.

Nomenklatur enligt Linnés binominalsystem:

Släktnamn	Artnamn	Stam
Staphylococcus	aureus	8325-4 (Newman)

Släktnamn (stor bokstav först, kursiv). Artnamn (liten bokstav först, kursiv). Första gången skriv ut hela släktnamnet, senare i texten räcker det med tex S.

På svenska: stafylokokker (vanliga bokstäver).

Bergey's Manual och The Procaryotes är två uppslagsverk.

Mikrobiologi = läran om det "lilla" livet < 1mm.

Mikroorganismer finns överallt där vatten finns. I ett gram åkerjord finns: 10^8 - 10^9 bakterier, 10^5 - 10^6 svampar, 10^2 - 10^4 alger och 10^4 - 10^5 protozoer.

Bakterier växer genom delning i kolonier. Svampar och alger är båda stora och encelliga. Protozoer syns endast i mikroskop. Energiförsörjning, rörlighet mm skiljer sig dem emellan.

Prokaryot cell	Eukaryot cell
Ej cellkärna	Cellkärna i membran
En kromosom (nukleoid)	Flera kromosomer
Inga membranomslutna organeller	Membranomslutna organeller som mitokondrier, ER, kloroplaster
Har cellvägg (få undantag)	Växtceller har cellvägg
Delar sig snabbare	Djurceller saknar cellvägg

	Prokaryot	Eukaryot
Makroorganism	Ingen känd	Djur och växter
Mikroorganismer	Eubakterier och arkéer	Alg, svamp och protozoer (alla protister)

Arkéer tål inte O_2 och lever ofta i extrema miljöer. Finns i våmmen, producerar biogas. Upptäcktes på 70-talet. Bakterier har cellvägg av peptidoglykan. Arkéer har pseudopeptidoglykan, glykoproteiner eller polysackarider. Bakterier har lipider med esterbindning i cellmembranet och arkéer har eterbindning. Bakterier har ett RNAPolymeras medan arkéer har flera. Lika lite släkt är arkéer och bakterier som bakterier och eukaryota organismer.

F1 Historik

Vin och öl har länge varit ett sätt att konservera vatten. Syrning av mat som surströmming.

Hippokrates (400 fKr) ansåg att sjukdom var obalans mellan de fyra kroppsvätskorna: röttblod, svartblod, gula gallan och slem (i blodet). Åtgärd vid sjukdom var alltid åderlåtning.

Fracastoro (1500-tal) levde i Italien. Sjukdomar uppkom av smittofrön. Varje sjukdom en sorts frö. Smittofrön = seminara contagiosa (contamination eng.). Skrev en bok, men föll i glömska.

Hook (1664) i England tillverkade det första mikroskopet. Såg fruktknoppar av mögelsvamp.

Leeuwenhook (1650-tal) levde i Nederländerna. Hade mikroskop som hobby, tillverkade ett som förstörde x270. Kunde se både svamp och bakterier. Kallade dem "wee animacule". Andra fick tillgång till hans mikroskop först då han dog.

Jenner (1800-tal) från England. Smittkoppornas fader. I fjärran östern användes variolering (var från sjuk gned in i frisk persons sår). Mjölkerskor som fått kokpor var mer eller mindre immuna mot smittkoppor. Han tog då var från kokpor – den första vaccineringen. Ko = vacca. Idag utrotad sjukdom.

Under 1800-talet fanns två inriktningar: Kontagionister som trodde att en osynlig organism, kemiskt ämne med olika sammansättningar för olika sjukdomar eller att det var en metabolisk produkt i sjuka som orsakar sjukdom. Miasmatiker trodde att det var processer i jordens inre, dålig luft som innehöll ämne eller hade avvikande sammansättning eller att det var strålning från rymden som orsakade sjukdom.

Semmelweis (1800-tal) såg att läkarna dödade fler nyblivna mödrar än barnmorskorna. Man måste tvätta händerna mellan obduktion och undersökning så han och blev utmobbad, åkte hem till Wien och dog på sinnessjukhus.

Louis Pasteur var en av mikrobiologins två fäder. Bevisade att det var smittofrön från luften som förstörde mat med hjälp av "pasteurs flaska". Renkultur krävs för att studera enskilda mikroorganismer. Gjorde spädningsserier för att få fram renkulturer i provrör. Vaccinering av mjältbrand = antrax (*Bacillus anthracis*) som växer bra vid 37°C, men försvagad vid 42°C och orsakar då ej infektion. Tur att han valde just detta system, ty han hade inga kunskaper om immunförsvaret.

Robert Koch var den andra av mikrobiologins två fäder. Började renodla bakterier på fasta ytor. Kokade potatis och skar mitt i tu. Skar sedan ut en koloni från potatisen och odlade på en ny potatis. Visade att det fanns endosporer = vilostrukturer för bakterier, de kan överleva vilande i hårda miljöer som vaknar vid gynsamma förhållanden. Postulat: 1. Patogenen hos alla sjuka men inte hos någon frisk. 2. Måste kunna odlas i renkultur. 3. Renodlade ska kunna orsaka sjukdom hos frisk. 4. Ska kunna återisoleras och visas vara samma som den ursprungliga.

Winogradsky och Beijerinck (1800-tal). Kemisk transformation av ämnen. Tex bakteriers betydelse för kvävet kretslopp. B påvisade virus för första gången. Virus kräver värdcell för replikation. På 1920-talet kom andra på att cancer kan orsakas av virus.

Flemming upptäckte penicillin och antibiotika av misstag 1929. Mögelsvamp producerade något som dödade bakterier. Andra utvecklade det till läkemedel.

Watson och Crick upptäckte DNA-spiralen som är viktig för all biologi.

1970: genkloning

1977: Sanger och Gilbert sekvenserade DNA

1981: Ovanlig typ av cancer i USA (HIV)

1984: HIV orsakades av virus

1994: Galna kosjukan, prioner orsakar också sjukdomar

1995: Första bakterie genomet *Hemophilus influenzae* sekvensbestämt

F2 Mikrobiologiska arbetsmetoder

God sertilteknik:

- Se till att alla lösningar och alla material som används är sterila.
- Förhindra tillträde av oönskade mikroorganismer under arbetets gång (tät kärlförslutning, flambering av mynningar, ympnål av titan bränns av, avtorkning av ytor med 70% etanol (etanol förstör lipidmembran) och eventuellt arbete i sterilbänk.
- Skydda dig själv mot patogena organismer.

Odlingsmedium (vikt %)

Kol 50% Syre 20% Kväve 14% Väte 8% Fosfor 3%
Svavel, kalium och natrium 1% vardera Kalcium, magnesium och klor 0,5% vardera
Järn 0,2% och övriga ca 0,3%

Andra faktorer:

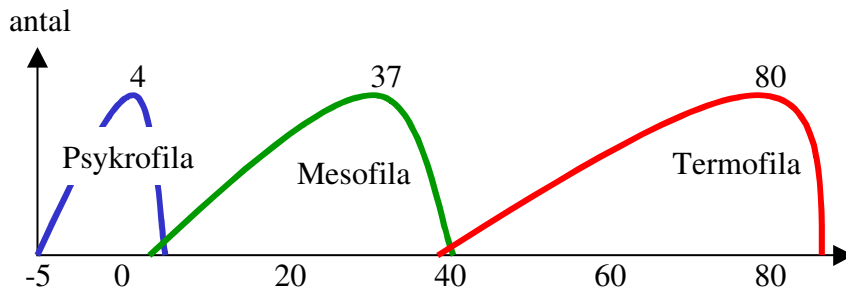
Syre (O₂): Aeroba kräver syresatt medium (genom skakning).

Fakultativa är "både och", kan leva både med och utan syre.

Aerotoleranta anaerober kan tåla lite syre.

Obligatorianaerober tål inte syre alls.

1. Energi: Genom ljus (fototrofa) väldigt få. Genom ett kemiskt ämne (heterotrofa), oorganiskt ämne som Fe²⁺ → Fe³⁺ eller det vanligaste med organiskt ämne som glukos (socker).
2. Kol (socker, alkohol, CO₂).
Kväve (proteiner) – salt NH₄⁺
Svavel (cystein, vitaminer) – salt SO₄²⁻
Fosfat (nukleinsyror) – salt PO₄³⁻
Joner (tex K⁺ i enzym)
3. Rätt pH (buffert ofta fosfat-vätefosfat). Buffert: Na₂HPO₄/KH₂PO₄ (buffert + fosforkälla). pH ca 7-8.
4. Rätt osmotiskt tryck (salthalt ungefär samma i cell som utanför cell). Ca 0,9% NaCl.



5. Rätt temperatur: Vanligast är mesofila.

Substrat kan delas in i:

1. Allmänna – vanliga för stort antal organismer
 2. Selektiva – inhiberar tillväxt av de flesta men inte den man vill isolera.
 3. Differentierade – innehåller indikator som gör att vissa kolonier får ett speciellt utseende.
- FM är selektiv för stafylokocker och differentierade för S. aureus. Salthalten på 7,5% kan i princip endast stafylokocker leva i. S. aureus producerar syra från mannitolet och då går fenolrött från rött till gult.

Substrat kan också delas in i:

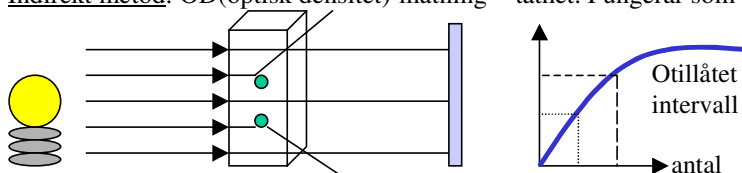
- A. Naturliga – tex mjölk, fruktsaft och potatishalva.
- B. Komplexa (odefinierade) – innehåller komponenter som malt, kött eller jord.
- C. Syntetiska (definierade) – alla ingående substanser kända till mängd och molekylslag.

Haltbestämningar (bakteriekoncentration):

Direkta metoder: Räkning i mikroskop (räknekammare) och elektroniska cellräknare (lättare att se små).

+ Svar direkt. – Svårt med små bakterier, både levande och döda, kräver utrustning, kräver min konc. 10 000/ml.

Indirekt metod: OD(optisk densitet)-mätning = täthet. Fungerar som spektrofotometer, mäter ljusspridning.

