

# BATTERIOLOGIA SPECIALE DEGLI ALIMENTI



## Ecologia microbica degli alimenti

Gli alimenti sono ecosistemi complessi.

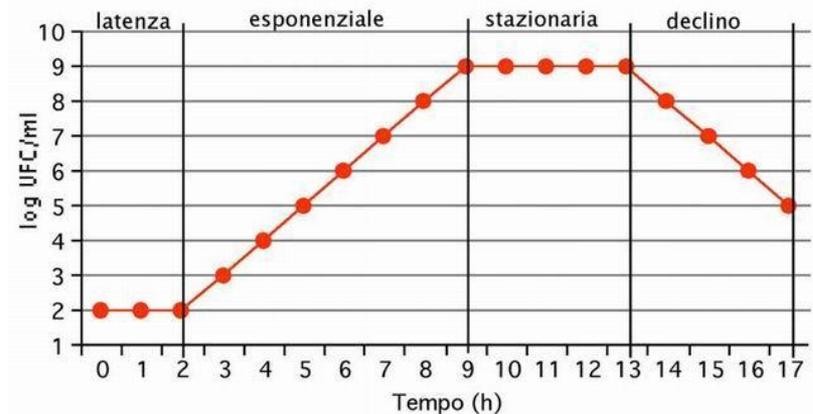
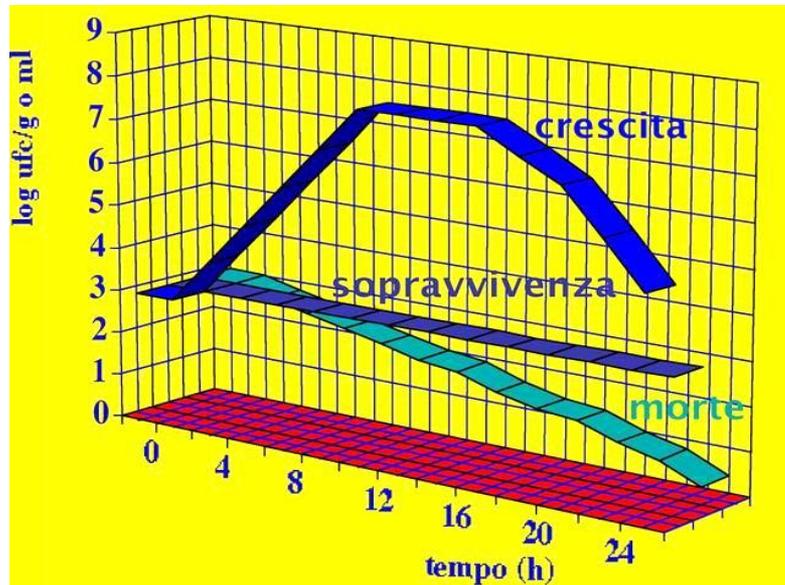
Gli ecosistemi sono costituiti dall'ambiente e dagli organismi che vivono in esso. Quando sono colonizzati da microrganismi, gli alimenti costituiscono degli ecosistemi ben definiti, la cui complessità è determinata dalle interazioni tra i fattori ambientali intrinseci ed estrinseci dell'alimento stesso. Le popolazioni microbiche inizialmente presenti nell'alimento, sotto l'azione selettiva dei determinanti ecologici, subiscono delle modificazioni della loro struttura comunitaria.

<b>ECOLOGIA MICROBICA DEGLI ALIMENTI</b>	
Studio delle interazioni tra le caratteristiche chimiche, fisiche e strutturali di una nicchia e la composizione della sua popolazione specifica (Mossel & Stujk, 1992)	
<b>HABITAT</b>	Insieme delle caratteristiche abiotiche che contraddistinguono un certo ambiente
<b>NICCHIA</b>	Comunità biologica dotata di una propria attività metabolica che si sviluppa all'interno di un habitat ben definito
<b>POPOLAZIONE MICROBICA</b>	Gruppi di individui della stessa specie o genotipo in un'area ben definita
<b>COMUNITÀ MICROBICA</b>	Insieme di popolazioni di un dato habitat

Gli alimenti sono degli ecosistemi dinamici ed eterogenei. La comunità microbica iniziale, determinata dalle fonti di contaminazione primaria, può essere sostituita da nuove comunità microbiche in funzione dei fattori intrinseci, estrinseci, tecnologici ed impliciti che ricorrono durante i processi di produzione e di conservazione.

Nel corso della produzione, trasformazione, trasporto, conservazione e consumo di un alimento, i microrganismi che lo contaminano possono crescere, sopravvivere o morire in funzione dell'azione esercitata da una serie di fattori ecologici.

Quando le condizioni ecologiche dell'alimento sono favorevoli, i microrganismi si moltiplicano, aumentando come numero



I fattori ecologici che influenzano il comportamento dei microrganismi negli alimenti, e quindi il destino della comunità microbica inizialmente presente, vengono classificati in quattro gruppi principali:

<b>INTRINSECI</b>	$a_w$	pH	Potenziale redox	Nutrienti Strutture	Antimicrobici
<b>ESTRINSECI</b>	Temperatura	Umidità	Composizione gassosa dell'atmosfera		
<b>IMPLICITI</b>	Sinergismo	Antagonismo	Tasso di crescita		
<b>PROCESSO</b>	Modificazioni della composizione della microflora come conseguenza dei trattamenti tecnologici applicati: calore, sostanze chimiche, ecc.				

## FATTORI ECOLOGICI INTRINSECI

La colonizzazione di un alimento da parte di batteri, siano essi patogeni o alterativi, così come protecnologici, dipende strettamente dalle condizioni ecologiche che si realizzano nell'alimento stesso.

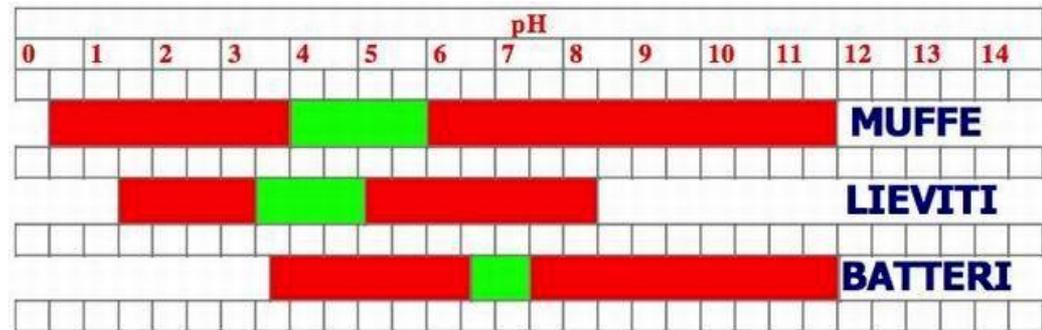
Attività dell'acqua ( $a_w$ ): disponibilità (soluti)

pH

Potenziale redox

Strutture e nutrienti

Antimicrobici



Più ossidato è un substrato maggiormente positivo è il suo Eh (potenziale ossido-riduzione); più ridotto è un substrato maggiormente negativo è il suo Eh.

Omogeneizzazione: la miscelazione di materie prime in presenza di aria aumenta il loro Eh (latte durante la produzione e l'imbottigliamento).

Macinazione: la macinazione aumenta la superficie di esposizione dell'alimento all'aria aumentandone il suo Eh. La carne macinata presenta un Eh di + 200 mV comparata con la carne della carcassa (Eh da -150 a -200 mV).

Trattamenti termici: il riscaldamento scaccia l'ossigeno determinando una riduzione dell'Eh (per es. gli alimenti in scatola hanno Eh negativo).

Presenza naturale di sostanze riducenti

Acido ascorbico in vegetali e frutta

Zuccheri riduttori in frutta

Gruppi -SH associati alle proteine della carne

<b>ALIMENTI</b>	<b>Eh (mV)</b>
Uovo (non fecondato)	+500
Succo d'uva	+409
Latte	da +200 a +340
Formaggi	da -20 a -200
Burro	da +290 a +350
Carne in scatola	da -20 a -150
Alimenti di origine vegetale	da 300 a 400
Carni intere (esterno)	+200
Carni intere (interno)	-200
Carne tritata	+200
Fegato	-200

I tessuti in vita (animali e vegetali) tendenzialmente hanno un Eh negativo come conseguenza della loro attività respiratoria.

Alcuni alimenti sono provvisti di strutture esterne che rappresentano una barriera efficace contro la penetrazione dei microrganismi proteggendoli dalle alterazioni:

Pelle degli animali

Cuticola della frutta

Guscio di noci

Guscio dell'uovo

**La raccolta, la macellazione e i trattamenti tecnologici a cui sono sottoposte le materie prime diminuiscono o eliminano l'efficacia di queste barriere**

## Costituenti antimicrobici degli alimenti

<b>Sostanza</b>	<b>Alimento</b>	<b>Microrganismi/Azione</b>
<b>Lisozima</b>	<b>uova e latte</b>	<b>Batteri/Idrolizza la parete cellulare</b>
<b>Oli essenziali</b> <b>Eugenolo</b> <b>Timolo</b> <b>Carvacrolo</b>	<b>Diversi vegetali</b> <b>(Chiodi di garofano, timo, origano ecc.)</b>	<b>Batteri e muffe/azione sulle membrane biologiche</b>
<b>Acido idrossicinnamico e derivati</b> <b>(p-cumarico, ferulico, caffeico, clorogenico)</b>	<b>Frutta Vegetali</b> <b>Te</b>	<b>Batteri e funghi</b>
<b>Lattoferrina</b>	<b>Latte</b>	<b>Soprattutto batteri</b>
<b>Sistema lattoperossidasi</b> <b>- lattoperossidasi</b> <b>- tiocianato</b> <b>- acqua ossigenata</b>	<b>Latte</b>	<b>Soprattutto batteri gram-negativi.</b> <b>Tutti e tre i componenti devono essere presenti per avere l'effetto antimicrobico.</b> <b>Il target è rappresentato dalla membrana citoplasmatica.</b>

## FATTORI ECOLOGICI ESTRINSECI

Sono l'espressione delle condizioni dell'ambiente in cui è conservato l'alimento.

