

MDA_L3

Number of participants: 32



1. Qual è il principale limite dei metodi coltura-dipendenti?

20 correct answers
out of 24 respondents

Non permettono
l'identificazione delle
specie presenti



4%

1 vote

Non consentono la
quantificazione delle
cellule vive



13%

3 votes

Non rilevano
microrganismi non
coltivabili in laboratorio



83%

20 votes

Richiedono strumenti
bioinformatici complessi



0%

0 votes



2. A cosa serve principalmente la RAPD-PCR negli studi di microbiologia alimentare?

22 correct answers
out of 22 respondents

Identificare microrganismi
non coltivabili

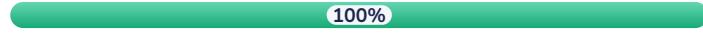


0%

0 votes



Tipizzare ceppi isolati da
alimenti



100%

22 votes

Sequenziare interi genomi



0%

0 votes

Quantificare RNA
messaggero



0%

0 votes

3. Spiega in una frase la differenza tra PCR convenzionale e Real Time PCR

13 respondents

La pcr tradizionale è un processo che mi permette di ampliare un determinata zona bersaglio le genoma, ma in quantità limitata. La real time pcr invece è un metodo che oltre al sequenziamento del genoma in modo più rapido, permette di avere la codifica del genoma stesso tramite la fluorescenza

Nella Real Time Pcr non vi è elettroforesi

La real time pcr consente di amplificare il DNA complementare del RNA quindi dando informazioni sulla vitalità del microrganismo (qualitativa) mentre la pcr solamente il DNA (quantitativa)

La prima è qualitativa mentre la seconda è anche quantitativa

A differenza della PCR convenzionale la Real Time PCR consente la quantificazione dei microrganismi

Per la pcr convenzionale bisogna sequenziare i genomi per poter procedere

la real time pcr è quantitativa e da i risultati in tempo reale la pcr convenzionale è qualitativa

la PCR lavora sui frammenti DNA mentre la RT-PCR lavora sui frammenti di RNA, quindi la prima solo presenza mentre l'altra quantità c.vive

Pcr convenzionale amplifica una specifica sequenza di DNA. Pcr real time sequenzia e rileva la quantità di dna presente simultaneamente

la PCR real time quantifica rispetto alla convenzionale

PCR real time è quantitativa, la PCR convenzionale è qualitativa

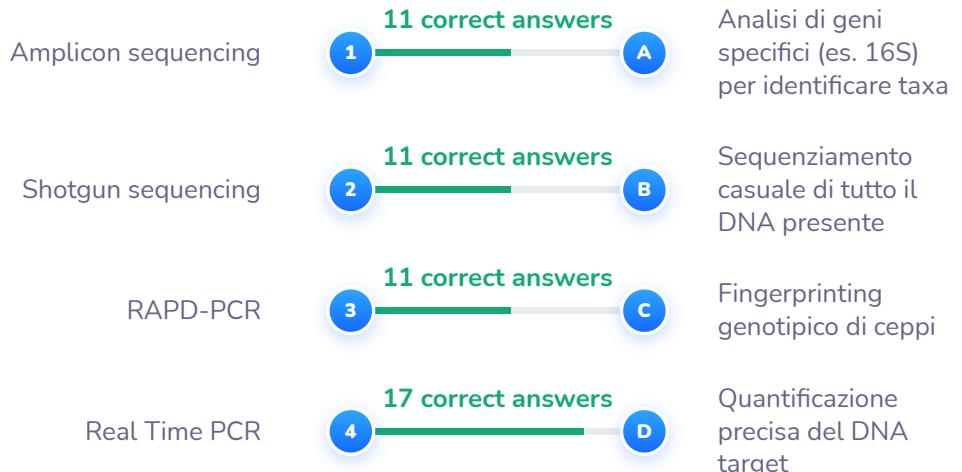
PCR convenzionale determina la qualità, PCR real time invece la quantità

La pcr dice solo cos'ho, la real time pcr anche quantifica



4. Abbina la tecnica alla sua caratteristica principale

20 respondents



- Durante l'analisi microbiologica di un alimento processato (es. alimento fermentato), ottieni valori molto più bassi con la conta su piastra rispetto alla quantità di DNA microbico rilevata con metodi molecolari. Spiega perché i risultati differiscono e cosa rappresentano le due misure**
- 5.

11 respondents

Se si utilizza il DNA per la Real-Time vengono conteggiati anche organismi non vitali o morti, cosa che non avviene in piastra

La conta su piastra ci dice la vitalità dei microrganismi, il metodo molecolare ci indica la presenza di tutti i microrganismi sia vivi che morti

Magari ho "perso" un po' di microrganismi nei vari passaggi della coltivazione su piastra, dall'altra parte la quantità del DNA rilevata con metodi molecolari non cambia anche se non sono più vitali i microrganismi

Perché il processamento industriale potrebbe danneggiare i microrganismi e si possono riscontrare difficoltà nell'elaborazione dei dati

Perché il DNA dell'alimento trasformato è denaturato a causa dei processi produttivi e quindi si hanno maggiori difficoltà a farlo crescere i piastra.

