

Microbiologia degli alimenti

- La microbiologia degli alimenti studia
 - ✓ la provenienza
 - ✓ il significato

delle varie specie microbiche presenti nell'alimento

- Il comportamento dei microrganismi durante i processi tecnologici
- L'influenza dei microrganismi durante la conservazione degli alimenti

Il controllo microbiologico degli alimenti:

➤ FONTI DI CONTAMINAZIONE

- ✓ Valuta il rispetto o meno delle norme igieniche di lavorazione e conservazione per la presenza od assenza di particolare gruppi microbici**
- ✓ Valuta le condizioni di conservazione del prodotto e pertanto stabilisce la durata del periodo di conservazione**
- Segue l'esatto susseguirsi di certi PROCESSI FERMENTATIVI indispensabili per la produzione di particolari alimenti (latte fermentati, prodotti di salumeria ecc.) ed eventualmente li corregge**

➤ SICUREZZA ALIMENTARE:

- ✓ Elimina dal commercio tutti quei prodotti contaminati da germi patogeni, o loro tossine nocive per l'uomo**

Limiti del controllo microbiologico

- **Distribuzione non omogenea** dei batteri patogeni nella massa del prodotto o nei singoli componenti del lotto produttivo
- Presenza di **cariche bassissime di patogeni**, caratterizzati da particolare virulenza, i quali possono sfuggire alla ricerca analitica (*Shigella*)
- Presenza di **patogeni non batterici**, dai virus ai protozoi e a gli elminti

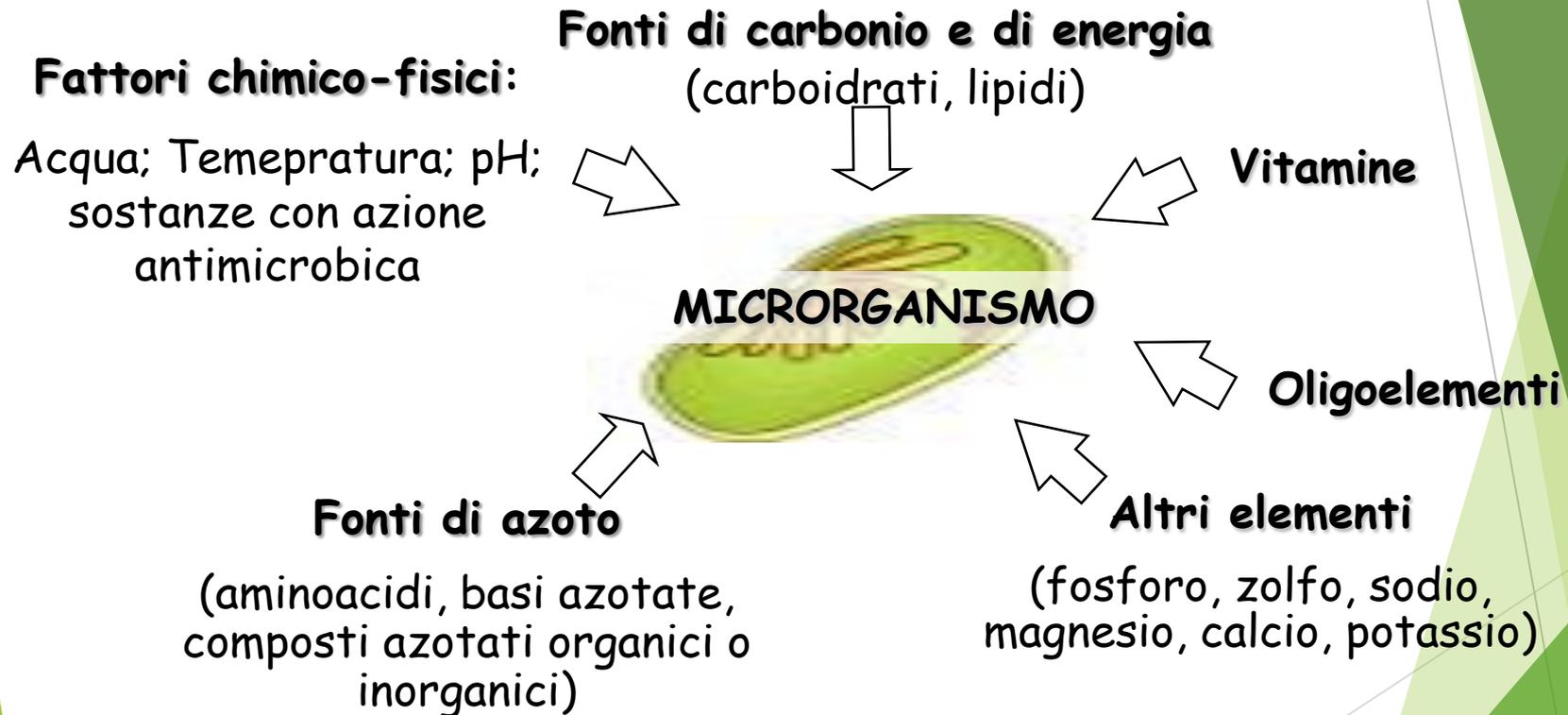
**“La chiave del controllo microbiologico della sicurezza igienica così come della proliferazione microbica negli alimenti sta nella conoscenza ed applicazione dei principi dell’ecologia microbica”
(Mossel, 1983)**

ECOLOGIA MICROBICA

Scienza delle relazioni tra microbi ed il loro ambiente, che determinano la loro crescita, la sopravvivenza o la morte.