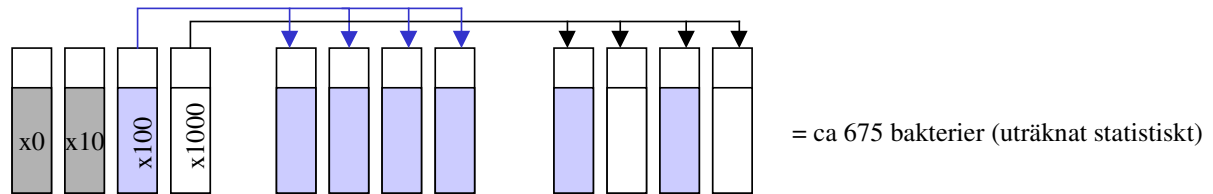


+ Snabb, enkel. – Kräver standardkurva, kräver utrustning, räknar både levande och döda.

Levande halt: Koloniräkning: spädningsserie (x10) → sprid ut på agarplattor. 30-300 vill man räkna (statistiskt säkert och lätt räknat). Gör alltid flera plattor så man ser att spädningsserien är korrekt. CFU = colony forming units = kolonibildande enheter.

+ Räknar bara levande, kräver ingen avancerad utrustning och enkel. – Kräver inkubation, inte svar direkt.

Levande halt: MPN (most probable number): spädningsserie – var växer det? Används då man är intresserad av speciell egenskap som tex om den har glukos som energikälla. Är inte optimal för något.



Anrikning – selektiv miljö så att en grupp av organismer eller enstaka organismer kommer att dominera.

Renodling – renstryk på agarplatta med ympnål.

Utseende – koloni, mikroskop, mäta storlek, gramfärgning etc.

Biokemiska tester – sockermetabolism, enzymproducerande etc.

Specifika tester – bekräftar gissningar.

F3 Struktur och morfologi

Endosymbiont teorin – evolution. Mitokondrie och kloroplast är fd bakterier → parasit → symbios → organell.
Bevis: storlek, rRNA, membraner, självständig delning etc.

Organismvärlden: Eukaryot, eubakterier och arkéer. Eukaryoter andas syre, bildar mjölksyra utan syre. Bakterier kan respirera på många olika sätt, mer flexibel i miljöval och har snabbare metabolism.

Kock	Stav	Spiral
Klot - liten yta men stor volym.	Stor yta, liten volym.	Lättare transporter.
Tar upp långsammare, växer långsamt.	Är pionjärer och finns på nya ställen. Populationer svänger kraftigt.	Spiral = stel, spirochete = gångjärn.
Klarar svält, torra mm bra.	Bacillus = stav.	Vibroform = bönmform.

Storlek

E. coli ca 1 µm, *Bacillus megaterium* 10µm, jästcell 100µm. Mycoplasma kastar av sig cellväggen och lever i värdcell och är 0,1 µm. Virus är alltid mindre än bakterier och de kan inte föröka sig själva.

E. coli väger 10^{-12} g.

Sammansättning av bakterie (torrvikt):

70-80% vatten

55% protein

20,5% RNA

3,1% DNA

9,1% lipider

3,4% LPS (lipopolysakarid)

2,5 % peptidoglykan

2,5 % glykogen

Gramnegativ

Tunn polymer = peptidoglykan

Yttre och inre cellmembran

Färgämnen kan tvättas bort

Grampositiv

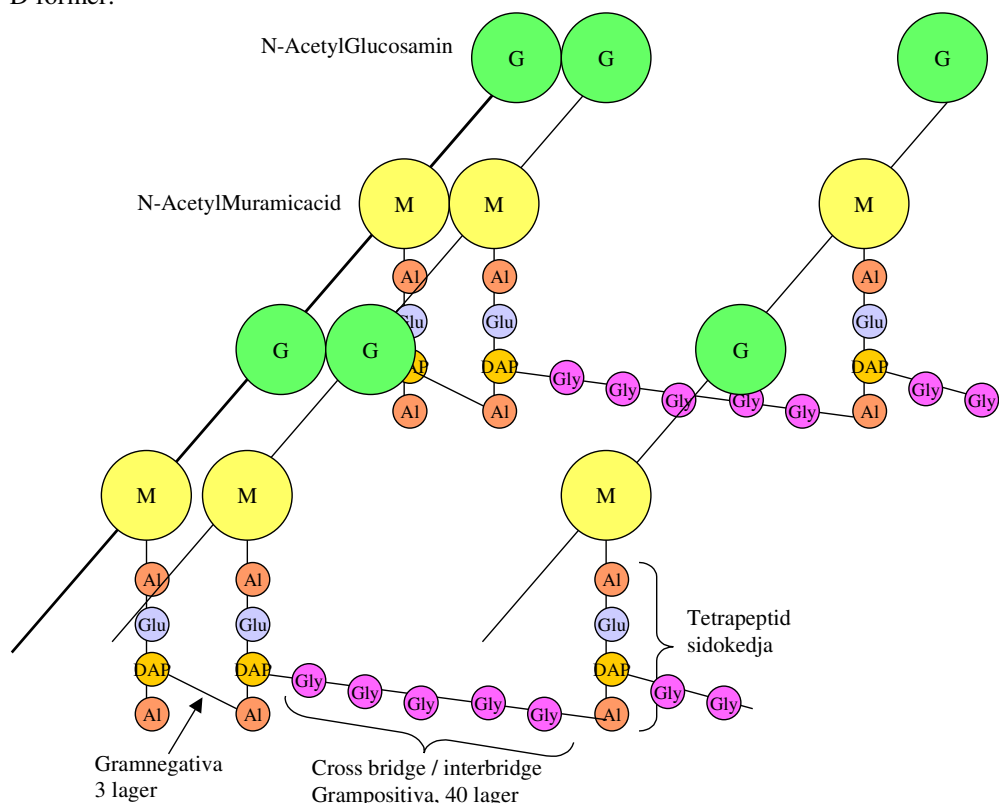
Tjock polymer = peptidoglykan

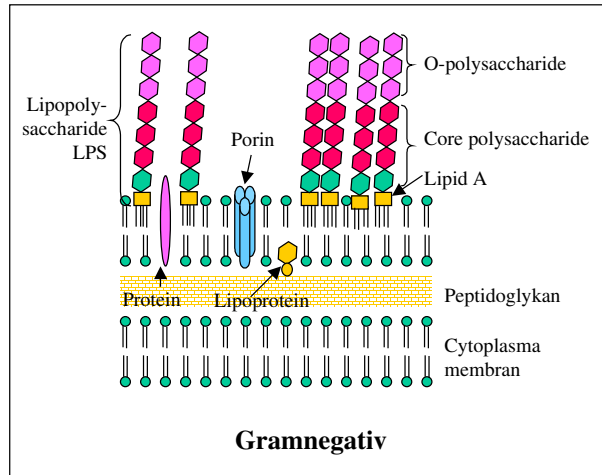
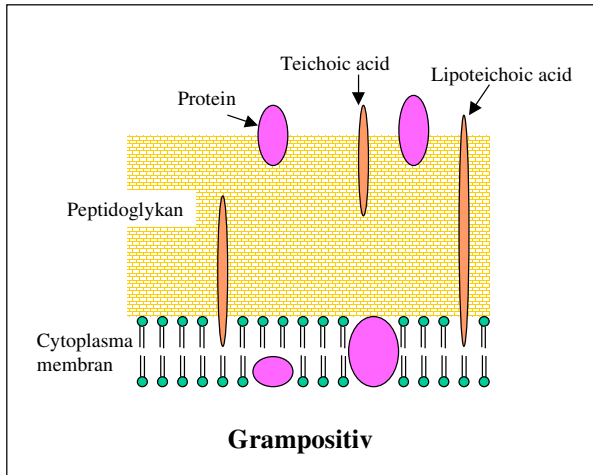
Endast inre cellmembran

Färgämnen kan ej tvättas bort. Tål hårdare tag.

Peptidoglykan

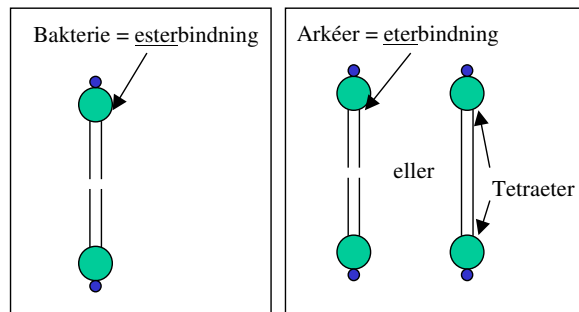
Cellulosaaktig och uppbyggd av två olika hexosor NAG och NAM. NAM binder till 4 aminosyror. Tvärbrygga mellan skapar nätverk. Penicillin slår mot syntesen av cellväggen. Penicillin blockerar, hindrar att bryggan bildas. Orsakar instabil cellvägg. Svårare för penicillin att tränga in i gramnegativ på grund av det yttre membranet som skyddar. Subunit tillverkas i cellen. Aminosyrorna sätt ihop utan ribosomers hjälp. Både L och D former.



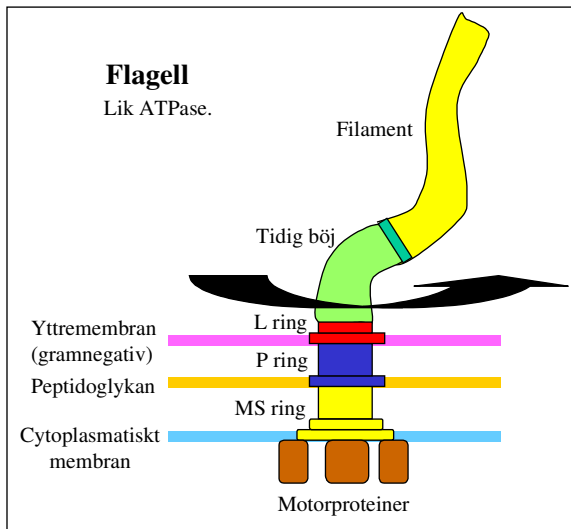


Endotoxiner finns hos tex E. coli och är gift som sitter på cellmembranet (LPS). LPS skyddar bakterien mot protozoer. Cellandningen sitter i periplasman och där finns mycket enzymer. Cellmembranet är ca 60% proteiner och 40% fosfolipider. Ändrar fettsyrasammansättning i membranet för att klara av att vara flytande vid lägre temperaturer. Om det är för kallt stelnar lipiderna i membranet och om det blir för varmt sker en total kollaps av proteinerna.