I risultati possono differire a causa della composizione del terreno di coltura, in piastra può essere complesso replicare fedelmente le condizioni ideali di crescita.

la conta su piastra tiene conto solo degli organismi vivi e non quelli morti, poi alcune cellule con questa analisi possono non sopravvivere o non moltiplicarsi. analisi molecolare invece dà fotografia immediata di alimento

evidentemente non tutte le cellule erano vitali

Le differenze tra la conta su piastra e la quantificazione del DNA microbico derivano dal fatto che le due tecniche misurano aspetti distinti della popolazione microbica. In breve, la conta su piastra rileva le cellule microbiche che sono vitali e capaci di riprodursi nelle condizioni di laboratorio, mentre i metodi molecolari quantificano il DNA, includendo sia le cellule vive che quelle non vitali o "vitali ma non coltivabili". Cosa misurano le due tecniche Conta su piastra (CFU/mL): Misura il numero di unità formanti colonia (CFU) per millilitro o grammo di campione. Rileva solo le cellule microbiche che sono vitali e che crescono e si riproducono in un terreno di coltura specifico, formando una colonia visibile. È un indicatore del numero di microrganismi metabolicamente attivi e in grado di proliferare in determinate condizioni. Metodi molecolari (es. qPCR): Misurano la quantità totale di DNA microbico presente nel campione, espressa in copie di gene bersaglio o altre unità. Rilevano il DNA proveniente da tutte le cellule microbiche, comprese quelle morte o non vitali, a meno che il DNA non sia stato degradato. Forniscono una stima della biomassa microbica complessiva. Perché i risultati differiscono i risultati discordanti si spiegano con la presenza di microrganismi che non vengono rilevati dalla conta su piastra ma il cui DNA è comunque presente nel campione. Questo fenomeno è particolarmente rilevante negli alimenti processati, come quelli fermentati, dove le condizioni di lavorazione e conservazione possono stressare i microrganismi. Le principali cause della discrepanza sono: Cellule vitali ma non coltivabili (VBNC): Questo è un fattore cruciale, specialmente negli alimenti fermentati. Le condizioni ambientali stressanti (come variazioni di temperatura, pH, disponibilità di nutrienti o presenza di composti antimicrobici) possono indurre i microrganismi a entrare in uno stato di dormienza, o VBNC. In

questo stato: La cellula rimane vitale e metabolicamente attiva ma non è in grado di dividersi e formare una colonia su un terreno di coltura standard. I metodi molecolari continueranno a rilevare il loro DNA, mentre la conta su piastra fornirà un risultato molto basso.

Perché successivamente alle varie trasformazioni i microrganismi potrebbero essere stati danneggiati con conseguente difficoltà a essere coltivati in piastra, cosa che viene aggirata con i metodi molecolari

la real time pcr tiene conto anche dei microrganismi non coltivabili



- 6. Un prodotto pronto all'uso è analizzato subito dopo il confezionamento e dopo 7 giorni di conservazione refrigerata. L'alpha diversity diminuisce nettamente, mentre la beta diversity mostra che i campioni finali sono più simili tra loro**

15 answers

1**Cosa implica la diminuzione di alpha diversity nel tempo?**

Il campione ha un tipo di microrganisma che tende a competere efficacemente nei confronti degli altri

Che qualche microrganismo non è più presente nel campione

L'alfa diversity diminuisce perché alcuni microrganismi non sopravvivono a temperatura bassa

significa che la diversità dei microrganismi nel campione è diminuita

La alpha diversità diminuisce per il numero di specie di microrganismi diversi nel prodotto diminuisce dopo 7 giorni.

Perché le varie reazioni si stabilizzano arrivando ad avere un equilibrio e si ha perdita di certi microrganismi per le condizioni avverse

implica una perdita di diversità nelle specie. Può essere dettata da stress ambientali

L'alfa diversità diminuisce perché si ha una selezione degli organismi che non riescono a vivere a temperature basse ottenendo solo quelli che ci interessano

2 Perché la beta diversity si riduce?

Perché il microrganismo efficiente è lo stesso in tutti i campioni

La beta diversità diminuisce perché tra i due campioni perché i numeri di microrganismi diversi trw i due prodotti diminuiscono

Data la stabilizzazione all'interno del campione si ha il raggiungimento di un equilibrio anche se confronto diverse confezioni

si riduce perché diminuisce la quantità di specie differenti presenti nei due campioni

microrganismi simili tra loro sopravvivono a certe temperature

La diversità tra i diversi campioni si è diminuita e avranno poche specie microbiche ma le stesse

significa che la diversità dei microrganismi tra i diversi campioni è diminuita

7. **Immagina di aver sequenziato il DNA di una complessa comunità microbica es. salame fermentato. Quali informazioni puoi ottenere dall'analisi shotgun?**

13 respondents

Permette di analizzare il microbioma, quindi dà informazioni sia sui microrganismi presenti che sulle loro vie metaboliche e le molecole che producono

si possono ottenere informazioni sulle specie batteriche nel campione e i loro geni

si possono ottenere informazioni sulla composizione e le funzioni della comunità microbica

Riesco a creare il profilo tassonomico dei microrganismi e sapere la loro attività metabolica

Possiamo determinare la composizione tassonomica della comunità, l'attività di essa e può anche essere usata per ricostruire il genoma

Si possono creare tabelle per valutare la composizione del microbioma

Informazioni sul genoma di tutto il microbiota che popola il campione, richiede complessi sistemi di sequenziamento per "riordinare" le informazioni

Ricaviamo il profiling tassonomico che ne identifica la specie , dall'analisi si rilevano i geni di interesse.

Si riesce a risalire alla sequenza completa sequenziando il tutto in molti frammenti che vengono poi messi nel giusto ordine per complementarietà

posso ricostruirne il genoma e capire la funzione di determinati geni

ottengo tutti i diversi profili della comunità microbica e posso individuare anche loro genoma completo e vie metaboliche da questi svolte.

Possiamo ottenere all'interno del genoma la posizione di uno specifico gene che esegue una specifica funzione

Se a fine fermentazione sono presenti i batteri che sono stati inseriti all'inizio per la fermentazione