Fattori che influenzano lo sviluppo microbico

La presenza e la moltiplicazione microbica negli alimenti e bevande sono determinate dalle condizioni ambientali lungo tutto il processo produttivo



Temperatura



Influenza direttamente la velocità delle reazioni biochimiche del metabolismo e determina lo stato fisico del mezzo in cui i microrganismi sono presenti

↘ Condiziona **SICUREZZA, ACCETTABILITA'** e **DURATA** del **PRODOTTO**

Ogni forma microbica presenta un minimo e un massimo di temperatura alla quale può avvenire la proliferazione cellulare e un *optimum* al quale si ha la massima velocità di proliferazione

	minimo	optimum	massimo
<i>Psicrofili</i>	-5/+5°C	10/15°C	20/25°C
<i>Mesofili</i>	5/15°C	30/45°C	35/45°C
<i>Psicrotrofi</i>	-5/+5°C	20/30°C	30/35°C
<i>Termotrofi</i>	5/15°C	35/45°C	55/60°C
<i>Termofili</i>	40/45°C	55/75°C	65/90°C

Temperatura

Condiziona l'andamento della proliferazione microbica

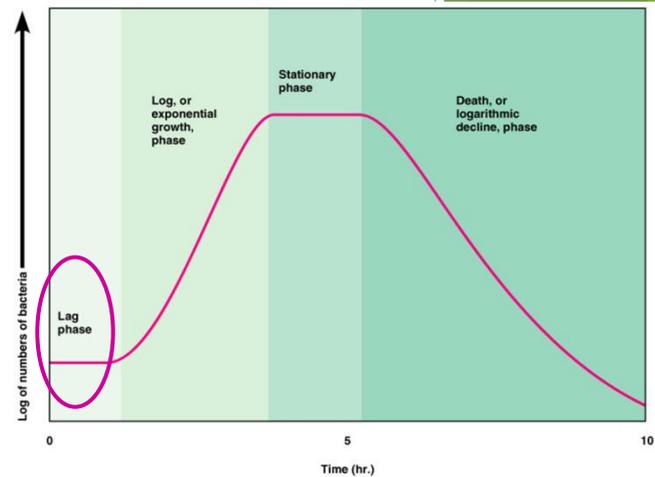
poiché influenza:

- durata della fase di latenza;

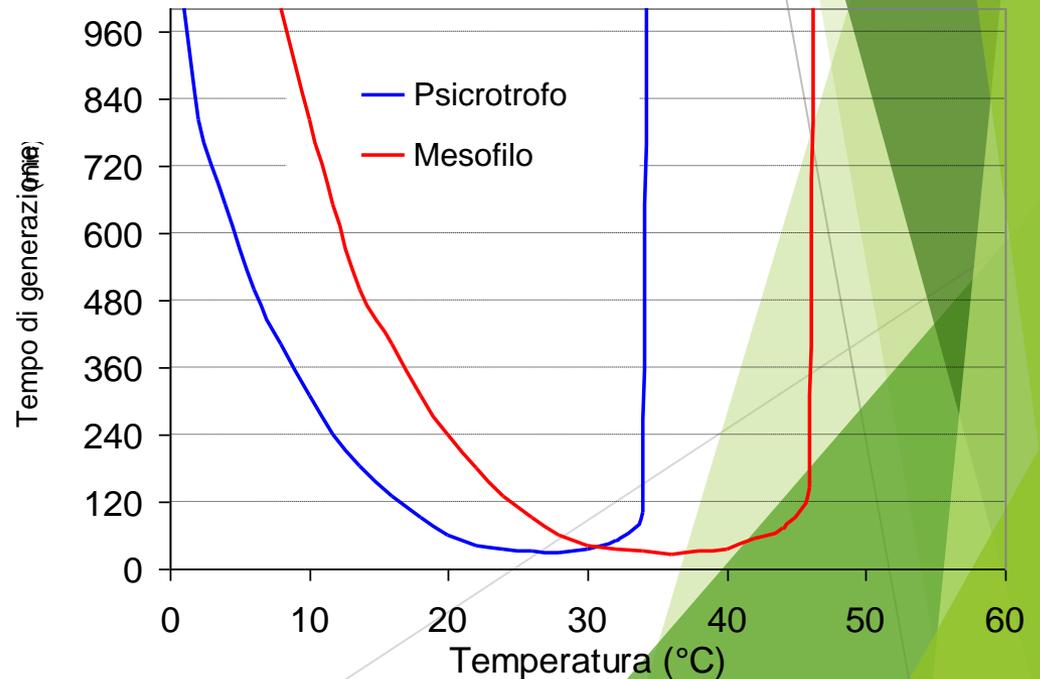
- tempo di generazione;

- numero finale di cellule;

- attività metaboliche (produzione di esoenzimi, composizione in acidi grassi delle membrane cellulari, richieste nutrizionali).



Effetto della temperatura sul tempo di generazione



Alterazioni della temperatura per preservare i cibi

Basse temperature

Refrigerazione

Congelamento

Surgelamento

Alte temperature

Pastorizzazione

Cottura

Sterilizzazione

Abbattere il più possibile la carica microbica contaminante

Psicrotrofi: microrganismi che crescono a temperature di refrigerazione

Psicrotrofi in latte pastorizzato: *Bacillus*,
Enterococcus

Psicrotrofi in burro e formaggi freschi: *Pseudomonadaceae*

Psicrotrofi in carne fresca: *Pseudomonadaceae*
Psicrotrofi in carne fresca confezionata in atmosfera protettiva:
Enterobacteriaceae,
Enterococcus

Psicrotrofi in pesce fresco: *Pseudomonadaceae*,
Vibrionaceae

Psicrotrofi in ortaggi freschi: *Pseudomonadaceae*

Refrigerazione e congelamento

REFRIGERAZIONE

Abbassamento della temperatura tra 0 e +6° (effetto batteriostatico). L'effetto dipende dal tipo di microrganismo e dal tempo di permanenza.