Arkéer har pseudopeptidoglukan eller endast proteinhölje, eller både pseudopeptidoglukan och proteinhölje. Vissa arkéer trivs vid 120°C som finns vid varma källor på havsbotten där trycket är högt (P. ocutum). De har stabila proteinhöljen. Andra arkéer trivs i en salthalt på 20%.



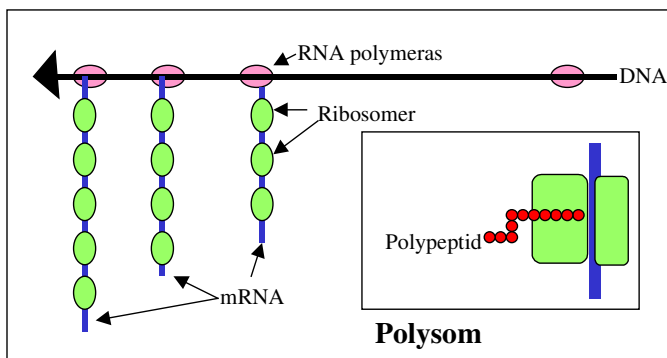
Det är vanligt att stavar har flagell(er). Kocker är ofta stilla. Flageller drivs framåt då de snurrar moturs och vänder slumpmässigt då flagellerna snurrar medurs. Bakterien simmar, stannar sedan och känner efter. Är det bättre eller sämre? Om det är sämre byter den håll och simmar en kortare sträcka innan den känner efter igen. Men om det är bättre simmar den en längre sträcka innan den stannar och läser av omgivningarna igen.



En bakterie med bara flageller i en ända kallas polär. En bakterie med en flagell i varje ända (2st) kallas lofotrip, och en bakterie med flageller runt hela kallas peritrip och de har svårare att hitta rätt. Flageller är så små att man inte kan se dem i mikroskop, men i ett elektronmikroskop syns dom.

En bakteries kärnregion har inget membran men håller ändå ihop. De har en enda kromosom som är cirkulär.

Bakterier har ett slemlager av polysackarid som kallas kapsellager. Plack är bakterier med extremt tjock kapsel.



Polysom är en taktik för att få snabb tillväxt. Fler proteiner tillverks samtidigt på samma mRNA sträng.

F4 Bakteriesystematik

Systematik. "Vetenskapen om organismers sort och diversifiering och om alla typer av relationer dem emellan". Ibland synonym till taxonomi. Inrymmer klassifikation, identifikation och nomenklatur.

Taxonomi. "Läran om klassifikation". Används som synonym till systematik och klassifiering.

Klassifikation. Indelning i grupper efter likhet (fenetisk relation) eller släktskap (fylogenetisk relation).

Identifikation. Procedur då man bestämmer att ett nytt isolat hör hemma i en redan tidigare känd taxon.

Nomenklatur. Namngivning enligt Linnés binomiala system, Artnamnet består av två led släktnamn och artepitet. Ex. *Escherichia coli* förkortas *E. coli*.

Art. Den grundläggande taxonomiska enheten i den bakteriella systematiken.

Taxonomisk hierarki

Överrike	Domain	<i>Bacteria</i>
Division/Fylum	Division/Phylum	<i>Firmicutes</i>
Avdelning	Section	<i>Bacilli and Lactobacilli</i>
Klass	Class	<i>Bacilli</i>
Ordning	Order	<i>Lactobacillales</i>
Familj	Family	<i>Streptococcaceae</i>
Släkte	Genus	<i>Streptococcus</i>
Art	Species	<i>Streptococcus equi</i>
Underart	Subspecies	<i>S. equi subsp. equi</i>
Stam	Strain	strain 1866

Traditionell taxonomi bygger på fenotypiska karaktärer.

Morfologi: Form, storlek och Gramfärgning.

Motilitet: Rörelseförmåga mha flageller, glidande, gasvesiklar eller icke motila.

Näringskrav och fysiologi: Mekanismen för energiutnyttjande (fototrof, kemoorganotrof osv), relation till syre, temperatur, pH, saltbehov/salttolerans, förmågan att utnyttja olika kol-, kväve- och svavelkällor.

Andra faktorer: Pigmentering, cellinklusioner, kapsel, patogenism, känslighet för antibiotika, GC innehåll etc.

Molekylär taxonomi (kemotaxonomi) bygger på flera olika metoder; några exempel:

- Basparskomposition hos DNA (mol% guanin+cytosin)
- DNA:DNA hybridisering
- rRNA sekvensering och ribotypning
- Restriktionendonukleasanalys (REA)
- Slumpvis amplifikation av polymorfa DNA sekvenser (RAPD)
- Lipidanalys

DNA:DNA hybridisering: På grundval av DNA:DNA homologi mellan olika stammar har man bestämt att: 1, Stammar med relativ bindningsförhållande (RFB) 70-100% är en och samma art. 2, RFB 20-70% olika arter inom samma släkte.

rRNA sekvensering och ribotypning: Prokaryoter har tre ribosomala RNA 5S, 16S och 23S. Resultaten från sekvensering av 16S RNA genen kan användas för att studera släktskap: sekvensskillnader > 3% ny art, > 5-7% nytt släkte.

Ribotypning: Är en teknik som baserar sig på skillnader/likheter i DNA sekvensen. DNA från ett isolat prepareras, klyvs med restriktionsenzymer och fragmenten separeras på gel.

Lipidanalys: Bygger på analys av och halten av fettsyror i membranen. Fettsyrorna hos olika prokaryoter kan variera med avseende på längden, förekomst av omättade grupper, grenade kedjor, hydroxyl grupper etc.

Det finns ingen officiell bakteriell taxonomi! Praxis är att följa standardverk såsom: Bergey's manual of systematic bacteriology eller The prokaryotes. "Nya" bakterier beskrivs först i International Journal of systematic and evolutionary microbiology.

Man kan få tag på stammar genom att isolera stammar själv, kontakta personer vilka arbetar inom fältet eller köpa (typ-)stammar ur internationellt erkända stamsamlingar som: American type culture collection eller Deutsche sammlung von mikroorganismen und zellkulturen.

F5 Antibiotika och desinfektion

Metoder för att reducera antalet mikroorganismer:

1. Värme. Antingen torr värme med hjälp av en ugn eller i en låga, eller våt värme. Då kan man koka, pasteurisera eller autoklavera.
2. Filtrera.
3. Strålning som UV, neutron-, gamma-, röntgen- eller elektronstrålning.
4. Kemikalier som antingen steriliserar eller desinfekterar.

Vid 63°C dör patogena bakterier efter 30 minuters pasteurisering.

Vid 72°C dör patogena bakterier efter 15-17 sekunders pasteurisering.

Vid 82°C dör patogena bakterier efter 3 sekunders pasteurisering.

Vid 100°C dör sporer efter 2 timmar i kokande vatten.

Vid 121°C dör sporer efter 15-30 sekunders autoklavering.

Vid 180°C dör sporer efter 2 timmar i en varmluftsugn eller efter 1 timme i varm olja.

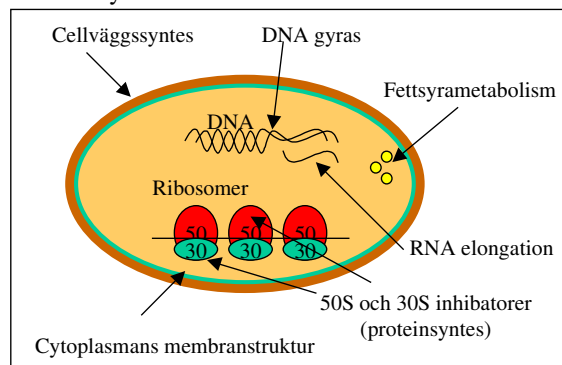
Om man filtrerar behöver man olika stora porer för att filtrera olika organismer.

5 µm erythrocyte, 1,2 µm jästcell, 0,45 µm större bakterier, 0,22 µm mindre bakterier, 0,1 µm bakterier utan cellvägg och 0,01 µm poliovirus.

Bakteriostatisk = ingen mer tillväxt, de som lever dör inte men slutar dela sig, levande- och totalhalten oförändrad.

Bakteriocidal = cellerna finns kvar men dör, totala antalet oförändrat men levandehalten minskar.

Bakteriolytisk = både levandehalt och totalhalt minskar (bakterierna förstörs).



Om man tar bort kemikalien som orsakar bakterio... börjar de överlevande bakterierna att dela sig igen. Vissa kemikalier är analoger till tillväxtfaktorer som bakterierna kräver för att kunna tillväxa/fortleva, därför är de giftiga för bakterier.

Antimikrobiala mekanismer interagerar med:

1. Metaboliska vägar
2. Cellväggs syntesen
3. Cytoplasmatiska membranet
4. Biosyntesen av proteiner eller nucleisyra

Antibiotisk resistens mekanismer:

1. Enzymatisk degradering av läkemedlet
2. Kemisk modifiering av läkemedlet
3. Aktiv transport ut ur cellen
4. Minskad genomtränglighet av läkemedlet
5. Ökad syntes av målmolekylen
6. DNA mutation resulterar i minskad bindningsaffinitet för läkemedlet

För att omringgå problemet med antibiotika resistens försöker man kombinera läkemedlet, finna nya läkemedle eller minska användningen av antibiotika i samhället som stort.

MIC = minimum inhibitory concentration, minsta inhiberande koncentrationen.

F6+10 Energimetabolism

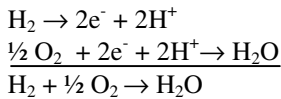
Cellens energilinjer:

- Energi och redoxpotentialer
- Cellen tar många små steg
- Respiration med eller utan syre
- Fermentation (jäsa, mjölksyra)
- Syntrofi (samarbete)
- Kemolitotrofi (energi ur oorganiska ämnen)
- Fotosyntes (energi ur ljus)

Cellerna använder ATP för korttidslagring av energi. En grundläggande egenskap hos materien är att den kan vara negativt eller positivt laddad. Positiva och negativa kroppar dras mot varandra och det är kraften i denna attraktion som ger den elektriska energin.