Temperatura

Umidità

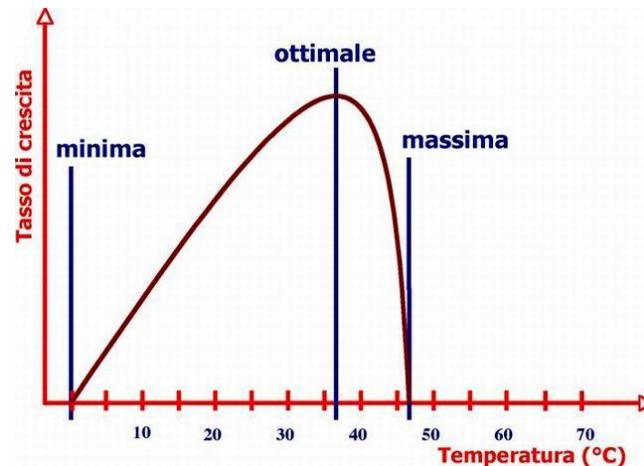
Tenore dei gas dell'atmosfera dell'ambiente di conservazione ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$ )

Ogni microrganismo presenta un intervallo di temperature entro cui può crescere, determinato dalla temperatura alla quale sia gli enzimi che la membrana possono svolgere le proprie funzioni.

Minima: al di sotto non vi è più crescita in quanto le proprietà della membrana sono alterate non consentendo più il trasporto dei materiali all'interno della cellula.

Ottimale: massimo tasso di crescita.

Massima: al di sopra non vi è più crescita in quanto gli enzimi sono denaturati. Anche proteine e lipidi di membrana sono danneggiati.



# Controllo dei microrganismi con la temperatura

## Conservazione refrigerata

Conservazione degli alimenti a temperature comprese tra  $-1-0^{\circ}\text{C}$  fino a  $5-10^{\circ}\text{C}$ . Le basse temperature determinano un allungamento della fase lag e una riduzione del tasso di crescita dei batteri psicotrofi e allo stesso tempo inibiscono la crescita dei mesofili, allungando la vita di conservazione degli alimenti.

I tempi di conservazione dipendono da una serie di fattori, tra i quali sono determinanti il livello iniziale di contaminazione, soprattutto di psicotrofi, la natura dell'alimento e l'impiego combinato con altre tecnologie di conservazione (trattamenti preliminari dell'alimento come lavaggio e scottatura; atmosfera protettiva, ecc).

Abbassamento della temperatura dell'alimento a valori di  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Al di sotto nessun microrganismo è in grado di moltiplicarsi.

Il congelamento determina un abbassamento dell'attività dell'acqua (a  $-18^{\circ}\text{C}$   $a_w=0,841$ ) e una concentrazione dei solidi disciolti, che influenzano l'attività dei microrganismi.

Durante il congelamento di un alimento, una parte della popolazione microbica subisce danni irreversibili.

La resistenza dei microrganismi al processo dipende:

batteri Gram-negativi più sensibili dei Gram-positivi

spore sono altamente resistenti

cellule più sensibili in fase attiva di crescita

velocità di congelamento: maggiore è la velocità di congelamento ( $18^{\circ}\text{C}$  in meno di 30 min) minore è il danno cellulare

## **Alte temperature**

I trattamenti termici devono conciliare due obiettivi, ovvero ridurre le popolazioni microbiche a livelli accettabili (patogeni e/o alterativi) e allo stesso tempo mantenere quanto più inalterate possibili le caratteristiche organolettiche dell'alimento.

In base alla temperatura e alla durata del trattamento possiamo distinguere diversi trattamenti termici:

**Scottatura o blanching:** sono trattamenti (a circa 100°C) che hanno lo scopo principale di inattivare enzimi e ridurre la maggior parte dei microrganismi che contaminano la superficie degli alimenti

**Termizzazione:** trattamento termico effettuato a temperature di 60-65°C per pochi secondi, con l'obiettivo di abbassare il numero di microrganismi contaminanti un alimento. Questi trattamenti non assicurano il completo risanamento igienico del latte e dunque non sostituiscono i trattamenti di pastorizzazione

**Pastorizzazione:** trattamento termico, a temperature comprese tra 60 e 80°C, con l'obiettivo di risanare igienicamente un alimento.

Pastorizzazione del latte: 72°C per 15s (High temperature short time: HTST).  
Obiettivo: eliminazione di tutte le forme vegetative dei patogeni non sporigeni.  
Coppie tempo/temperatura stabilite sulla base della eliminazione delle forme vegetative dei patogeni più termoresistenti, quali *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* spp., *Brucella* e *Coxiella burnetti*. Al trattamento resistono spore batteriche e batteri termodurici, come *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus* spp. e *Micrococcus* spp.

pastorizzazione uova liquide: 64,4°C per 2,5 sec.

creme di latte: 80°C per 15 sec; 71°C per 10 min.

succhi di frutta: 65°C per 30 min.

**Sterilizzazione (commerciale):** trattamenti effettuati a temperature superiori ai 100°C con l'obiettivo di eliminare sia le forme vegetative che le spore di patogeni e alterativi.

latte UHT (Ultra High Temperature): 138-142°C per 2-3 sec.

conserve a bassa acidità (pH>4,5): 121°C per almeno 2,5 min. Obiettivo: 12 riduzioni decimali (12D) delle spore di *Clostridium botulinum*.

Per progettare un processo di trattamento termico con combinazioni tempo/temperatura efficaci a raggiungere gli obiettivi tecnologici prefissati, è di fondamentale importanza conoscere l'effetto del calore sui microrganismi.

## **Umidità dell'ambiente che circonda l'alimento**

L'umidità dell'ambiente di conservazione di un alimento influenza lo sviluppo microbico:

influenza l'attività dell'acqua dell'alimento

favorisce lo sviluppo superficiale dei microrganismi

Gli alimenti con bassa attività dell'acqua vanno conservati in ambienti con bassa UR in quanto tendono ad assorbire acqua fino a quando non è raggiunto l'equilibrio.

Le alterazioni superficiali a cui vanno incontro alcuni alimenti vengono accelerate in ambienti molto umidi.

Per contro, gli alimenti in ambienti molto secchi tendono a perdere acqua, con una alterazione delle loro caratteristiche organolettiche al punto da risultare indesiderati per il consumo.

## **Atmosfera gassosa dell'ambiente che circonda l'alimento**

La composizione e la concentrazione dei gas dell'ambiente di conservazione di un alimento influenza lo sviluppo microbico.

Gli alimenti possono essere conservati in:

Atmosfera aerobica: composizione dell'aria

Atmosfera modificata: sostituzione dell'aria della confezione con concentrazioni note di ossigeno e anidride carbonica

Sotto vuoto: assenza di gas

I vari gas possono influenzare in modo diverso il comportamento dei microrganismi. La CO<sub>2</sub> a concentrazioni elevate è tossica per i microrganismi. L'assenza di gas in una confezione rallenta notevolmente lo sviluppo microbico, soprattutto a basse temperature.

La conservazione in ATMOSFERA MODIFICATA consente l'allungamento della shelf life di molti alimenti (carne, vegetali, ecc.).

## Fattori ecologici impliciti

Sono l'espressione dei fenomeni di interazione che si instaurano tra le diverse popolazioni microbiche che colonizzano un alimento.

I microrganismi durante la loro crescita negli alimenti, possono influenzarsi a vicenda attraverso fenomeni di competizione, mutualismo, commensalismo e amensalismo.

Neutralismo: quando due microrganismi non si influenzano mai vicendevolmente.

Commensalismo: l'interazione tra due microrganismi in cui uno dei due produce metaboliti che sono utili per la crescita dell'altro, che se ne avvantaggia.

Amensalismo: quando nell'associazione tra due microrganismi, uno produce metaboliti che sono dannosi per l'altro, senza trarne vantaggi diretti. Ad es. produzione di batteriocine da parte di batteri lattici che inibiscono lo sviluppo di altri batteri.

## **Alterazioni microbiche**

Mutualismo: quando entrambi i componenti dell'associazione ricavano vantaggi. Ad es. l'associazione tra *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* nello yogurt.

Competizione: tipo di interazione più frequente tra i microrganismi; due microrganismi che condividono la stessa nicchia ecologica possono competere per gli stessi nutrienti o per lo stesso spazio, ed entrambi sono danneggiati dalla presenza dell'altro componente della comunità. I microrganismi con tasso di crescita più elevato in definite condizioni ecologiche, normalmente diventano la microflora dominante.

L'esistenza dei fenomeni di interazione microbica, concorre in molti casi al controllo dello sviluppo di microrganismi indesiderati, sia alterativi che patogeni.

## **Microrganismi marker**

La sicurezza e la qualità microbiologica di un alimento è determinata dall'assenza di microrganismi patogeni e/o delle loro tossine e dal livello di microrganismi alterativi.

Il numero e i tipi di microrganismi presenti in un alimento possono essere usati per giudicare la qualità e la sicurezza microbiologica del prodotto.