CONGELAMENTO

Abbassamento della temperatura al di sotto di 0°C fino a -40°C (batteriostatico e battericida). L'effetto finale dipende dallo stato vitale della cellula, dalla velocità di raffreddamento, dal tipo di matrice alimentare.

SURGELAMENTO

Congelamento rapido (-18°C entro 4h e mantenimento a -18°C fino alla vendita).

Refrigerazione e congelamento

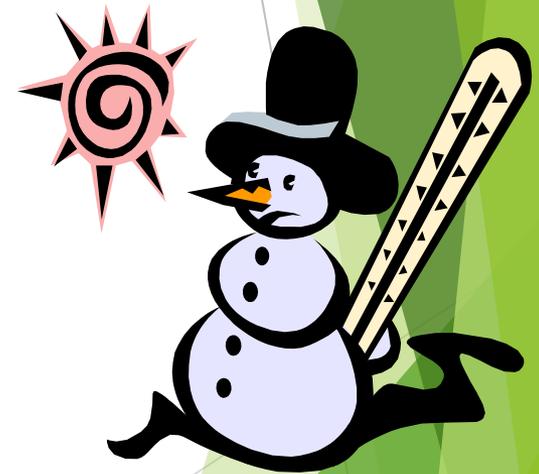
Microrganismi **insensibili al congelamento** (spore batteriche, tossine, enzimi)

Microrganismi **relativamente resistenti** (spore di eumiceti, Gram +, virus)

Microrganismi **molto sensibili** (Gram -, eumiceti, protozoi ed elminti)

SCONGELAMENTO

processo critico per il rischio di proliferazione microbica a causa dell'**aumento del tenore in acqua e nutrienti disponibili** (fuoriuscita di materiale citoplasmatico dalle cellule)



Pastorizzazione, cottura, sterilizzazione

Blocco attività metaboliche → Danneggiamento REVERSIBILE ↓

Denaturazione acidi nucleici, coagulazione proteine funzionali,
denaturazione delle membrane → Danneggiamento IRREVERSIBILE ↓

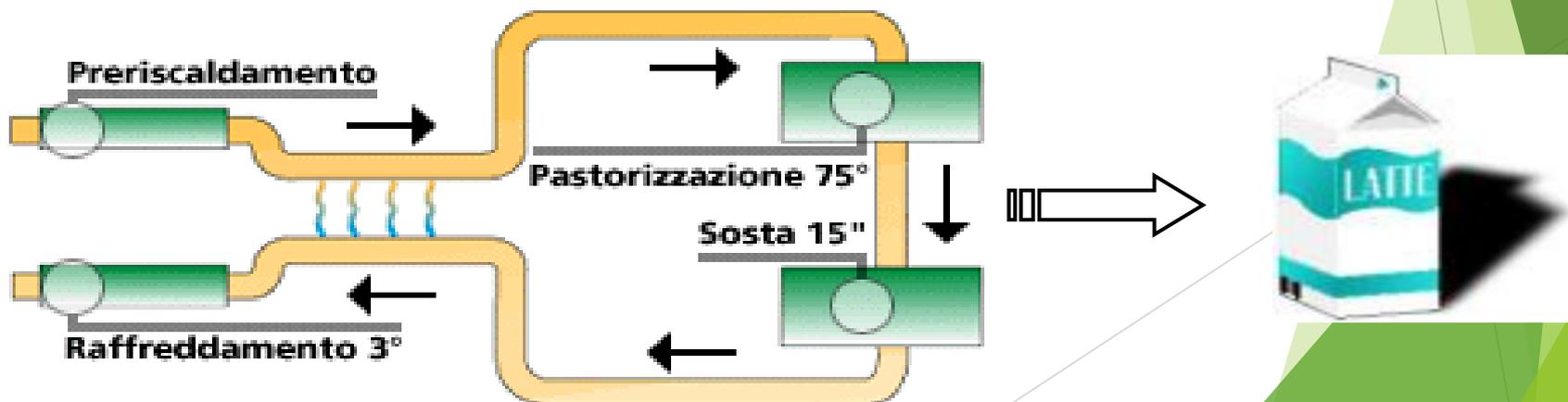
Morte della cellula

Variabili:

tipo di parete, formazione di spore, età della cellula, tipo di calore (umido o secco), pH, composizione sostanza alimentare, attività dell'acqua.

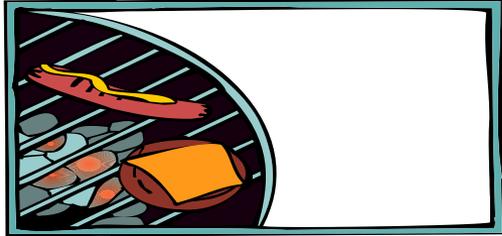
PASTORIZAZIONE

- **Distruzione** dei microrganismi patogeni non sporigeni e della gran parte della microflora saprofitica (**90-99,9%**).
- I microrganismi che resistono al trattamento sono detti **TERMODURICI**



COTTURA

- Bollitura, frittura, cottura in forno, cottura alla griglia, microonde.
- Trattamento intermedio tra pastorizzazione e sterilizzazione.
- Le uniche forme microbiche sopravvivenenti sono le **spore batteriche**.



STERILIZZAZIONE

- **Distruzione completa** dei microrganismi presenti.
- La sterilità assoluta non esiste. Si ottiene una **sterilità commerciale** (abbassamento di 12 riduzioni decimali di spore di *Clostridium botulinum*).