Energipotentialen: Energin som kan utvinnas ur en elektrisk ström bestäms av nivåskillnaden mellan start och slutpunkterna. Jämför med ett vattenfall, ju större fall desto mer energi. Väte startar högst upp och är väldigt villig att avge sina elektroner. Längst ner finner vi syre som väldigt gärna tar upp elektroner.

Elektrisk ström: Vattenmängden som rinner fram motsvarar den elektriska strömmen. Ett flöde av elektroner, både i vardagens elledningar och när väte och syre reagerar. Mängden elektroner.



oxidation av väte, avger elektroner

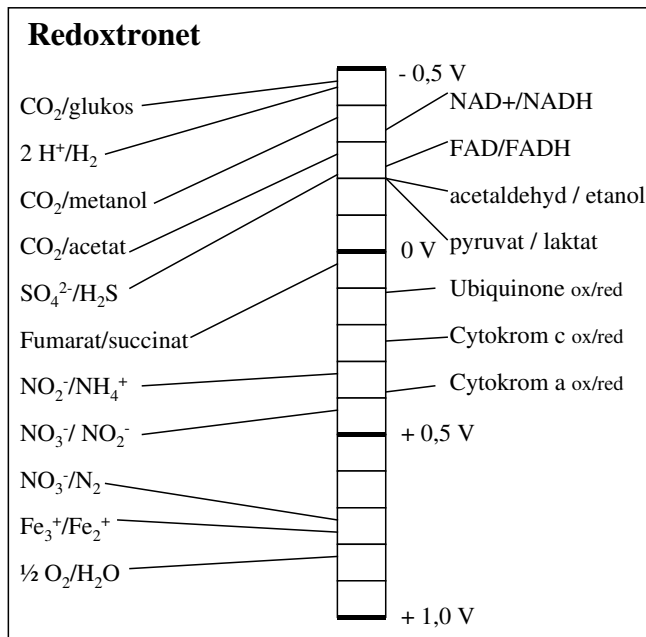
reduktion av syre, upptar elektroner

Väte avger lätt sina elektroner, syre håller hårt i sina och tar lätt upp fler.

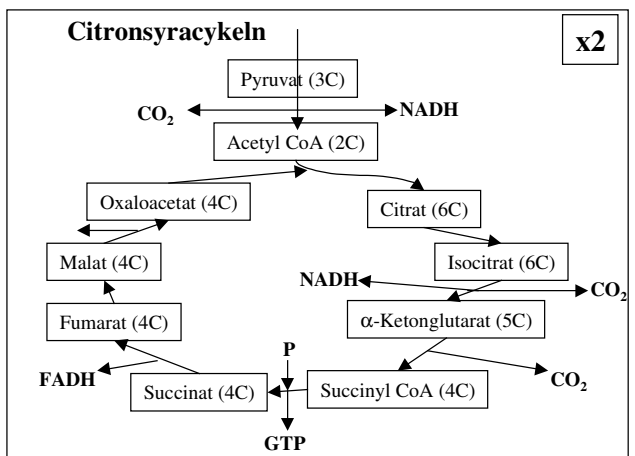
Alla halvreaktioner jämförs med $2\text{H}^+/\text{H}_2$ (pH 0, 1 M, 1 atm: E_0 (potentialen) = 0 V) som är referens. Vanligen används E_0' då pH är 7. Halv reaktionerna ordnas i O-R par, där den oxiderade formen skrivs först:

O / R	E_0'
$2\text{H}^+/\text{H}_2$	$E_0' = -0,421\text{V}$
$\frac{1}{2} \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	$E_0' = +0,816\text{V}$

Termodynamik: H entalpi – den energi som frigörs vid en kemisk reaktion. G fri energi – den del av energin som kan användas för arbete. Skillnaden mellan G_f hos reaktanterna och produkterna kallas ΔG . ΔG^0 (1M, pH 7, 25°C). $\Delta G^0 = n$ (antal e^-) x F (konstant) x $\Delta E_0'$.



För att kunna konservera energin utförs redoxomvandlingarna i små steg med hjälp av co-enzym (NADH tar emot e^- och H^+ för transport) och prostetiska grupper (e^- bärare). $\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$. Cytokromer fixerade i membran utför också e^- transport.

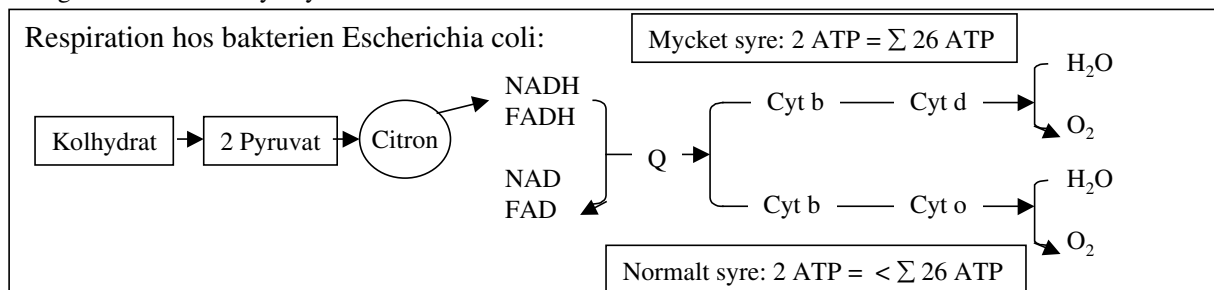


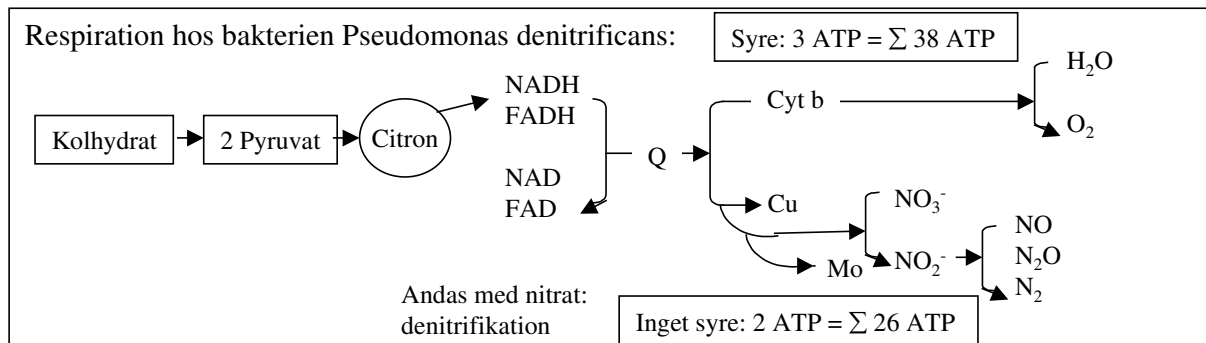
Energivinst hos glykolys: 8 ATP

8 ATP

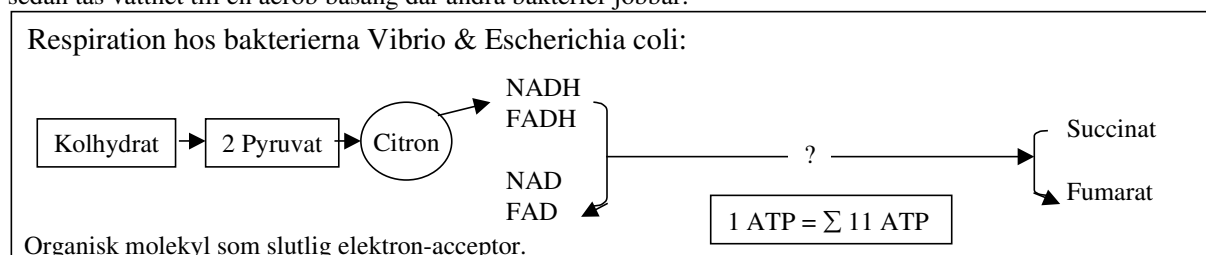
Energivinst från citronsyrcykeln: 30 ATP

30 ATP

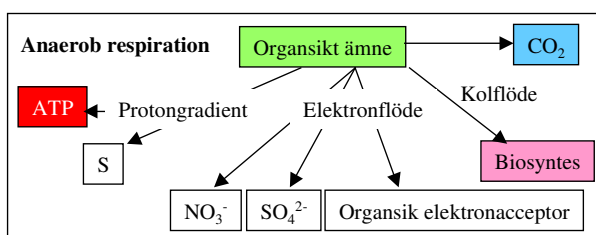
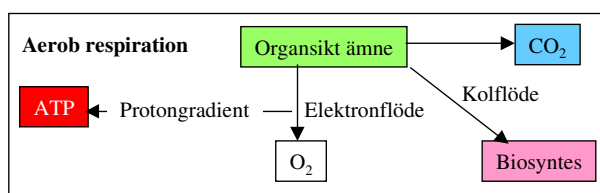




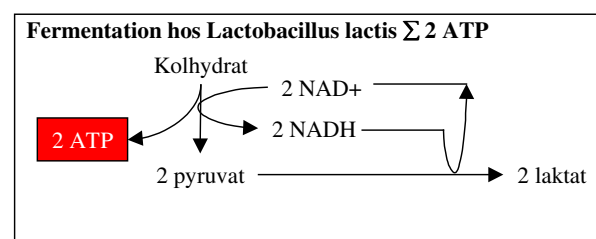
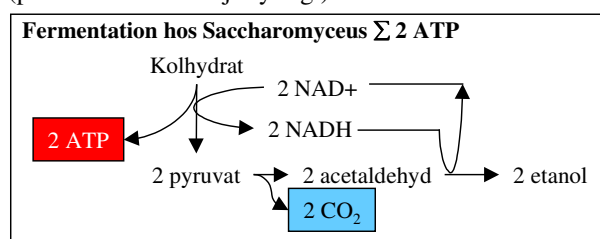
På vattenreningsverken använder man bakterier för att rena vattnet från kväve. Vattnet som är fyllt med organiskt material hålls först i en anaerob (anoxisk) basäng där denitrifikationsbakterier tar hand om kvävet och sedan tas vattnet till en aerob basäng där andra bakterier jobbar.