In generale non è praticabile analizzare ogni alimento per la presenza di microrganismi indesiderati, siano essi patogeni che alterativi.

Nella realtà analitica per accertare sia la qualità microbiologica che la sicurezza di un alimento si fa ricorso alla ricerca di organismi in grado di indicare una situazione potenzialmente pericolosa: **microrganismi marker**.

## **Indicatori della qualità microbiologica**

Utili per valutare la qualità del prodotto: indicazioni sulla idoneità delle condizioni di processo.

Utili per predire la shelf life del prodotto: avere indicazioni sulle condizioni di conservazione.

Indicatori ideali dovrebbero avere i seguenti requisiti:

essere presenti e rivelabili in tutti gli alimenti di cui si vuole accertare la qualità  
la loro crescita e il loro numero dovrebbe essere correlato negativamente con la qualità del prodotto

essere facilmente rivelati e numerati e chiaramente distinguibili da altri microrganismi;  
essere contati in tempi brevi

la loro crescita non dovrebbe essere influenzata negativamente da altri componenti la microflora

# MICRORGANISMI INDICATORI DI TIPICITA'

## ⇒ Naturalmente presenti

- Latto e sieroinnesti naturali (Crescenza, Fontina, Emmenthal, Grana, Provolone)
- Batteri lattici delle fermentazioni naturali di vegetali e salumi
- Batteri acetici (madre aceto)

## ⇒ Selezionati

- Colture da yogurt
- Colture da burro
- Ceppi per formaggi erborinati
- Lieviti per vinificazione e panificazione
- Ceppi per salami

I gruppi principalmente impiegati sono:

Microrganismi aerobi totali: qualità alimento

Enterobacteriaceae: trattamento

Leviti e Muffe: problema in prodotti caseari fermentati, pane, frutta, succhi di frutta e vegetali

## **Indicatori sicurezza biologica**

I più comuni microrganismi indicatori sono:

*Coliformi ed Escherichia coli*

*Streptococchi fecali*

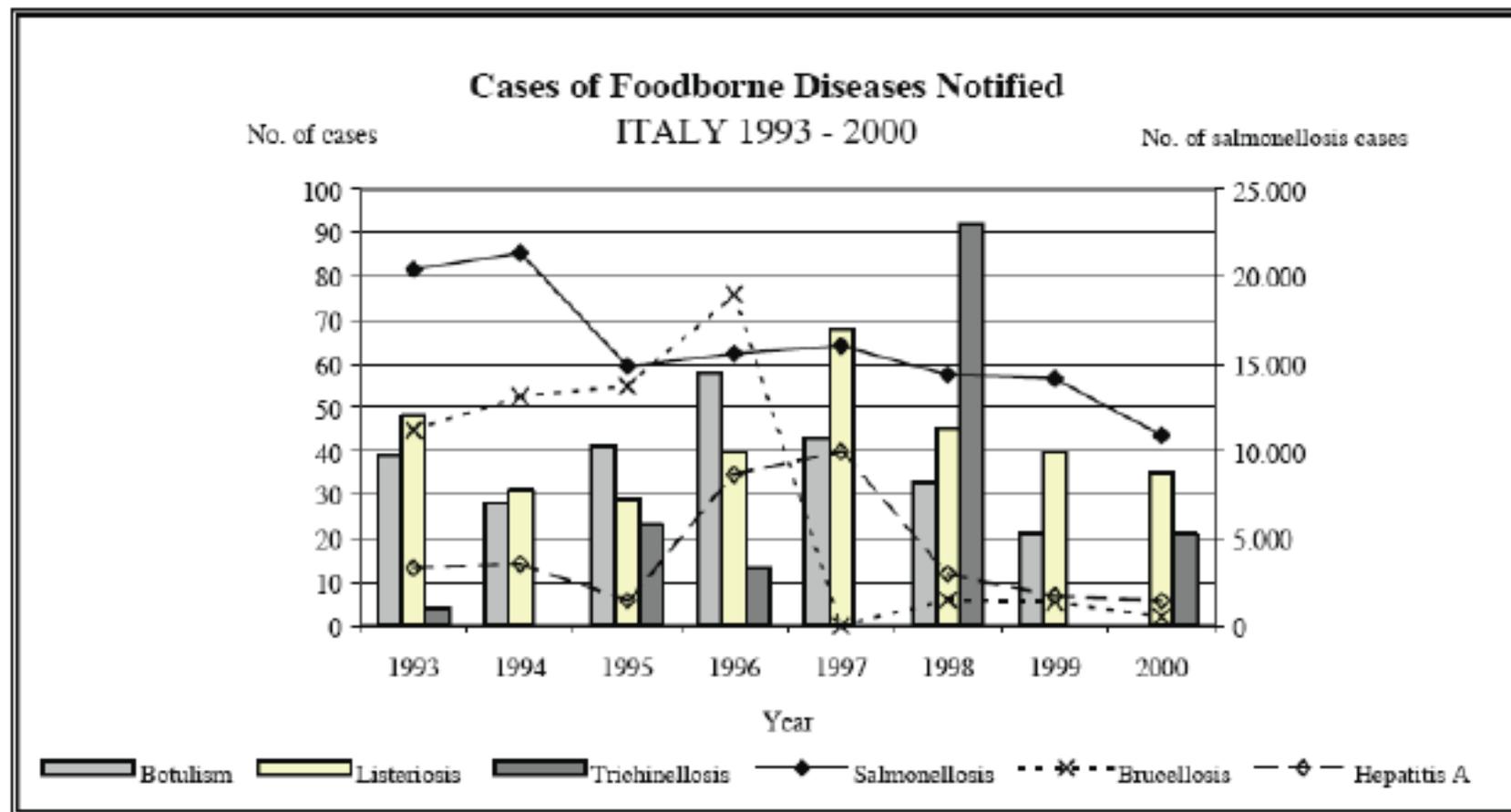
*Clostridi Solfito Riduttori*

Un fattore di rischio è un agente biologico, chimico o particellare avente la potenzialità di causare un danno alla salute del consumatore

(da Peri *et al.*, 1997)

# Casi di malattie veicolate da alimenti in Italia (1993-2000)

Figure IT 2



WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe 8th Report 1999-2000 Country Reports: *ITALY*

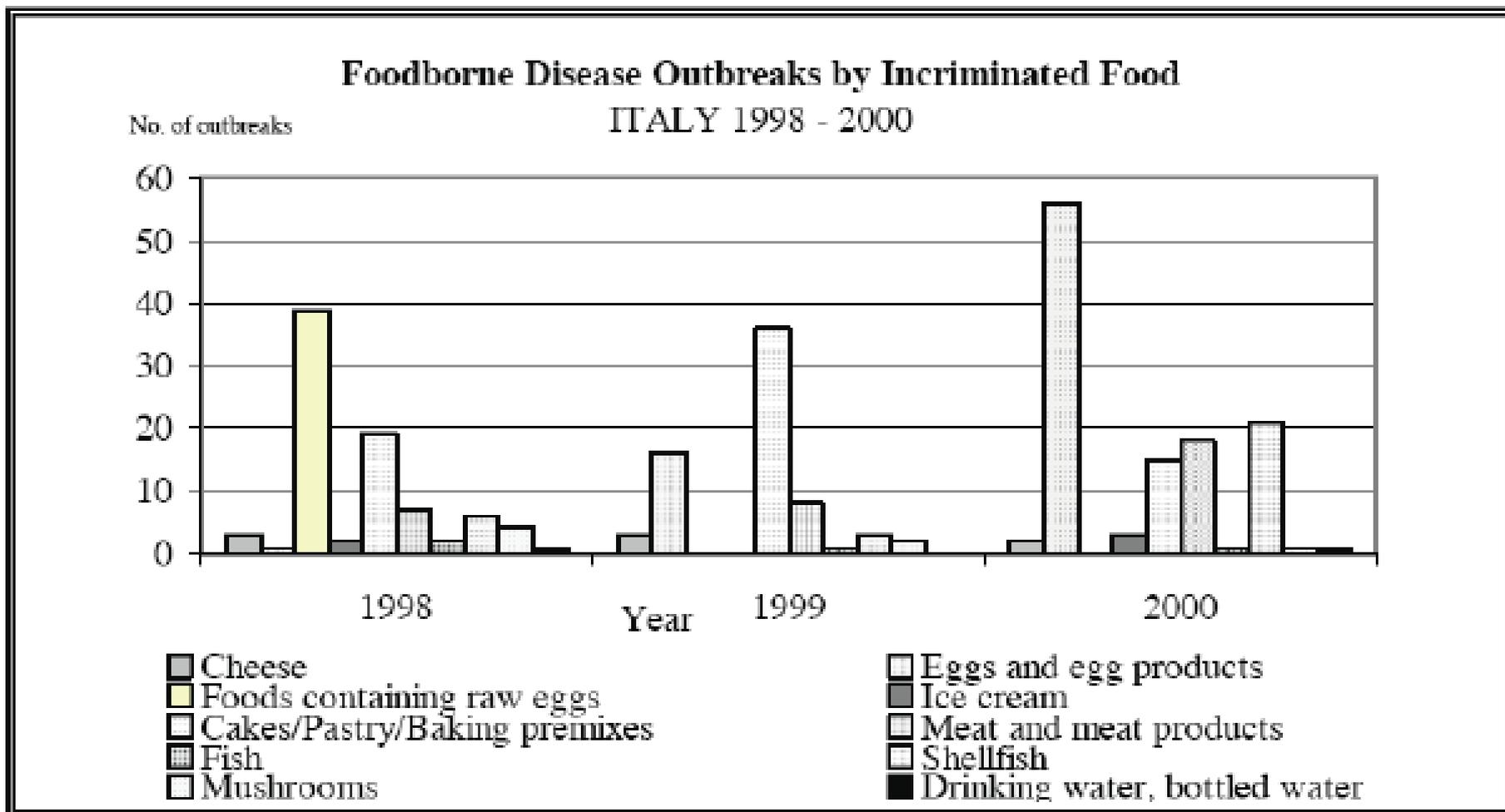
# Episodi epidemici di malattie veicolate da alimenti in Italia (1999-2000)