I prodotti alimentari sottoposti a sterilizzazione sono detti **CONSERVE**.
Necessitano di refrigerazione solo dopo l'apertura della confezione.

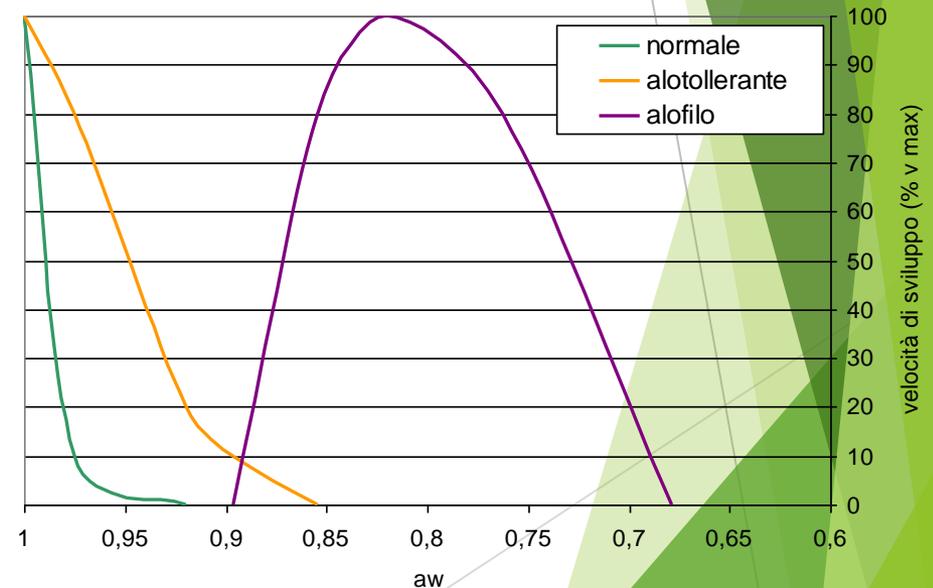
Attività dell'acqua

a_w = frazione di acqua non legata chimicamente (**acqua libera**) e quindi disponibile per lo sviluppo microbico.

$$a_w = \frac{P}{P_o}$$

Ogni microrganismo ha un **valore minimo di a_w** al di sotto del quale non si sviluppa e un **valore ottimale** dove è massima la velocità di duplicazione. La diminuzione di a_w ha effetto principalmente batteriostatico. Numerosi processi di conservazione si fondano sull'**abbassamento dell' a_w** .

Effetto dell'attività dell'acqua sulla velocità di sviluppo



Valori di aw

1-0,98



Alimenti freschi (ortaggi, frutta, carni, pesce), acqua e bevande analcoliche o poco alcoliche, pietanze cotte in bollitura o in frittura, impasti, creme di condimento

0,98-0,93



Latte evaporato, formaggi freschi e a media stagionatura, formaggi fusi, conserve di carne e di pesce, insaccati freschi o poco stagionati, carne salata (NaCl <10%), pasta fresca, frutta allo sciroppo

0,93-0,85



Salumi stagionati, formaggi a lunga stagionatura, latte condensato, pane e prodotti da forno lievitati dopo cottura

0,85-0,60

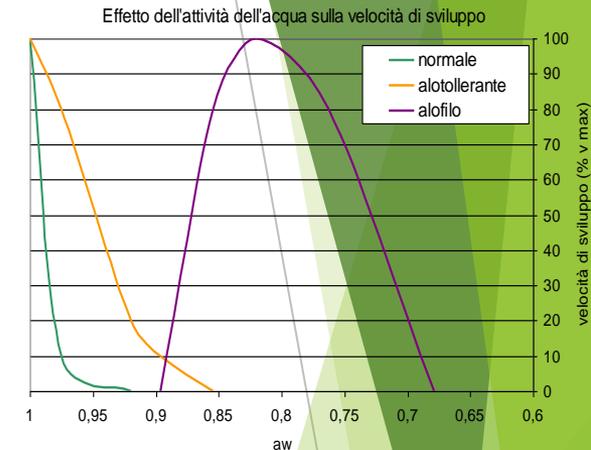


Frutta secca, farina, cereali in semi, miele, marmellate e gelatine, semi oleaginosi, pesci e carni fortemente salati, estratto di carne

< 0,60

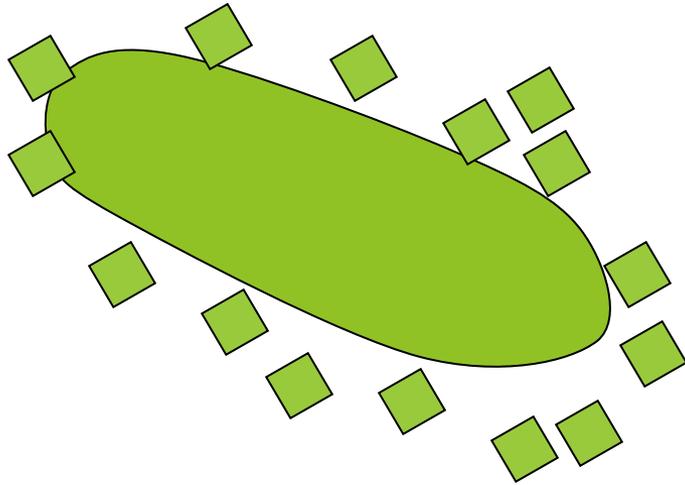


Alimenti in polvere disidratati ed essiccati, cioccolato, caramelle dure, biscotti secchi, crackers, pasta secca



Il sale

- Plasmolisi
- Inibizione attività enzimatiche



ALOFILI (*Halobacterium*, *Halococcus*) necessitano per sopravvivere una presenza di sale pari almeno al 20%

ALOTOLLERANTI (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, alcuni *Bacillus*, *Vibrio*, alcuni lieviti) riescono a moltiplicarsi fino al 15%

pH e ACIDITA'

Concentrazione degli ioni idrogeno in fase acquosa.