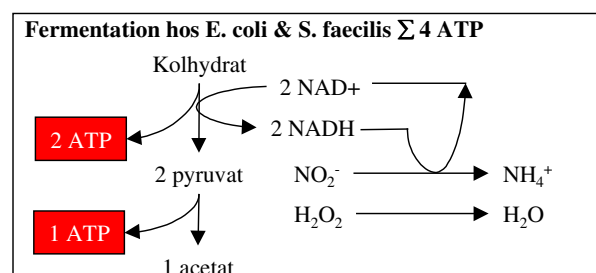
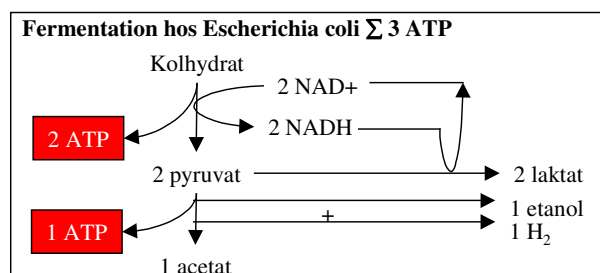
Respiration: 1, Fullständig oxidation av substratet till CO_2 . 2, Yttre slutlig elektronacceptor (t ex O_2 eller NO_3^-). 3, Mycket energi bildas (max 38 ATP/glukos). 4, Har citronsyracykel och fullständig respirationskedja.



Fermentation: 1, Ofullständig oxidation av substratet (etanol, laktat, blir inte koldioxid). 2, Inre elektronbalans (omfördelning av elektroner i substratet via oxidation och fermentation). 3, Lite energi (2-4 ATP/glukos pga litet fall på redoxornet). 4, Saknar fullständig citronsyracykel och helt respirationskedja. 5, Snabb substratomsättning (påverkar sin närmiljö tydligt).

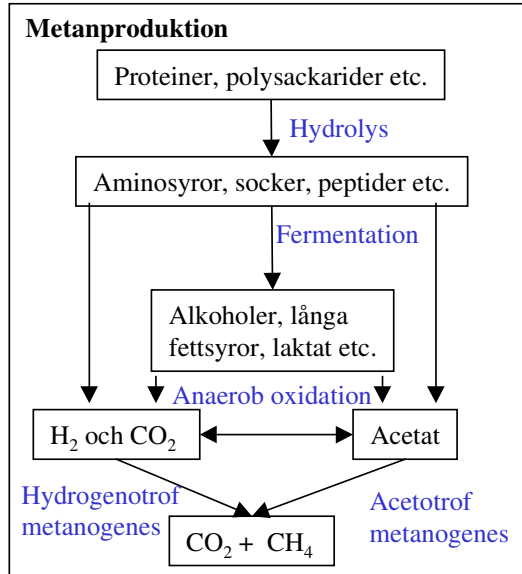


Etanol som bildas då jästsvampar fermenterar används för alkoholframställning och brödtillverkning. Laktobaciller används för att syra mjölkprodukter och t ex gurka. Man kan äta vitala laktobaciller som konkurrerar ut patogener i tarmarna, kallas probiotika. Ensilage konserveras med bakterier som arbetar under anaeroba förhållanden, dessa bakterier fermenterar.



Metanogener (=metanbakterier): Slutprodukter i kolomsättningen: CO₂ (mest oxiderat C) och CH₄ (mest

reducerat). Fermentation leder slutligen till acetat, H₂ och CO₂. De flesta bakterier kan göra 4H₂ + CO₂ → CH₄ + 2H₂O men bara vissa få kan ta acetat och metanol → CH₄. Anaerob respiration, liknar ingen annan e⁻ transportkedja (Co-enzym F). Metanobakterium (Archea) är strikt anaerobi (kan bara leva utan luft). Kan dock inte utnyttja socker mm som energikälla. Beroende av acetat, H₂ och CO₂ från andra.



Syntrofi: Då två organismer gör något tillsammans som de ej kan göra skilda åt. I metanreaktorer och i myrar finns Syntrophobacter som kan göra EtOH → H₂ + acetat (etanolfenmentation som inte borde gå då det är ogynnsam energiutveckling) och fettsyra → H₂ + acetat (fettsyraoxidation som inte heller borde gå då det är oynsam energiutveckling). Men Syntrophobacter och metanogener samarbetar. De ändrar pH₂ och går substrat-produkt konc/tryck från standardförhållanden och den fria energiförändringen drivs mot minus.

Kemolitotrofer (oorganiska energikällor) t ex nitrifikationsbakterier: NH₄⁺ → NO₂⁻ → NO₃⁻. Det finns ammoniumoxiderare och nitritoxiderare. De får sitt kol från CO₂ och är då autotrofer. De orsakar nitratläkage från åkermark (minusladdade föreningar "regnar" bort från åkern). De använder omvänd elektrontransport. Ihop sparade ATP får driva elektroner mot den vanliga strömmen, men driver dem förbi NH₃→NO₂⁻ och upp i redoxornet till NAD → NADH. Ett annat exempel är oxidation av svavelväte eller svavel, de heter Thiobacillus och använder O₂ som slutlig elektronacceptor. De är autotrofer (kol från CO₂) och jobbar vid låga pH. Andra oorganiska molekyler som kan ge energi: H₂, Fe²⁺, etc.

Cyklisk fotosyntes: Bakterier har detta, inte växter (cyanobakterier gör som växter). Elektroner exiteras mha klorofyll, men bara i ett seg som räcker för att göra ATP, men inte för att göra NADH. Samlar ihop ATP för att på så sätt göra NADH.

Kemo-: Kemisk energikälla.

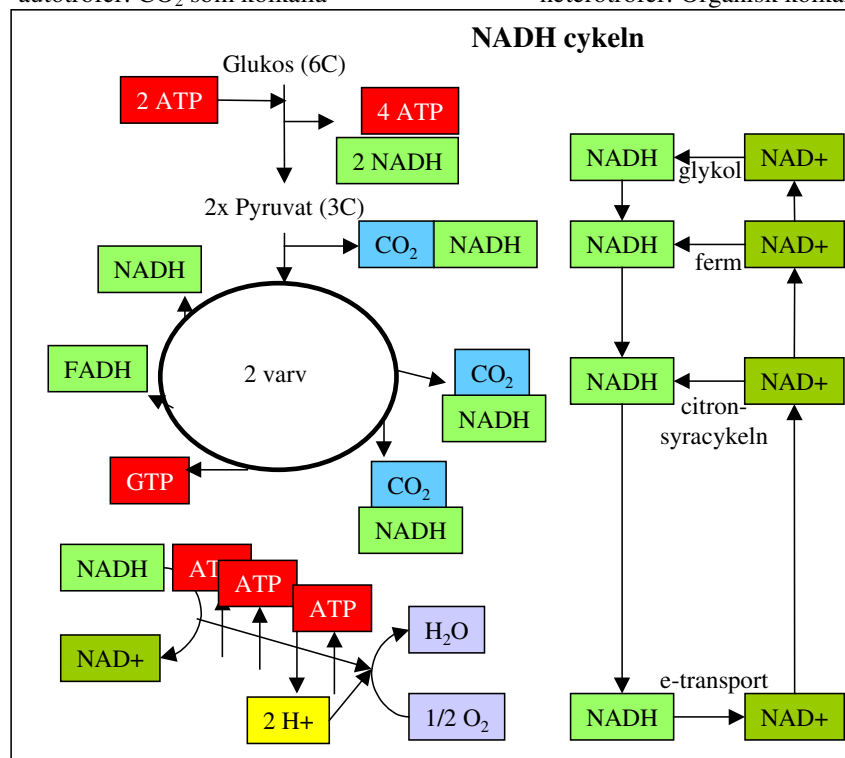
Foto-: Ljus som energikälla.

-litotrofer: Oorganisk e⁻donator

-organotrofer: Organisk e⁻donator

-autotrofer: CO₂ som kolkälla

-heterotrofer: Organisk kolkälla



F7 Bakteriell patogenes

Skyddsmekanismer vid slemhinnor är:

mucus (slem) som fångar in bakterierna,

enzym: lysozymer bryter ner peptidoglykan, lactoferrin binder järn och orsakar en lokal brist på järn för bakterier och laktoperoxidas som producerar superoxid-radikaler;

sekretoriskt IgA fångar upp bakterier och binder till mucus,

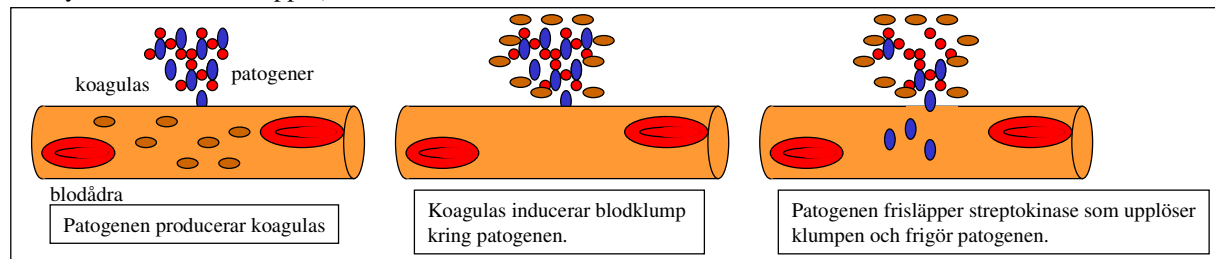
cilierade celler och peristaltiska rörelser i tarmen viftar rör partiklar utåt,

specifikt inducerat immunsystemet.

Smittovägar: handkontakt*, luftkontakt*, host- och nysdroppar*, zoonoser i kontakt med djur*, kontaminerad mat, skärsår där kontaminerad jord tränger in, kontaminerat vatten, med vektorer som fästingar och myggor samt kontakt med kontaminerade föremål. *=direkta smittovägar.

Virulensfaktorer (extracellulära proteiner som bidrar till att etablera och bibehålla sjukdom):

- Adhensions molekyler (adhesiner) binder specifikt till vävnad och kan leda till invasion, gömmer sig från immunförsvaret.
- Enzymer kan bryta ner vävnad vilket kan leda till spridning av t ex hyaluronidas och kollagenas, bryta ner makromolekyler och ge näring/byggstenar t ex proteaser och nukleaser eller så kan de lysa celler som leder till bekämpning av immunförsvaret och ger näring, t ex lecitinaser, leukocidaser och hemolysiner (som lyserar röda blodkroppar).