Table IT 5

## Foodborne disease outbreaks investigated by place of contamination ITALY 1999-2000

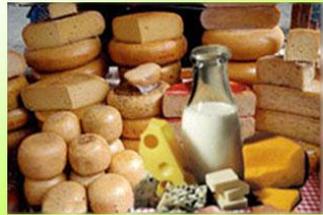
Place of Contamination	1999		2000	
	No. of outbreaks	No. of cases in outbreaks	No. of outbreaks	No. of cases in outbreaks
Camping	3	83	0	0
Church	0	0	1	2
Medical care facility	5	53	5	86
Private home	169	614	204	785
Restaurant/hotel	13	142	24	328
School/kindergarten	20	323	9	157
Other	68	1165	63	1074
<b>Total</b>	<b>278</b>	<b>2380</b>	<b>306</b>	<b>2432</b>

Figure IT 5





# HACCP



Farmacie, operatori nel campo della ristorazione, bar/pasticcerie, rivendite alimentari e ortofrutta, salumerie, gastronomie, macelli, macellerie, pescherie, panifici, case di riposo, scuole, mense, comunità in cui si somministrano alimenti... in pratica, tutti coloro che sono interessati alla produzione primaria di un alimento (raccolta, mungitura, allevamento), la sua preparazione, trasformazione, fabbricazione, confezionamento, deposito, trasporto, distribuzione, manipolazione, vendita o fornitura, compresa la somministrazione al consumatore.

Nel 2006 il sistema HACCP è stato reso obbligatorio anche per le aziende che hanno a che fare con i mangimi per gli animali destinati alla produzione di alimenti (produzione delle materie prime, miscele, additivi, vendita, somministra

## Hazard Analysis and Critical Control Points

Sistema di autocontrollo che obbliga qualunque operatore che opera nella produzione e somministrazione di prodotti alimentari a redigere il piano di sicurezza al fine di stimare e valutare possibili rischi di problemi igienici e sanitari in modo da prevenire l'insorgere di emergenze sanitarie.

L'Analisi dei Rischi per il Controllo dei Punti Critici (HACCP) è un sistema di controllo strutturato a fasi che permette di implementare il controllo nel settore alimentare secondo un metodo del Do and Check (Fai e controlla).

Una volta analizzata la situazione di rischio mediante uno screening del luogo, è automatico determinare i punti critici. A questo punto si possono stabilire i limiti critici e prevedere un monitoraggio. Qualora i dati del monitoraggio indicassero un superamento di tali limiti, si devono prevedere le adeguate azioni correttive per far rientrare l'allarme.

## **Malattia alimentare**

Forma patologica conseguente il consumo di alimenti contenenti microrganismi e/o loro prodotti metabolici

- Intossicazione
- Infezione
- Tossinfezione

## **Malattia emergente**

Malattia provocata da agenti infettanti identificati solo di recente responsabili di problemi alla salute pubblica sia a livello locale che internazionale.

## **Malattia ri-emergente**

Malattia ben conosciuta e già debellata, ma ritornata attuale ed in graduale aumento.

## Infezione alimentare

Consumo di alimenti contaminati con microrganismi vivi e vitali, che una volta ingeriti nel lume intestinale si moltiplicano originando forme enterotossiche o enteroinvasive.

## Intossicazione alimentare

Consumo di alimenti contenenti tossine prodotte da microrganismi presenti sull'alimento prima del consumo

## Tossinfezione alimentare

Consumo di alimenti contenenti tossine e microrganismi. In questo caso la tossicità è data dalle tossine preformate sia da quelle prodotte all'interno dell'ospite, dalle cellule vive ingerite con l'alimento

## Infezioni alimentari

Micr. riconosciuti,  
patogeni

Salmonellosi

Shigellosi

Infezioni da *Vibrio*  
*parahaemolyticus*

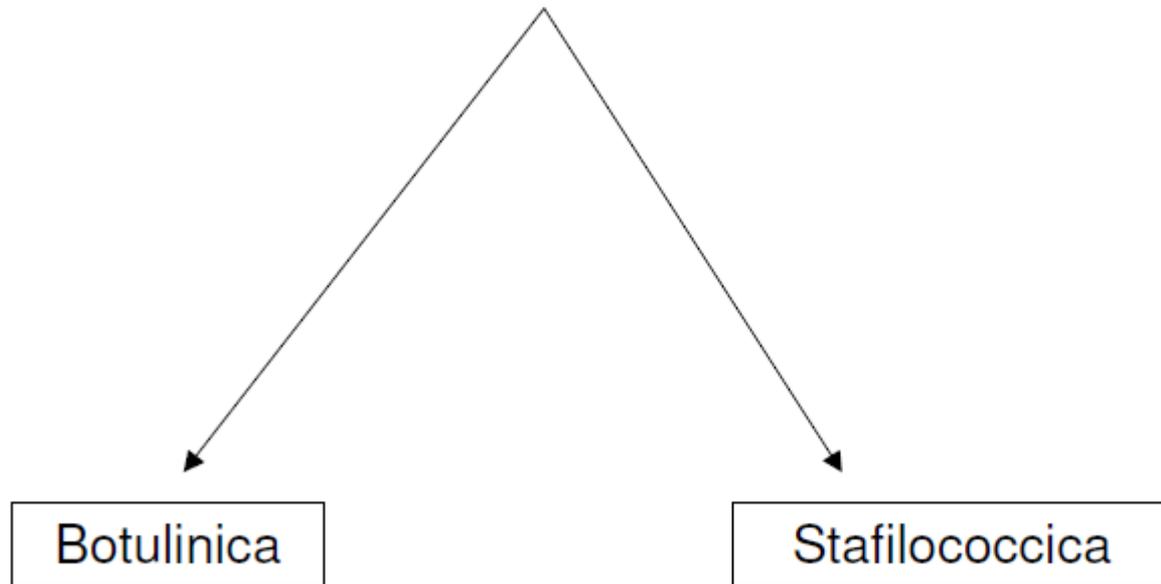
Gastroenteriti da  
*Campylobacter*, *Yersinia*  
*enterocolitica*,  
*Escherichia coli*,

*Brucellosi*

*Listeriosi*

*Virus*

## INTOSSICAZIONI BATTERICHE



# TOSSINFEZIONE

Ingestione sia di tossine che di batteri e spore

**Clostridium perfringens**

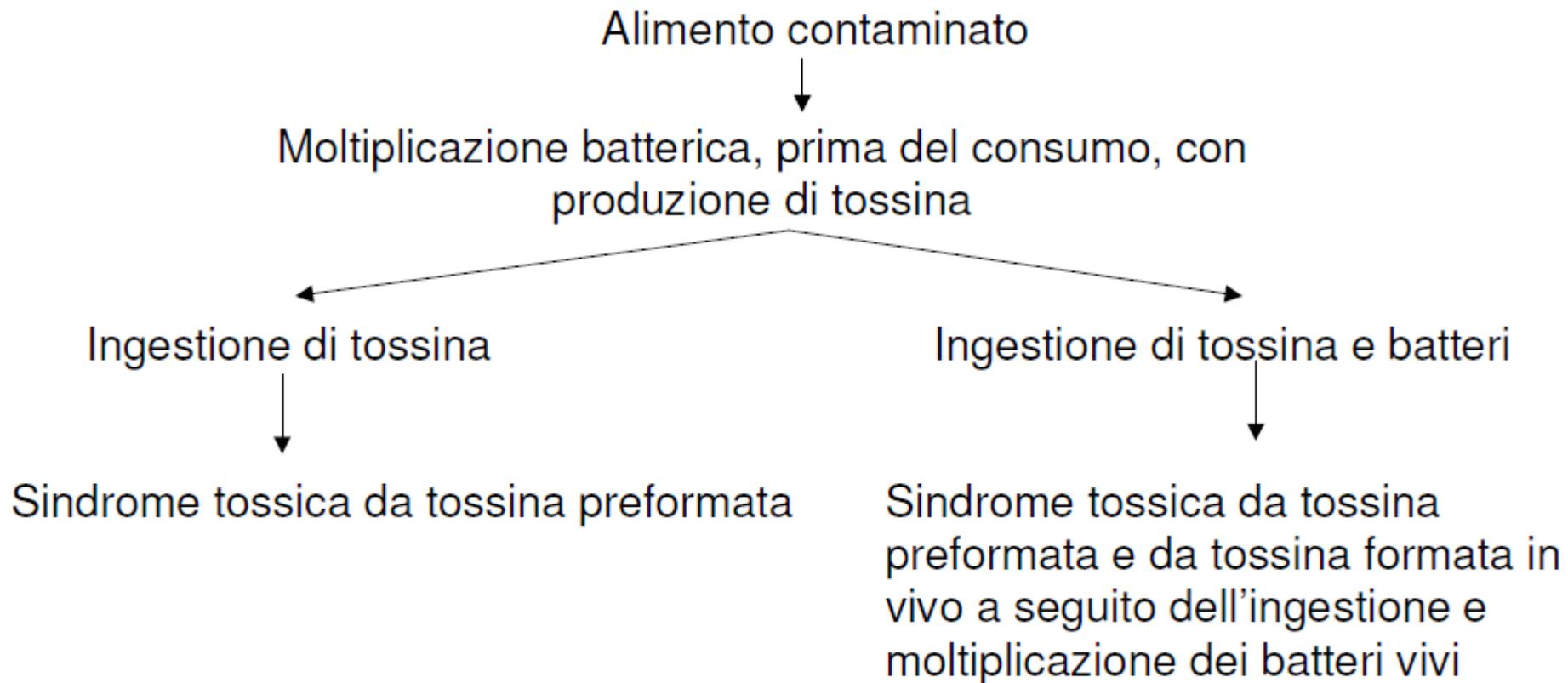
**Clostridium botulini**

**Clostridium difficile**

**Bacillus anthracis**

**Bacillus cereus**

# INTOSSICAZIONE



## **Intossicazione alimentare**

Sindrome da

Enterotossina stafilococcica

Esotossina botulinica

## **Tossinfezione alimentare**

Sindrome da

Tossina di *B.cereus*

Tossina di *Cl. perfringens*

Microrganismi presenti nel latte appartengono ai tre gruppi: **Alterativi, Patogeni e Utili** o protecnologici.