In generale i patogeni vengono inibiti da valori di pH che si discostano dalla neutralità, in modo maggiore verso il campo acido

pH = 4,5 → livello di sicurezza per gli indicatori di salubrità.



Lieviti, muffe, batteri lattici, batteri acetici possono moltiplicarsi a pH < 3,5

Muffe, *Pseudomonadaceae*, vibrioni ed enterococchi proliferano anche a pH > 9,0



Valori limite di pH per la moltiplicazione di alcuni microrganismi

Specie o gruppo	pH minimo	pH massimo
Muffe	2,0	11,0
Lieviti	2,0	9,0
Batteri acetici	3,0	9,0
Lattobacilli	3,3	8,5
Enterococchi	3,5	9,6
Lattococchi	4,0	8,0
Micrococchi	4,0	9,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	9,3
<i>Salmonella</i> spp.	4,0	9,6
<i>Bacillus cereus</i>	4,4	9,3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,5	9,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,6	9,3
<i>Escherichia coli</i>	4,6	9,0
<i>Clostridium botulinum</i>	4,6	8,5
Pseudomonadaceae	4,6	9,6
Enterobacteriaceae	4,6	9,0
Vibrionaceae	4,6	9,6
<i>Clostridium perfringens</i>	5,0	9,0
<i>Campylobacter jejuni</i>	6,0	9,6



- | | |
|--|---|
| 3 Acqua e bevande gassate, drink energetici, selz. | 7 pH Neutro Acque minerali, acque di fiume e di mare, acque anche non potabili. |
| 4 Aceto, aspartame, birra, carne di maiale, cioccolato, formaggi, nocchie tostate, pasta, pizza, popcorn, sottaceti, tè nero, vino. | 8 Ananas, albicocche, banane, ciliegie, fragole, funghi, mandorle, mele, olive, peperoni, pesche, pompelmi, pomodori, ravanelli. |
| 5 Acqua depurata e distillata, arachidi, caffè, carne di manzo, farinacei, pane bianco, pistacchi, succhi di frutta industriali. | 9 Fagiolini, fichi, kiwi, lattuga, mandarini, melanzane, meloni, mirtilli, papaia, patate, pere, tè verde, uva. |
| 6 Fagioli, fegato, cacao, latte di soia, pesce, prugne, riso, salmone, spinaci cotti, ostriche, uova. | 10 Asparagi, alghe, broccoli, carciofi, carote, cavoletti Bruxelles, cavolo verza, cavolfiore, cetrioli, cipolle, limoni. |

Atmosfera modificata

L'utilizzo di **gas** può essere efficace per la conservazione di alimenti confezionati al fine di inibire o rallentare la microflora di tipo alterativo

Alimenti **CONFEZIONATI** per inibire o rallentare la microflora

- a) **SOTTOVUOTO** aria eliminata per aspirazione
- b) **ATMOSFERA PROTETTIVA**
atmosfera riprodotta a seguito di re-iniezione di gas
- c) **ATMOSFERA CONTROLLATA**
composizione e/o pressione dell'atmosfera mantenuta costante in un ambiente confinato



Additivi chimici

Sostanze prive di potere nutritivo o impiegate a scopo non nutritivo che si aggiungono alla matrice alimentare per conservarne nel tempo le **caratteristiche chimiche, fisiche o fisico-chimiche**, o per evitare l'alterazione spontanea o per dare o esaltare caratteristiche di aspetto, sapore, odore o consistenza



Coloranti (E100-E199)

Conservanti (E200-E299) → Sostanze antimicrobiche

Antiossidanti (E300-E322)

Correttori di acidità (E325-E385)

Addensanti, emulsionanti e stabilizzanti (E400-E495)

Fattori di tipo biologico

MUTUALISMO →

I microrganismi traggono reciproco vantaggio dal rapporto

COMMENSALISMO →

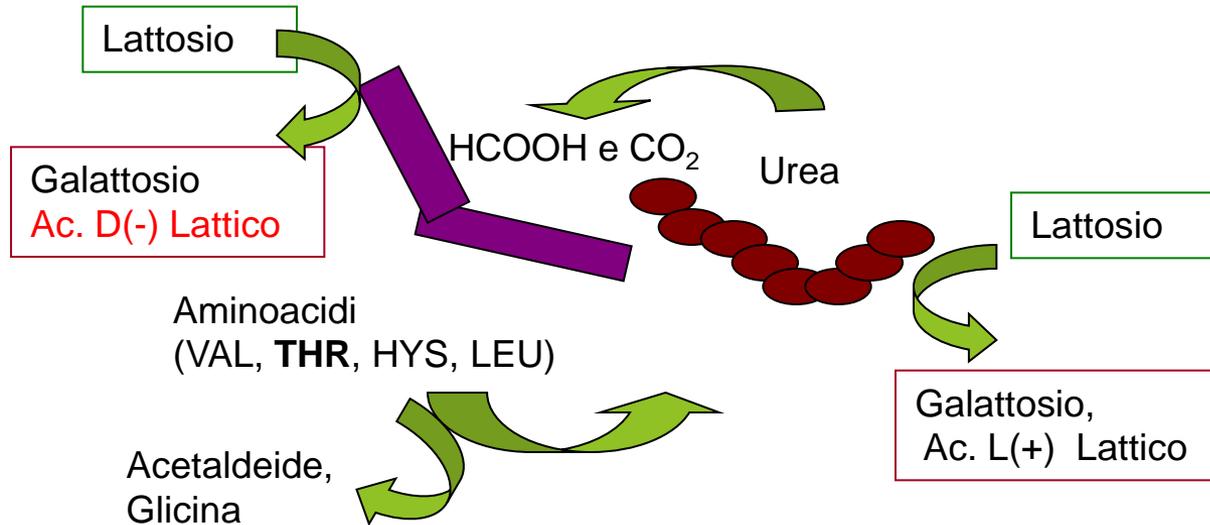
I microrganismi sono indifferenti alla reciproca presenza