- Toxiner (kan vara enzymer).
- Bilda porer
- Påverka metaboliska processer.

Staphylococcus aureus orsakar: sår infektioner, blodinfektioner, artrit (ledinflammation), endocardit (hjärtklaffsinfektion) och mastit hos kor. Virulens faktorer hos *S. aureus*:

- Extracellulära enzymer: koagulas*, hyaluronidas, lipas, Dnas*, lecitinase och proteas*. (*=lab).
- Toxiner: Enterotoxiner A-E; α , β , δ , γ -toxiner (hemolysiner lyserar och dödar olika sorters celler) samt TSST= toxicshocksyndrom (tampongsjukan).
- Adhesiner: Fibrinogen bindande proteiner (endokardit), IgG bindande protein (protein A), Fibronectin bindande protein (mastit), kollagen bindande protein (ledinflammation) samt vitronectin bindande protein.

Strategi för att utveckla vaccin:

Identifiera receptorer (adhesiner) → Klona och sekvensera genen → Producera rekombinant protein →

karaktärisera proteinet → utvärdera i djurmodell (antikroppssvar, skydd, säkerhet) → klinisk studie i människor

→ kommersialisera vaccin.

F8 Svamp

Mykologi = läran om svampar. Det finns bagerijäst, mögel och ”skogs”svampar.

Myxomycota – slemsvampar (lägrestående svampar, lever inte upp till def. av svamp, nära släkt med protister).

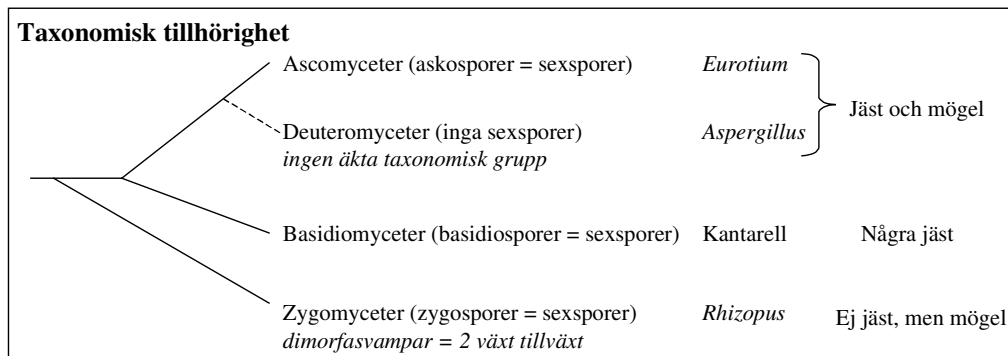
Eumycota – äkta svampar. Taxonomiska grupper: Zygomyceter*, Ascomyceter*, Deuteromyceter*, Basidiomyceter* (*=viktiga i livsmedel och foder), Chytridiomyceter och Oomyceter.

Morfologisk (utseende) indelning:

1, Reproducerande organ: - Närvaro och morfologi av sexuella reproduktionsstrukturer. – Anamorf = imperfekt = asexuellt stadium. – Telemorf = perfekt = sexuellt stadium.



2, Koenocytiskt (sammanhållande) eller separerade hyfer. Mycel är nätverk av hyfer.

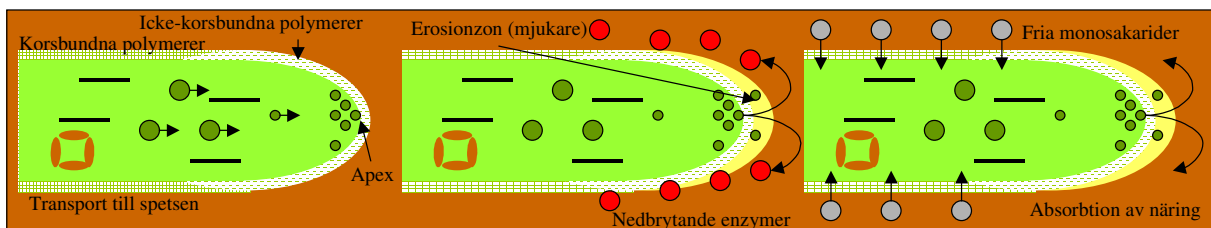


Svampar är eukaryota heterotrofa (lever på organiskt material) organismer som växer med aplikat (bara i toppen) tillväxt, absorberar näring genom membranet och som förökar sig genom bildning av vegetativa (asexuella) sporer (konidier) eller meiotiska (sexuella) sporer. De har cellkärna, organeller och cellväggar (bestående av glukos, kitin, socker-proteiner och ergosterol (som bara finns i svampar)). Svampar är viktiga nedbrytare av dött organiskt material i naturen. Långsamt växande vednedbrytande mögel frigör enkla socker som snabbväxande svampar utnyttjar.

Mögelsvamp eller jästsvamp (ej två olika taxonomiska grupper):

- Olika tillväxtsätt: mögel är filamentös (flercellig) och jäst är encelliga.
- Olika komposition på cellväggarna, jäst har mindre kitin.
- Olika roller i naturen och i livsmedel.
- Jästsvampar kan inte röra på sig, men mögel kan förflytta sin cytoplasma genom förlängning av hyfen.
- De har samma ursprung (stor likhet i DNA sekvens).
- De är eukaryota organismer.
- De har båda ergosterol i membranen.
- *Saccharomyces* är en jästsvamp och *Penicillium* är en mögelsvamp.

Dimorfa (2 tillväxtsätt) jästsvampar kan växla mellan encelliga strukturer och pseudohyfer (många jästarter, släpper aldrig modercell) eller äkta hyfer (få jästarter). Dimorfa mögelsvampar kan växla mellan äkta hyfer och encellig växt vid vissa förhållanden.



Mögelsvampar är till problem för människor då vi kan vara allergiska mot sporer, mykotoxiner är de mest cancerframkallande ämnen, vissa är patogener och de kan förstöra mat och hus.

Allergena reaktioner (icke-invasiva)

- Allergisk alveolit (tillväxt av mögel i alveolerna).
- Astma reaktioner av sporer.

Patogenicitet (invasiv)

- *Candidos* (vaginal).
- *Aspergillos* (vanligast)

Rikt sporulerade mögel: *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*. - *Zygomycos*
- Överkänslighet mot jästsvamp som livsmedel. - *Cryptococcus*

Dematofyter invaderar huden. Fältflora, infektion på fält = då de fortfarande växer, före skörd. Lagringsflora = aldrig på fält (hö, säd, nötter).

Mycotoxiner är sekundärmetaboliter (bildas då svamp slutar växa), giftiga för djur och människor och produceras i huvudsak från gruppen deuteromyceter. De viktigaste toxinerna är aflatoxin och ratoonin. Jäst bildar inte mykotoxiner.

Svampar är bra för människor: penicillin, quorn, mögelost, vin, öl, bröd. Olika stammar har olika områden. Faktorer som påverkar svampars tillväxt: näringsinnehåll, pH, konserveringsmedel, vattenaktivitet, temperatur och tillgång på syre. Psykofila (0°-20°, några industrijästar), mesofila (10°-35°, de flesta svampar) och termofila (20°-60°, patogener). De flesta svampar växer vid pH 4,0-8,5. Många svampar kan leva under syrebegränsning. Zygomyceter växer snabbt och bildar sporer. De viktigaste släakterna är 1, *Rhizopus* (viktigt förstörelsemögel, används i livsmedelstillverkningen). 2, *Mucor* (viktigt förstörelsemögel, några kan vara patogena). 3, *Absidia* (vanlig i lagrad spannmål och inomhusmiljöer). De är lätta att få bort mha värme eller frånvaro av vatten. Deuteromyceter har endast vegetativ förökning och är ingen riktig taxonomisk grupp. Det är en morfologisk grupp som består av svampar (mest ascomyceter) som ej kan reproducera sig genom bildning av sexuella sporer. De innehåller många viktiga släkten som:

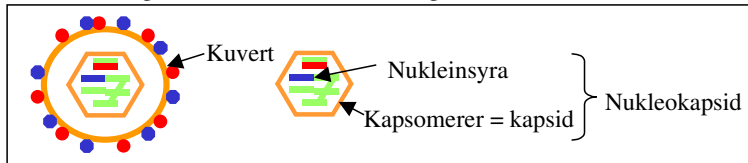
Fusarium: Tillhör fältfloran. Växtpatogen. Toxinproducent. Klarar inte av torra.

Penicillium: "Grönmögel" som är mkt vanligt i tempererat klimat. Toxinproducent, allergen. Växer långsamt och är viktig i livsmedelsproduktion. Lagringssvamp.

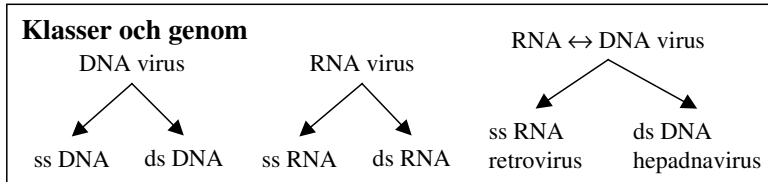
Aspergillus: Mycket vanligt mögel i tropiskt klimat, toxinproducerande och allergen. Viktig i livsmedelsproduktion. Lagringssvamp.

F9 Virus

Klassificering av virus sker efter: värd, genom (DNA, RNA, enkel- eller dubbelsträngat), virionens



(viruspartikelns) morfologi (naket/hölje) samt replikationsstrategi.



Infektion: 1, Virus fäster/absorberas vid värdcell. 2, Virusets DNA penetrerar/injiceras in i cellen/cellkärnan. 3a, Syntes av "tidiga" ofta icke strukturella proteiner för förökning. 3b, Syntes av nukleinsyra. 3c, Syntes av "sena" strukturella proteiner. 4, Ihopsamling och packning. Det svåra vid packningen är att få med alla segment av DNA/RNA och att bara få en av varje. 5, Frisläppande, lysis eller avknoppning.