### **Microflora iniziale**

#### **Cocchi Gram-Positivi:**

*Micrococcus; Staphylococcus; Streptococcus; Enterococcus; Lactococcus;*

#### **Bastoncini Gram-Positivi:**

*Microbacterium; Corynebacterium; Arthrobacter; Kurthia; Lactobacillus;*

#### **Bastoncini Gram-Negativi:**

*Pseudomonas; Acinetobacter; Flavobacterium; Enterobacter; Klebsiella; Aerobacter; Escherichia; Serratia; Alcaligenes;*

**Sporigeni:** *Bacillus spp.; Clostridium spp.*

### **Lieviti e muffe**

<i>VIRALI</i>	<i>BATTERICHE</i>		<i>RICKETTSIE</i>
Infezione da adenovirus	Antrax	Diarree da <i>E. Coli</i>	Febbre Q
Infezione da enterovirus	Botulismo	<i>Cl. perfringens</i>	<i>PARASSITARIE</i>
Epatite virale A	Brucellosi	Difterite	Amebiasi
Encefalite	Cole ra	Leptosiro si	Giardiasi
	Listerio si	Salmonello si	Toxoplasmosi
	Febbre paratifoide	Shigellosi	Criptosporidiosi
	Intossicazioni da stafilococchi	Tubercolosi	
	Infezione da streptococchi		

# Popolazioni microbiche della carne

Grande varietà di specie: *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Enterobacteriaceae*, batteri lattici, *Brochothrix thermosphacta*, *Bacillus*, lieviti e muffe.

Le fasi successive di condizionamento delle carcasse (frollatura, taglio, conservazione finale della carne) possono modificare drasticamente quantità e tipologia di microrganismi in grado di crescere e determinare alterazioni.

La composizione di questa microflora può essere in larga misura predetta attraverso la comprensione di come i microrganismi si comportano nel “sistema carne” al variare del pH, della temperatura e dell’atmosfera di conservazione.

Solo il 10% dei batteri inizialmente presenti è in grado di crescere durante le fasi di conservazione refrigerata e di questi solo una parte è in grado di causare alterazioni.

Popolazioni batteriche che dominano durante la conservazione aerobica della carne sono rappresentate, in ordine decrescente, da specie del genere *Pseudomonas*, da *Brochothrix thermosphacta*, da membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae* da alcuni generi di batteri lattici.

Alcune specie risultano essere particolarmente adattate e specifiche della carne:

*Pseudomonas fragi*: alto tasso di crescita; rapida adesione alla superficie; utilizzazione di creatina e creatinina.

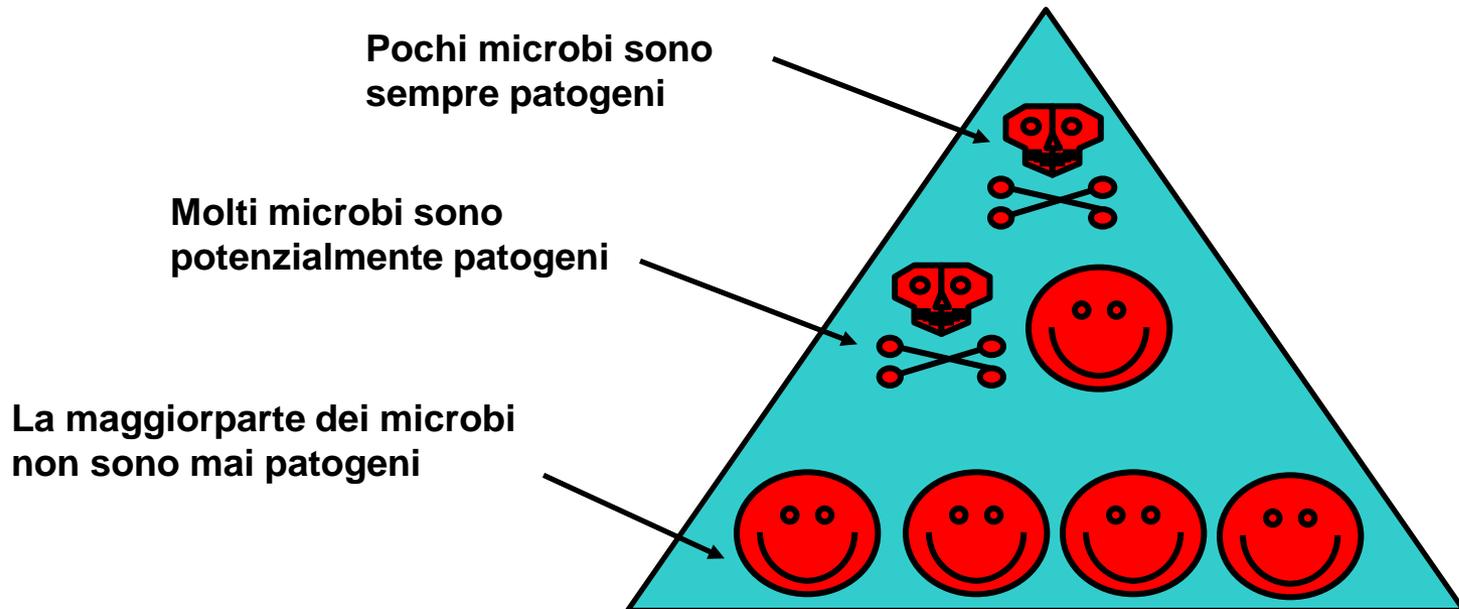
*P. fluorescens* e *P. lundensis*: alto tasso di crescita; rapida adesione alla superficie.

*Brochothrix thermosphacta*: isolato solo da carne.

# Non tutti i batteri causano malattia

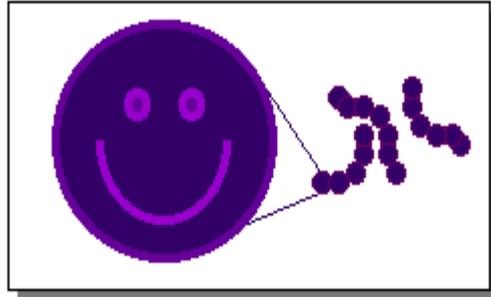
Normalmente si pensa che tutti i batteri diano delle malattie, ma non è vero. Anzi, molti batteri sono utili per la nostra salute.

Il terreno è ricco di batteri importantissimi per la biosfera (es. fissatori dell'azoto). Anche fra i batteri che causano malattie, pochi sono sempre patogeni. Alcuni lo sono soprattutto in individui immunocompromessi. Anche i batteri patogeni non sempre causano malattie.