ANTAGONISMO →

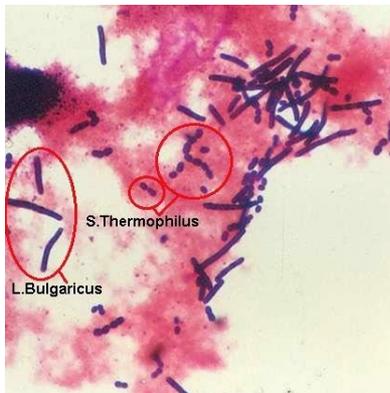
I microrganismo traggono svantaggio dal rapporto

MUTUALISMO

Fermentazione omolattica



Lactobacillus bulgaricus e *Streptococcus thermophilus*



Batteri lattici che in assenza di ossigeno degradano il lattosio in il glucosio e poi in acido lattico
→ **Abbassamento pH** e **precipitazione caseine**
→ **Coagulazione proteine del latte e formazione yogurt**



COMMENSALISMO

Microflora del
latte crudo

Microflora
dei formaggi

Microflora
della carne
fresca

Microflora del
salame



muffe, lieviti, batteri aerobi

batteri lattici, enterococchi

batteri propionici

Nei formaggi di tipo svizzero
usano l'acido lattico prodotto
dai batteri lattici.