Man kan räkna antal fager (virus som angriper bakterier) genom att blanda smält mjukagar, bakterieceller och en utspädd faglösning och sedan hålla mixen på en agarplatta som man inkuberar. Efter ett tag kan man se en matta av bakterier och i mattan zoner utantillväxt = plack. Man räknar antal plack.

Vissa fager infekterar vissa bakterier, t ex *Escherichia coli* blir bara infekterad av fager som kan infektera den. Man kan inte odla fager så som man odlar bakteriekolonier på lab. Men man kan räkna placken som fagerorna orsakar i en bakterieodling. En plack orsakas av en fag som infekterat en bakterie. Man kan se placken som en klar zon där inga bakterier växer i en grumlig matta av infekterbara bakterier på en agarplatta. Fager kan lysera (därmed också döda) cellerna eller hämma deras tillväxt. Pfu betyder "plaque forming units", och om man räknar antal plack som bildats av fager på en matta av *E. coli* säger man att man räknar pfu/ml titrerat på *E. coli*. Man kan behöva späda sitt prov innan man infekterar bakterierna för att få 30-300 pfu per platta.

Influsensa viruset tillhör familjen orthomyxoviridae och har 8 segment enkelsträngat RNA. Det finns tre typer: B och C infekterar bara människor medan A även infekterar vettenfåglar och däggdjur. De använder sig av avknoppning vilket ger ett hölje med oregelbunden form. De har två viktiga ytproteiner i höljet: Hemagglutinin som binder till receptorer på cellerna och upptar 25% av virusmassan, och neuramididas som är ett enzym nödvändigt för ihopsättning av viruspartiklar, upptar 10% av virusmassan.

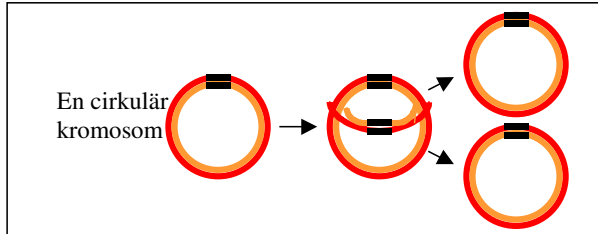
Pandemier (världsomspännande epidemier). 1889 fanns ett H2N2 virus som härjade i 11 år. 1900 fanns ett H3N2 virus som varade i 18 år. 1918 uppkom spanska sjukan som var ett H1N1 virus, 1957 kom Asiaten, ett H2N2 virus. 1968 kom Hongkong viruset som var ett H3N2 virus och 1977 uppkom Ryska influensan, ett H1N1 virus. Fågelinfluensan är ett H5N1 virus.

Man diagnosticerar virus genom att detektera antikroppar i blodprov, göra PCR på nässvabb eller göra immunofluorescence på nässvabb.

Viroider är virus som infekterar växter.

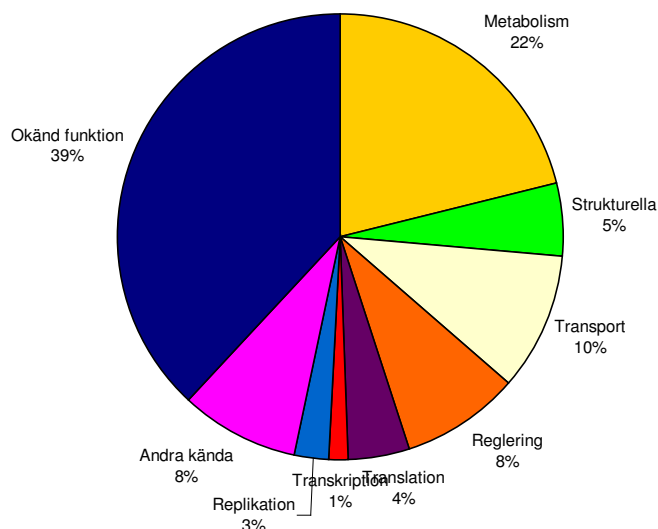
F11 Bakteriegenetik

Det mänskliga genomet är ca 1000 gånger större än en bakteries. Man använder bakteriegenetik för att förstå hur mikroorganismer fungerar. De är enkla modellsystem som har mycket gemensamt med mer komplexa organismer. Genkloning är ett sätt att manipulera DNA. Bioteknik är hur vi använder bakterier för våra syften i t ex vattenrening mm. Man vill även kunna studera spridning av bakterier i naturen.



Man har sekvenserat hela kromosomen i E. coli. Operon är en grupp gener vars uttryck styrs av en enda operator, typiskt i prokaryota celler. Då bakterier förökar sig kallas det för täta-replikation. Den börjar vid "origin of replication" och syntetiserar båda strängarna samtidigt. Det tar ca 40 min för E. coli att utföra en kopiering, men det tar bara 20 min för den att dela sig, då den påbörjar en ny kopia innan den första är helt klar.

Genomet i E. coli är 4,6 Mbp med 4288 öppna presumtiva (möjliga) gener som utgör 88% av kromosomen.



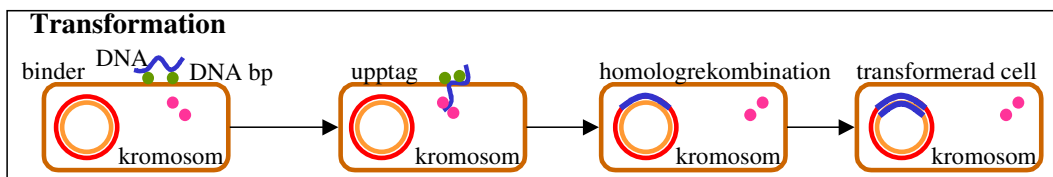
Det finns olika sorters mutationer som kan uppstå. Vid en felkänning har en nukleotid byts ut till en annan t ex T→A, det resulterar i ett felaktigt protein. Vid en icke-känning tappas en nukleotid bort och proteinet blir ofullständigt. En tyst mutation är då en nukleotid byts ut, men det resulterar ändå till att samma aminosyra och man får ett fungerande protein.

Baser kan tappas eller tillföras, det leder till mutationer som oftast leder till fel på proteinet eftersom hela koden förskjuts. Rekombination är då två kromosomer byter ut en del DNA med varandra. Oftast är dessa två delar väldigt lika.

Fritt DNA kan även ta sig in i celler och förändra deras DNA. Det finns tre sorters överföring av gener: 1, Transformation

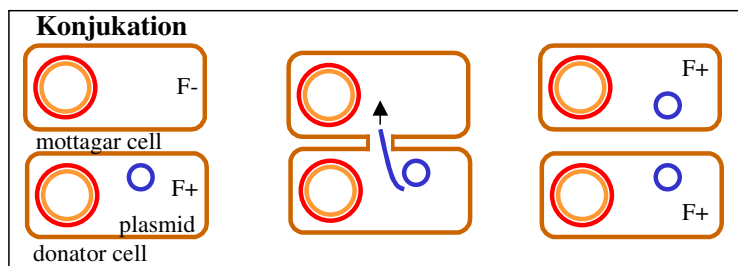
(upptag av fritt DNA från omgivningen). 2, Konjugation (via direkt kontakt, alltid av plasmider). 3, Transduktion (via fag). Uttryck av genproduktion kräver rekombination, med undantag för plasmider.

Transformation: Kräver att cellen är kompetent (kan ta upp DNA). Vissa är naturligt kompetenta vid ett visst tillväxtstadium. Vissa andra kan man inducera kompetens på lab.



Transduktion: Har två begränsningar; fager är specifika och det kräver homolog rekombination. En fag tar sig in i en bakterie och förökar sig. Men en av de nya fagerna innehåller inte samma DNA som ursprungsfagen, utan har fått i sig DNA från den infekterade bakteriens DNA. Eller att en del av värdbakteriens DNA tas för fag DNA och följer med in i de många nya fagerna. Detta DNA för den in i en annan bakterie och om en homolog rekombination sker har även en transduktion skett. DNAt som kommer in i bakterien kommer helt enkelt som en DNA-sekvens som flyttats med hjälp av ett virus.

Konjugation: En plasmid tar sig in i en bakterie från en annan bakterie. Den största risken vid rädsla för resistensspridning.



F12 Mikroorganismer i mark

Mikroorganismer är oftast bra och nyttiga. De deltar i omsättningen av C, N, P och S, dvs gör otillgänglig växtnäring tillgänglig för rötterna. De bidrar till aggregatbildning (jordklumpar) som gör det enklare för rötterna att penetrera marken och ökar rötternas syresättning genom dränering av vatten. Mikroorganismer fungerar som miljöfilter som hindrar kemikalier från att nå grundvattnet. I en handfull jord finns det fler mikroorganismer än vad det någonsin funnits människor på vår jord. I ett gram jord finns ca 10^9 stycken.

Bakterierna är små och har snabba transporter, snabb tillväxt och kan bryta ner nästan alla organiska molekyler. Svampar är långa och kan transportera näring långa sträckor. Protozoer är känsliga men kan beta bakterier och jäst. Markdjur som t ex insekter fragmenterar organsikt material och förarbetar mat för bakterier och svampar. Bakterierna som dominerar i marken är Arthrobacter (kock som inaktiv, stav som aktiv) med 50%, Bacillus (bildar sporer, aeroba) med 25%, Actinomycetales (hyfbildande bakterie) med 10% och den grupp av Pseudomonas, Nitrobacter, Rhizobium och Azotobacter mfl utgör ca 10% tillsammans. Ungefär 1000 av 1600 namngivna bakteriearter har isolerats från mark. Troligen har endast 1-10% kunnat isolerats, vi vet alltså lite. Hos svamparna är det hyfspetsarna som är aktiva. Häxring är yttringen av hyfspetsar som frigör näring till gräset, då blir gräset där grönare. De dominerande svamparna i mark är: Aspergillus, Penicillium, Trichoderma (bekämpar patogener) och Geotrichum.

Protozoer som toffeldjur och amöbor är encelliga eukaryota organismer. De är 200-300µm långa och äter bakterier. De har ingen stel cellvägg och måste därför leva i vatten. Pinocytos: upptag av makromolekyler i lösning genom att en vakuol snörps av. Fagocytos: upptag av större olösliga partiklar som bakterier. De har ett vilostadium vid torka.