# La Flora Microbica Normale

## The Normal Flora

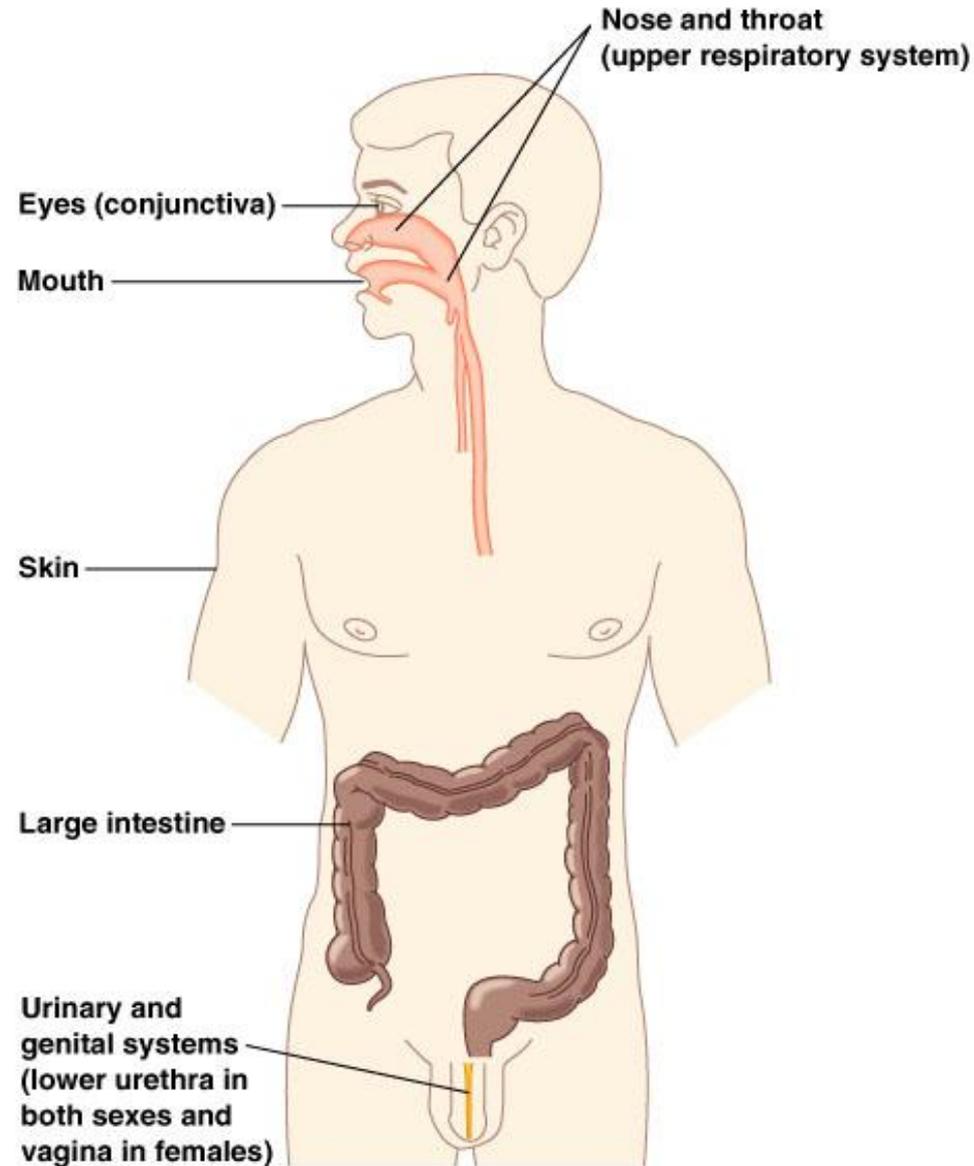


**Il nostro corpo è colonizzato da moltissimi batteri. Si stima che abbiamo più cellule batteriche ( $=10^{14}$ ) che cellule umane ( $=10^{13}$ ). Di solito questa flora batterica vive sulla pelle e nell'intestino. La composizione di questa flora varia da persona a persona. A volte questi batteri possono diventare patogeni se acquisiscono fattori di virulenza (es. Escherichia Coli) o se vengono introdotti in siti sterili (es. Stafilococco Aureo).**

# Flora microbica normale

**Microrganismi normalmente associati al tessuto sano.**

**Si trova soprattutto sulla pelle ( $\sim 2 \text{ m}^2$ ) e sulle mucose (epiteli esposti indirettamente all'ambiente esterno, es. bocca, tratto gastrointestinale, app. respiratorio, ecc.) ( $\sim 400 \text{ m}^2$ ).**



**Apparato tegumentario:** prevalenza di batteri aerobi o anaerobi facoltativi, costituiti da stafilococchi (*Staphylococcus (Gram+) epidermidis*, altri stafilococchi coagulasi negativi,

talora anche *Staphylococcus aureus*), corinebatteri. Presenza anche di anaerobi stretti, in particolare *Propionibacterium acnes*.

**Apparato respiratorio:** i distretti di norma sterili sono la laringe, la trachea, i bronchi e gli alveoli polmonari. I distretti non sterili sono:

A) Cavità orale, l'orofaringe ed il rinofaringe nella quale si ritrovano molte specie diverse di stafilococchi e di streptococchi (Gram +) alfa e non emolitici, *Neisseriae* (emofili,

actinomiceti, *Candida* prevalentemente della specie *albicans*, enterobatteri.

B) Fosse nasali: varie specie di stafilococchi e streptococchi, *Neisseriae*, emofili, corinebatteri.

**Apparato gastro-enterico:** i distretti sterili sono di norma l'esofago, lo stomaco, la maggior parte dell'intestino tenue, il peritoneo. I distretti non sterili sono:

A) Cavità orale.

B) Intestino crasso e parte terminale dell'ileo, in cui dominano i batteri anaerobi, quali *Bacteroides*, *Prevotella*, fusobatteri, clostridi, lattobacilli, eubatteri, cocchi gram positivi. Tra gli anaerobi facoltativi troviamo gli enterobatteri, varie specie di stafilococchi e streptococchi, enterococchi.

**Apparato genitale ed urinario:** i distretti sterili sono di norma tutti gli organi interni quali gli organi riproduttivi maschili e femminili, la vescica gli ureteri ed i reni. I distretti non sterili sono:

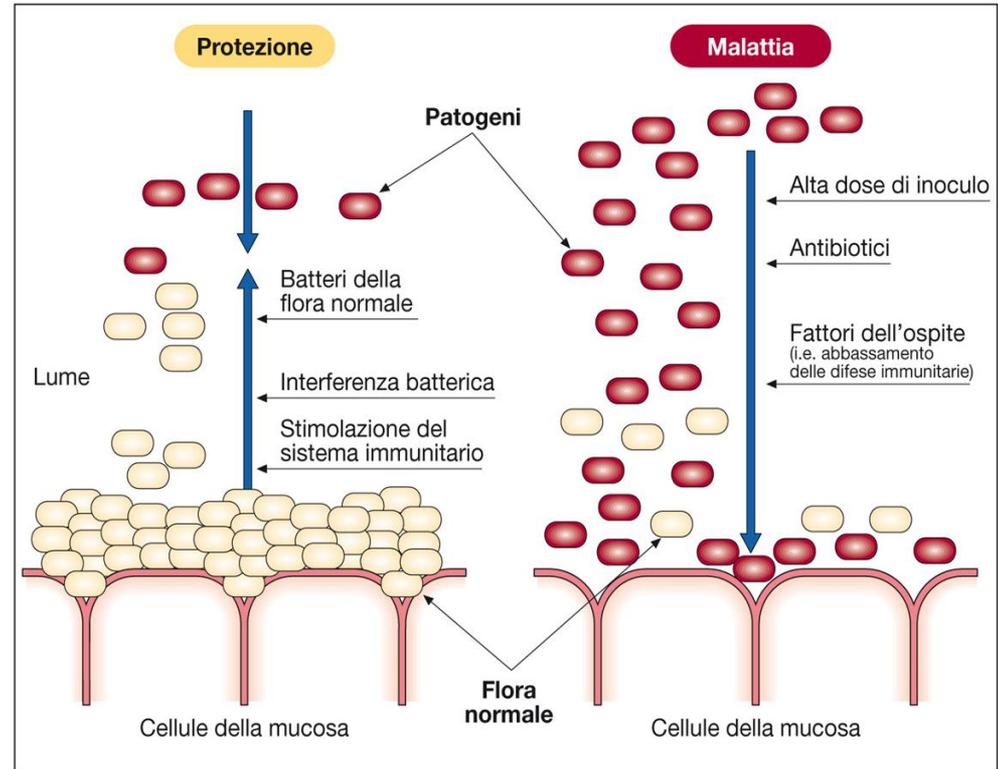
A) Genitali esterni maschili e femminili, in cui sono presenti varie specie di **stafilococchi e streptococchi**, cocchi anaerobi, anaerobi stretti quali *Mobiluncus* e *Bacteroides*, corinebatteri, talora enterobatteri. Nella vagina la flora batterica varia considerevolmente secondo l'età del soggetto: è simile a quella cutanea nella pre-pubertà e nella menopausa, è costituita prevalentemente da varie specie di **lattobacilli** durante l'età fertile.

B) Uretra: con gli stessi germi di cui sopra e con presenza di micoplasmi.

# Distribuzione della flora microbica normale

Non c'è negli organi interni, sangue, sistema linfatico; microrganismi in queste sedi indicano di solito una malattia in corso. Intestino = contiene un enorme numero di batteri (~ 1/3 delle feci).

La flora normale è utile: previene la colonizzazione da parte di organismi patogeni, è responsabile di molte reazioni metaboliche, produce sostanze essenziali (es. vitamina K prodotta nell'intestino).



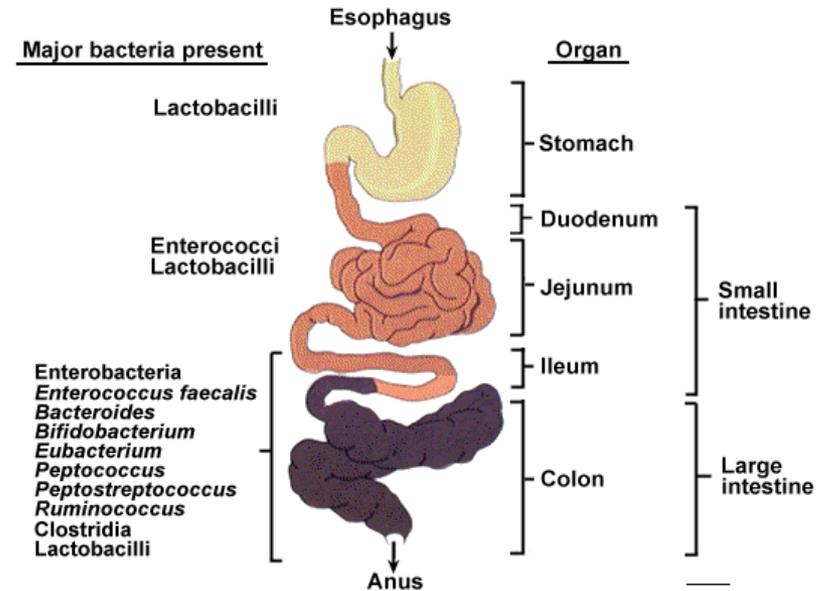
Gli antibiotici, oltre che i patogeni, inibiscono anche la flora normale → perdita dei batteri commensali → microrganismi opportunisti (es. *Stafilococco Aureo*, *Candida Albicans*) che normalmente non riescono a competere con la flora normale, possono crescere e dare malattie.