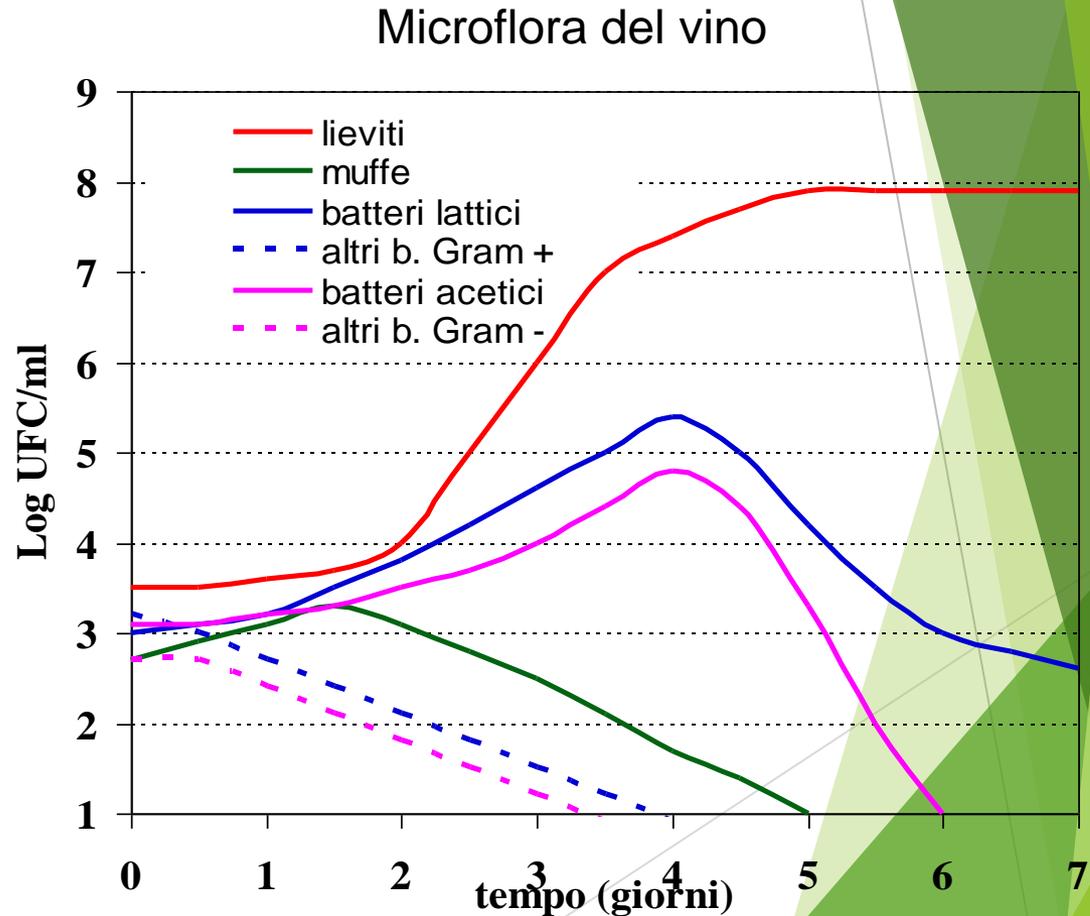
muffe, lieviti, micrococchi

stafilococchi, lattobacilli

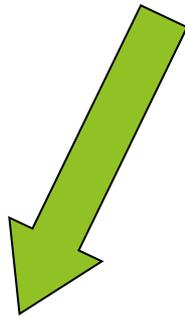
ANTAGONISMO

Una specie microbica risulta dannosa per un'altra

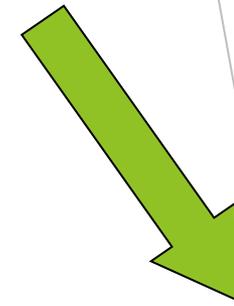
Microflora del mosto
che diventa vino



Microorganismi e alimenti



Contaminazione microbica



Alimenti fermentati



Contaminazione microbica degli alimenti

CONTAMINAZIONE DEGLI ALIMENTI

I microrganismi presenti negli alimenti sono il risultato di una contaminazione

CONTAMINAZIONE PRIMARIA

→ Dovuta a microrganismi presenti naturalmente nell'alimento

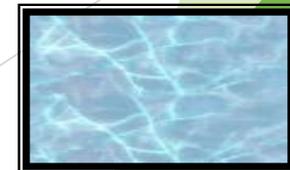
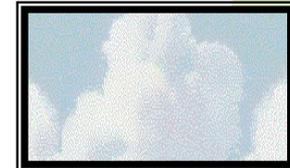
CONTAMINAZIONE SECONDARIA

→ Dovuta a microrganismi apportati dall'ambiente esterno e dagli operatori durante il processo di trasformazione, conservazione, distribuzione

Aria polvere, umidità, aerosol

Suolo terra, materiale fecale, sporco

Acqua ambiente ricco di esseri viventi e di microrganismi



CONTAMINAZIONE DEGLI ALIMENTI

Vegetali

microrganismi fitopatogeni (in grado di determinare malattie alla pianta) e **microrganismi saprofiti** (finché la pianta è integra)



Animali

microrganismi zoopatogeni (in grado di determinare malattie negli animali) e **microrganismi saprofiti** della pelle, delle mucose e dell'apparato gastro-intestinale, spoglie, deiezioni (materiale fecale, peli, piume)



Superfici di lavorazione/conservazione/ distribuzione

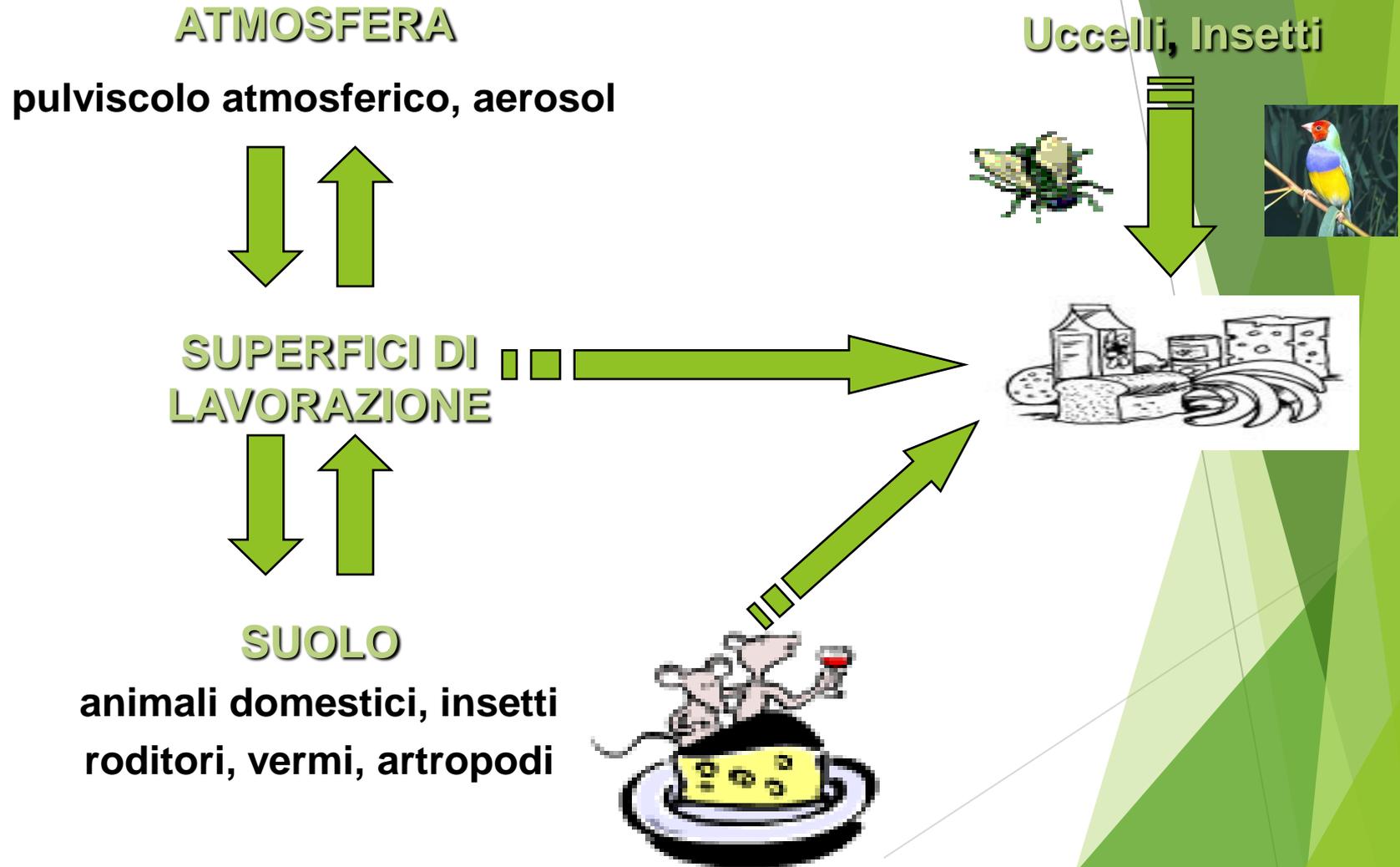
(macchine dell'impianto, attrezzature, utensili e strumenti, tavoli di lavoro, superfici di stoccaggio, stoviglie)