Organism	/ gram torr jord	kg / ha
Antal bakterier	10^3 - 10^{10}	700
Meter svamphyfer	3000-30 000	2700
Antal protozoer:		50
flagellater, amöbor	10^5 - 10^6	
ciliater	10^3	

Mikroorganismernas fördelning i marken följer grovt sett det organiska materialets fördelning. Tillväxer på: förna, mo och runt rötter. Bakterier växer i vattenfasen och svampar växer i vatten- och luftfasen. De förekommer klumpvis eftersom energi- och kolkällans fördelning varierar. Bakterier (minus laddade) attraheras/repelleras till laddade lerkolloider (2-4µm) och partiklar av organiskt material. Bakterier bidrar till aggregatstrukturen då de bildar slem (klister) och svamparna genom att växa kring partiklar med hyferna (rep). Rhizosfären är en lyxmiljö för mikrober, det är den del av marken som påverkas av rötter. Det är en kol- och energirik miljö. Rotexudat: rötterna utsöndrar enkla organiska molekyler (90% socker, 10% aminosyror) som är bakteriegodis. Växter som avsöndrar dessa molekyler har en större närvaro av mikroorganismer, får ett bättre upptag av joner, skyddas mot patogener och drar fördel av bakterier som frigör N och P. Man kan säga att rötterna matar bakterierna i spetsen, där har bakterierna mycket energi och binder kväve. Men längre bak börjar de svälta, och innehåller fortfarande kvävet. Amöbor äter upp de kväverika bakterierna och "kissar" ut näring lite längre bak på roten.

Pesticider gömmer sig i små utrymmen i partiklar så att bakterierna inte kommer åt att äta upp dem och då kan dessa pesticider läcka ut till grundvattnet och skada större organismer.

Kvävefixering $N_2 \rightarrow NH_3$

Nitrogenas är det endast några bakterier som klarar av. De behöver Fe och Mo som är aktiva delar i enzymet. Denna process inaktiveras av syre och regleras av halten NO_3^- och NH_4^+ (finns det för mycket stänger det av). Mycket energi krävs (20 ATP/ N_2). Rötterna lockar till sig nitrogenasbakterier med ett kemiskt ämne. Bakterien sänder i sin tur ut ett ämne som betyder "jag är snäll, får jag komma in?". En bakterie invaginerar då i rotcellen där den sedan delar sig. Bakterierna formar om sig och bildar aktiva kvävefixerare. De utsöndrar också ett hormon som bildar klumpar på rötterna. Dessa klumpar ska vara rödfärgade inuti. Byteshandel mellan växt och bakterie som ger kväve men får näring.


Nitrifikation är en mindre bra sak som nitrobacter orsakar. $NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$ De är kemoautotrofer som får sitt kol från CO_2 och får energi genom att oxidera NH_4^+ eller NO_2^- . De är helt beroende av O_2 och orsakar kväveläckage ur marken då minus laddade molekyler hakar på vattenmolekyler och rinner ner till grundvattnet.

Denitrifikation: $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$. Många grupper av vanliga jordbakterier av zymogen typ gör detta t ex Pseudomonas och Bacillus. 1-50% av alla bakterier kan detta, de kan respirera med kväveoxider om syret tar slut.

F13 Livsmedelsmikrobiologi

Mikrobiell infektion är en fråga om balans:

Försvar:		Patogenes:
Mekansikt	Ålder, gener,	Toxiner
Kemiskt	allmäntillstånd,	Invasion
Immunsystem	stamvariation,	Adhesiner
Normalflora	infektionsdos & -väg	Antigenvariation

Hälsa  Sjukdom

Olika stammar av en bakterieart kan vara väldigt olika! Den genetiska uppsättningen (genotyp) hos en bakterie är grunden för dess egenskaper (fenotyp). Fenotypen beror också på miljöfaktorer som pH, temperatur och atmosfär etc. Hos vissa arter t ex *Shigella* så är de flesta stammar patogena. Hos andra arter t ex *Escherichia coli* så är de flesta stammar icke-patogena. Alltså är det inte alltid relevant att bara tala om arter när man ska förstå bakteriell sjukdom.

Sporer använder bakterier för att kunna överleva i fel miljöer, eller i miljöer som förändras.

Patogenicitet = förmågan att orsaka sjukdom.

Virulens = grad av patogenicitet.

Virulensfaktor = produkt eller strategi som förstärker förmågan att orsaka sjukdom.

Virulensfaktorer som gynnar kolonisering och överlevnad: adhesion (pili), undvikande av immunsystemet (kapsuler), invasion och allmänt som rörlighet, kemotaxis och järnförvärv.

Virulensfaktorer som skadar värdet: exotoxiner (A-B typ, membranförstörare), produkter som orsakar autoimmuna reaktioner (heat-shock proteiner), hydrolytiska enzymer (hyaluronidaser, proteaser, Dnaser, fosfolipaser) och endotoxiner och cellvägskomponenter (endotoxin, peptidoglukan och teichoinsyra).

Sjukdom utan infektion: matförgiftning av: *Botulism*, *C. perfringens*, *S. aureus* och *B. cereus*.

Grampositiva bakterier som orsakar problem i livsmedel: sporbildare som har stor överlevnadspotential (*Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *C. tyrobutyricum*, *Bacillus cereus* och *B. subtilis*) och andra mycket viktiga grampositiver (*Staphylococcus aureus* och *Listeria monocytogenes*).

Grampositiva

Clostridium orsakar ond bråd död, matförgiftning och sprängda ostar. De är grampositiva stavar, strikt anaeroba och sporulerar.

- *Clostridium botulinum* finns i jorden och de finns en stor diversitet inom arten. Man delar in dem i 4 grupper, och det finns 8 olika typer av botulinumtoxin. De har extremt potent neurotoxin. Sporererna kan gro i ensilage om pH stiger och hästar är då extra känsliga.

- *Clostridium perfringens* är vanlig i matförgiftningar och en del av normalfloran. De är mindre känsliga för syre än *C. botulinum*. Matförgiftningen: Symtomen uppträder 8-24 timmar efter intag av ett stort antal vegetativa bakterier i födan och är illamående, magvärk och diarré som varar i 1-2 dagar. De vegetativa cellerna överlever syran i magen, sporulerar i tunntarmen och producerar samtidigt enterotoxin. Enterotoxinet inducerar nettoflöde av vatten ut till tarmen genom att förstöra cellmembranet (porbildande toxin).

- *Clostridium tyrobutyricum* finns i jorden och kan växa i ensilage om pH stiger. Sporererna kan passera kons magtarmkanal och så småningom kontaminera mjölken. Mjolk med sporer kan ställa till med problem vid osttillverkning så kallad "late blowing".

Bacillus orsakar dålig mjölk, magsjuka och används som "bioterrorism". De är grampositiva aeroba stavar som sporulerar. Det är ett stort släkte som indelas efter spormorfologi och biokemiska karakteristiska. Finns i jord och de flesta är icke-patogena.

- *Bacillus cereus* orsakar skämd mjölk (psykrotrofa stammar) och matförgiftning. Det finns två typer av matförgiftning: 1, Diarré syndromet ger symptom inom 8-16 timmar efter konsumtion och varar i 12-24 timmar. Man får rikligt med vattnig diarré, illamående och kräkningar fast det är mindre vanligt. Toxinet produceras i maten eller magen? 2, Emetiska syndromet har en inkubationstid på 1-5 timmar och symtomen är kräkning, illamående och diarré (liknar *S. aureus* symptom). Toxinet litet och värmestabilt och produceras i maten.

Staphylococcus är grampositiva kocker i klasar som är fakultativt (med eller utan syre) anaeroba och som har hög salt- och troktolerans. De finns på huden och slemhinnorna hos människor och djur. Det finns 27 arter och *aureus* är den viktigaste humanpatogenen. De orsakar många olika infektioner hos både människor och djur.

- *Staphylococcus aureus* orsakar bland annat matförgiftning med en inkubationstid på 2-4 timmar vilket är typiskt för förgiftning. Sjukdomen är resultatet av intag av toxin som bildats i maten och symtomen är illamående, kräkningar och diarré. De finns 7 typer av toxin (A, B, C₁₋₃, D och E) som är små "singel-chain polypeptides" och värmeresistenta neurotoxiner som stimulerar kräkreflex via receptorer i magen. Mekanismen bakom diarrén är okänd.

Listeria monocytogenes är icke-sporulerade grampositiva stavar som finns i multnande vegetation, vatten och ensilage och växer vid låga temperaturer. De sprids till människa via bland annat opasteuriserad mjölk och mjölkprodukter. De virulenta stammarna producerar listeriolysin O och ger många symtom som t ex blodförgiftning, hjärtinflammation och hjärthinneinflammation. Gravida riskerar fosterskador.

Gramnegativa

Det är framförallt bakterier från familjen Enterobacteriaceae som orsakar problem i livsmedel t ex *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Vibrio* och *Escherichia coli*.

Escherichia coli är en av de "viktigaste" tarmbakterierna hos människa och djur, och de flesta stammar är ofarliga. Vissa stammar är patogena och kan orsaka diarré, urinvägsinfektion och hjärthinneinflammation mm. De sprids huvudsakligen via fekal kontamination av vatten eller kött vid slakt. Som tarmpatogen orsakar den en rad sjukdomar:

- Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ger symtom som mild diarré till koleraliknande symtom och varar i 2-3 dagar. Turistdiarré men också allvarliga uttorkning av barn i U-länder.
- Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) är allvarlig hos barn och kan fortgå i över 2 veckor.
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) invaderar epitelcellerna i tjocktarmen och orsakar inflammation och celledöd.
- Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) kan orsaka livshotande skada och O157:H7 är den vanligaste typen. Man kan få akut blodig diarré, akuta njurproblem, hämolytisk anemi eller neurologiska symtom. EHEC kräver en låg infektions dos, är adhesiv, producerar toxin och är syra tolerant. Överförs via köttfärs, person till person eller med vatten/simvatten.

Salmonella spp är nära släkt med *E. coli* och är en art med 7 underarter och mer än 2000 serotyper. De flesta serotyper är patogena för människor och djur. Orsakar tarminfektioner och ibland mer allvarliga infektioner, den vanligaste källan är infekterade djur (kött, kyckling och ägg). Djurfoder kan kontamineras lätt från benmjöl.