# Flora microbica normale



Coltura da un tampone fatto su pelle sana

N.B. QUASI TUTTI I MICRORGANISMI POSSONO ESSERE TRASPORTATI TRANSITORIAMENTE CON LE MANI, ANCHE SE NON FANNO PARTE DELLA FLORA MICROBICA NORMALE DELLA PELLE.



Flora microbica normale del tratto digerente

# **I PROBIOTICI**

**“a favore della vita”**

# Intestino

~ 9 metri -> Tenue 7m

-> Crasso 1,65m

2,5Kg flora batterica: tappezza il tubo digerente in diverse concentrazioni (miliardi di colonie) dalla cavità orale fino al retto e vagina, poco presente nell'esofago e stomaco

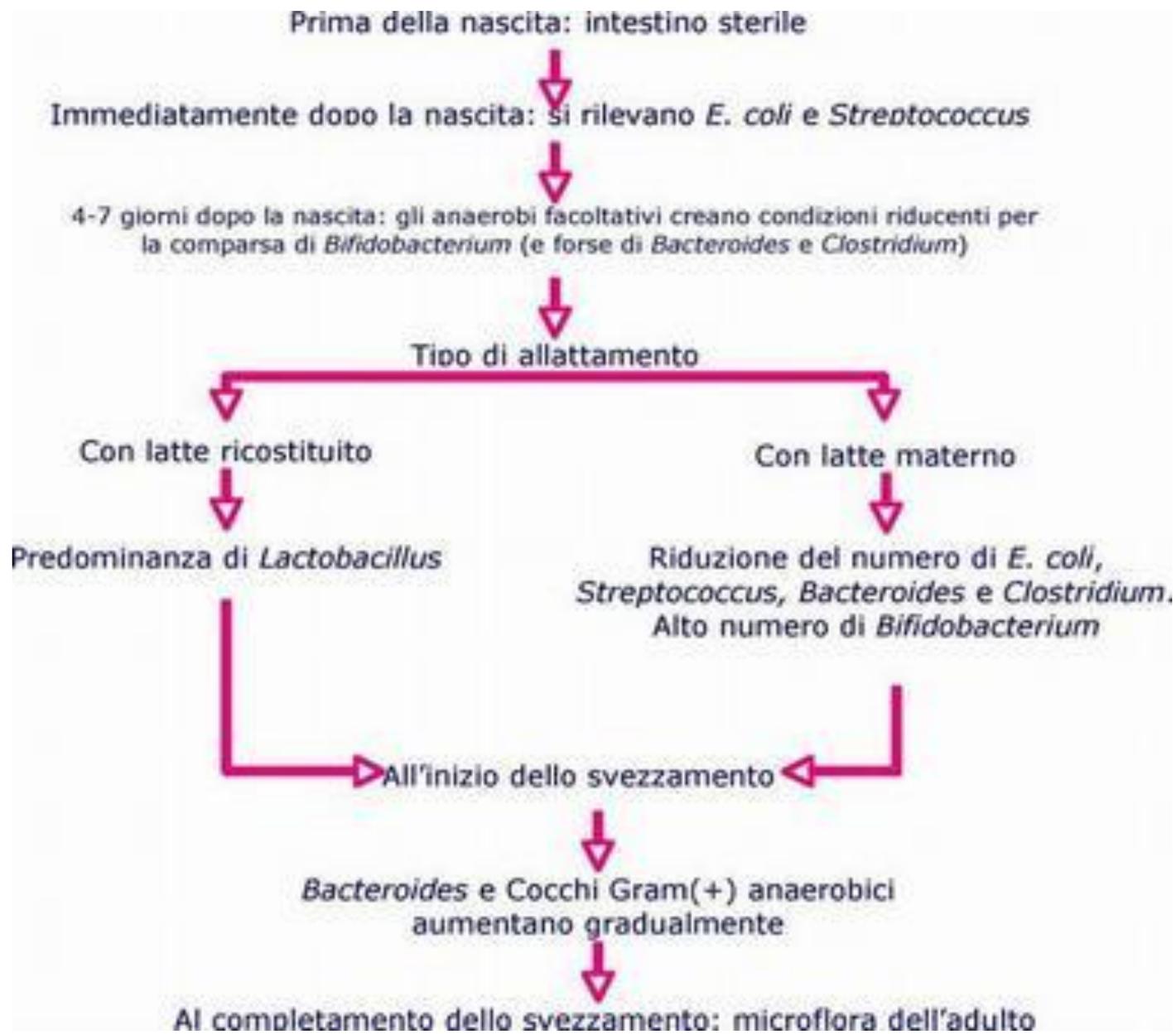
I batteri vivono in simbiosi, si influenzano a vicenda, si tollerano, coabitano, si controllano, traendo reciproco vantaggio

Notevole importanza il pH \*

Specie: Colibacilli, Corinebatteri,

Lactobacillus Acidophilus, Bifidum, Proteus, Faecium

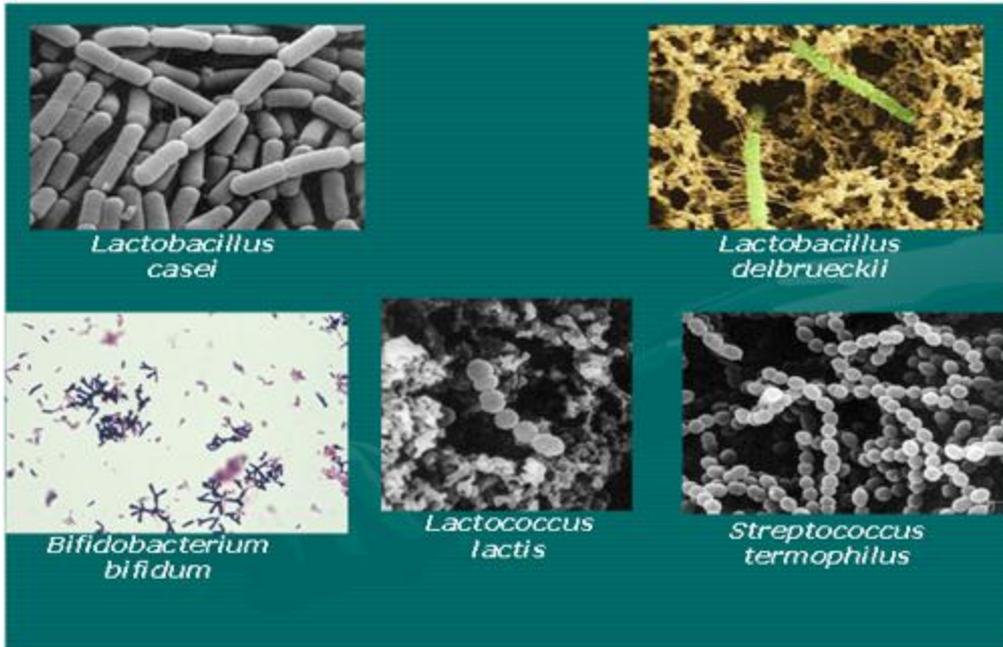
Enterobatteri etc.



**Tabella I.** Distribuzione del microbiota nell'apparato digerente.

Sede	Cellule batteriche per g di contenuto intestinale	Note
Stomaco, duodeno	$< 10^3$	Lattobacilli, Streptococchi. HCl, bile e peristalsi inibiscono l'adesione dei batteri e ne ostacolano la colonizzazione
Digiuno, ileo Ileo distale	$10^2$ - $10^3$ $10^4$ - $10^7$	Scarse informazioni: probabile attività di fermentazione dei carboidrati
Intestino crasso	$10^{10}$ - $10^{12}$ (prevalenza di anaerobi)	Sede della maggior parte delle attività del microbiota

Tenue nella sua seconda parte chiamata Digiuno, contiene lo Streptococco Thermophylus, il lattobacillo Acidophylus, L. Casei, L. Rhamnosus; il trasverso contiene Bifidobatteri e lattobacilli



Disordine	Ceppo	Dose
Trattamento della diarrea acuta infettiva nei bambini	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc
	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc x 2/dì
	<i>S. cerevisiae</i> (boulardii)	10 <sup>9</sup> ufc x 3/dì
Trattamento della diarrea acuta infettiva negli adulti	<i>Enterococcus faecium</i> LAB SF68	10 <sup>8</sup> ufc x 3/dì
Prevenzione della diarrea da antibiotici	<i>S. cerevisiae</i> (boulardii)	10 <sup>9</sup> ufc x 2/dì
	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> ufc x 1-2/dì
	<i>B. lactis</i> Bb12 + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>7</sup> + 10 <sup>6</sup> ufc/g formula
	<i>Enterococcus faecium</i> LAB SF68	10 <sup>8</sup> ufc x 2/dì
	<i>S. cerevisiae</i> (boulardii)	1 g o 3 x 10 <sup>10</sup> ufc x 1/dì
	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc x 2/dì
	<i>L. casei</i> DN-114 001 in latte fermentato con <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>10</sup> ufc x 2/dì
	<i>B. clausii</i>	2 x 10 <sup>9</sup> spore x 3/dì
Prevenzione della diarrea nosocomiale nei bambini	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc x 2/dì
	<i>B. lactis</i> Bb12 + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>8</sup> + 10 <sup>7</sup> ufc/g formula
	<i>B. lactis</i> Bb12	10 <sup>9</sup> ufc x 2/dì
	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730	10 <sup>9</sup> ufc x 2/dì
Prevenzione della diarrea da <i>C. difficile</i> negli adulti	<i>L. casei</i> DN-114 001 in latte fermentato con <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>10</sup> ufc x 2/dì
	<i>S. cerevisiae</i> (boulardii)	2 x 10 <sup>10</sup> ufc x 1/dì
		2 x 10 <sup>10</sup> ufc x 1/dì
Coadiuvante nella terapia per eradicazione <i>H. pylori</i>	<i>L. rhamnosus</i> GG	6 x 10 <sup>9</sup> ufc x 2/dì
	<i>B. clausii</i>	2 x 10 <sup>9</sup> spore x 3/dì
	<i>S. cerevisiae</i> (boulardii)	1 g o 5 x 10 <sup>9</sup> ufc x dì
	<i>L. casei</i> DN-114 001 in latte fermentato con <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>10</sup> cfu x 2/dì
Riduzione sintomi s. colon irritabile	<i>B. infantis</i> 35624	10 <sup>8</sup> ufc x 1/dì
	<i>L. rhamnosus</i> GG	6 x 10 <sup>9</sup> ufc x 2/dì
	<i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	4,5 x 10 <sup>11</sup> ufc x 2/dì
	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. rhamnosus</i> LC705, <i>B. breve</i> Bb99 e <i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> JS	10 <sup>10</sup> ufc x 1/dì
	<i>B. animalis</i> DN-173 010 in latte ferm. con <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>10</sup> cfu x 2/dì
Remissione col. ulcerosa	<i>E. coli</i> Nissle 1917	5 x 10 <sup>10</sup> x 2/dì
Remissione pouchite	<i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	4,5 x 10 <sup>11</sup> ufc x 2/dì
Prevenzione enterocolite necrotizzante	<i>B. infantis</i> , <i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> , <i>B. bifidum</i>	3,5 x 10 <sup>8</sup> ufc per ogni ceppo x 1/dì
	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. infantis</i>	10 <sup>9</sup> ufc per ogni ceppo x 2/dì

E' necessario che i microrganismi probiotici, quando assunti, siano:

vivi e vitali

non inattivati

presenti in alto numero (anche se il loro numero specifico non è menzionato nella definizione, si ritiene che debbano essere ingerite almeno  $10^9$  UFC al giorno).

Inoltre è necessario che i benefici sulla salute siano dimostrati scientificamente da studi clinici sull'uomo.

Le attività probiotiche fino ad ora studiate sono legate ad un particolare ceppo di una definita specie batterica (ceppo-specifiche) appartenente principalmente ai generi:

**Lactobacillus** (*Lb. acidophilus* La5, *Lb. acidophilus* NCFB1748, *Lb. plantarum* 299v, *Lb. casei* Shirota, *Lb. casei* 114-001 Immunitass, *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. fermentum* KLD, *Lb. paracasei* F19, *Lb. reuteri* SD2112, *Lb. johnsonii* La1, *Lb. salivarius* UCC118).

**Bifidobacterium** (*Bf. lactis (bifidum)* Bb12, *Bf. longum*, BB536, *Bf. bifidum*, *Bf. infantis*, *Bf. breve*, *Bf. adolescentis*, *Bf. animalis*).

FAO/WHO: linee guida criteri e le metodologie per la valutazione dei probiotici definendo i dati e le informazioni necessarie per dimostrare la loro rivendicazione salutistica.

Al fine di garantirne la sicurezza, i probiotici dovrebbero essere saggiati almeno per le seguenti caratteristiche:

Patterns di resistenza agli antibiotici

Accertamento di alcune attività metaboliche (produzione di D-lattato; deconiugazione dei sali biliari)

Accertamento di effetti collaterali negli studi su umani

Sorveglianza epidemiologica dopo la commercializzazione

Saggiare per la produzione di tossine i ceppi appartenenti ad una specie conosciuta come produttrice di tossine

Saggiare l'attività emolitica dei ceppi appartenenti ad una specie conosciuta come emolitica

# Prebiotici

Ingredienti alimentari, non digeribili da parte dell'uomo, in grado di esercitare un effetto positivo sulla salute dell'ospite attraverso la stimolazione selettiva della crescita e/o dell'attività di un limitato numero di batteri nel colon, in particolar modo di lattobacilli e/o bifidobatteri. Obiettivo principale dei prebiotici è dunque quello di "modulare il livello e le attività di differenti gruppi di microrganismi endogeni intestinali"

Sostanze di origine vegetale che aumentano il numero di alcuni tipi di batteri intestinali "amici", rappresentano il cibo di questi batteri, la cui crescita inibisce la proliferazione di specie "nemiche" es. E.Coli e Clostridium.

Migliorano l'assorbimento di minerali es. calcio, riducono la fermentazione alcolica e quindi la produzione di metaboliti tossici ed il ristagno di cibo attivando la peristalsi, es. l'inulina riduce il colesterolo e i trigliceridi, perché ne riduce l'assorbimento intestinale.

# Disbiosi intestinale

- Disfunzione del tubo digerente e squilibrio tra la microflora batterica e organismo ospite
- Salute:qualita',quantita',preparazione,conservazione, additivi,digeribilita'e assorbimento dei cibi
- Digestione e' rendere il cibo solubile e perfettamente assimilabile
- Fondamentale la presenza di enzimi ed il giusto pH
- (per la gastroprotezione e digestione)
- ->acetilcolina,gastrina,istamina ->pH

Flora residente:B.infantis,Breve,Longum,Adolescentis etc  
protezione da sostanze tossiche e ne riducono la produzione

Flora transiente:di passaggio,favorisce la peristalsi e protegge la mucosa intestinale es.Rhamnosus

# Disbiosi patologiche

- Causate dalla presenza di prodotti endotossici e di tutti gli agenti patogeni esistenti
- Prodotti endotossici: fenolo, scatolo, indolo, cadaverina, putrescina, botulina, ammoniaca, indoetilamina, metilmercaptano, idrogeno solforato etc.
- Patogeni:
  - Batteri (Escherichia, Salmonella, Vibrio, Shigella, Clostridium, Yersinia etc)
  - Virus (Rotavirus, Adenovirus, Norwalk, Coronavirus, Astrovirus etc)
  - Miceti: Candida, Saccharomices, Mucor etc
  - Protozoi: Lamblia, Entamoeba, Sarcocystis etc
  - Elminti: Trematodi, Cestodi, Nematodi

# Parassitosi

Cestodi: Tenia, Fasciola, Echinococcus etc

Trematodi: Schistosoma etc

Nematodi: Ascaris, Oxyuris, Trichinosis, Toxocara canis, Anchilostoma duodenale, Filaria etc

Provenienza: suino, affumicati, carni poco cotte, verdure non lavate, animali in casa

Fattori predisponenti: alimentazione, disbiosi, abitudini errate, scarsa igiene, S.I. defedato, contagio sessuale, tagli, abrasioni, inalazione accidentale, da contatto.

Diffusione: 50% bambini 30% adulti

Sintomi: tutti gli organi sono coinvolti.

Tosse, bruxismo, epilessia, asma, sonno, fatica cronica, tiroidite, dimagrimento, aumento di peso. alitosi, meteorismo ittero, cisti, fibromi, sterilita', tics, nervosismo.

# Terapia parassitosi

Pulizia intestinale : ossido di Mg, Aloe etc

Fitoterapici ad azione vermifuga:mallo di noce,aglio,melograno,semi di pompelmo,assenzio, chiodi di garofano,semi di zucca,melaleuca, tabebuia ed,in genere,tutti gli oli essenziali

Probiotici a dosi generose

Detergenti ed unguenti per l'igiene delle mucose,detergenti giusti x biancheria ed ambienti che si frequentano(es animali da compagnia)

# COLTURE STARTER

Preparazioni che contengono microrganismi vivi e vitali che sono impiegate con l'obiettivo di utilizzare il metabolismo microbico per il raggiungimento di specifici obiettivi tecnologici.

Sicurezza:

Gli organismi usati non devono essere dotati di nessuna attività patogena o tossica.

Efficacia tecnologica:

Gli organismi usati devono essere in grado di competere con la microflora autoctona e dominare il processo tecnologico.

Gli organismi devono essere in grado di svolgere le attività metaboliche per le quali sono stati selezionati nelle condizioni di processo.

Aspetti economici:

La propagazione degli organismi starter deve essere economicamente conveniente.

La coltura starter deve poter essere conservata allo stato congelato o liofilizzato senza perdita delle peculiarità metaboliche.

Le proprietà metaboliche devono essere stabili per molti mesi nelle condizioni di stoccaggio.

La loro manipolazione e impiego deve essere semplice.

## **BATTERIOCINE**

Proteine biologicamente attive sintetizzate ribosomalmente o complessi proteici in grado di esercitare attività battericida nei confronti di altre specie batteriche, ma non sul microrganismo produttore.

### **La batteriocina più nota: la Nisina**

Prodotta da ceppi di *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

Attiva contro altri batteri lattici e patogeni come *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum*

Peptide contenente 34 aminoacidi (3354 Da)

L'uso della Nisina come additivo alimentare è consentito in circa 50 paesi per aumentare i tempi di conservazione di alimenti come latte e derivati, conserve vegetali, prodotti carnei sia freschi che fermentati e prodotti ittici