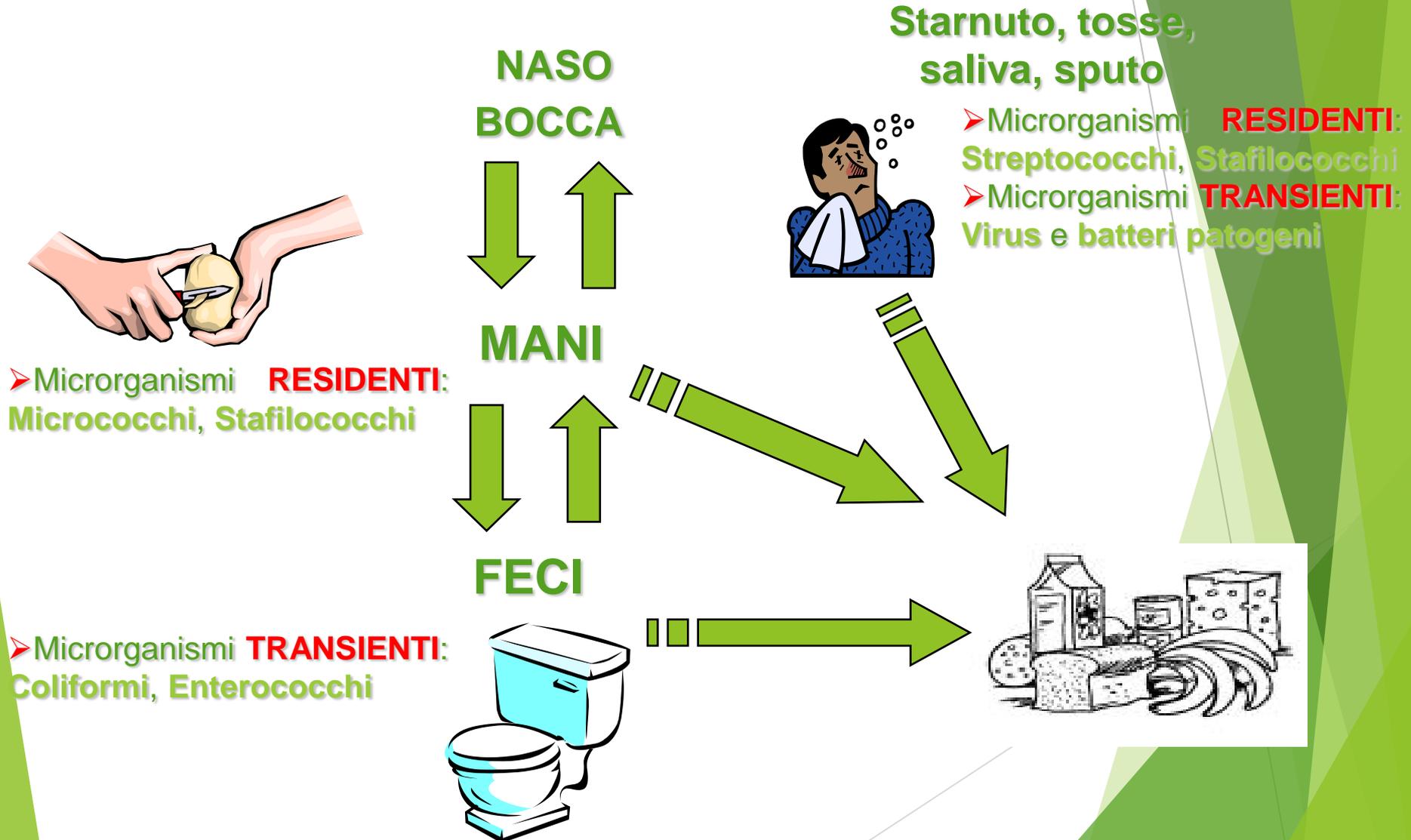
Uomo

Manipolazione

Fonti di contaminazione in produzione



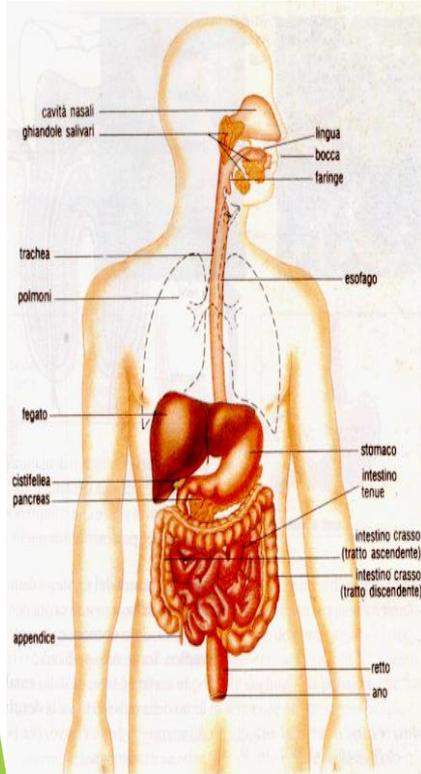
Fonti di contaminazione umana



Fonti di contaminazione umana

APPARATO DIGERENTE

La concentrazione batterica è elevatissima a livello di intestino crasso e di conseguenza nelle feci.



Parte anatomica	Genere batterico	Livelli di concentrazione nel contenuto (UFC/g)
Bocca	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i>	10^5-10^7
Esofago		$< 10^3$
Stomaco		$< 10^3$
Duodeno		$< 10^3$
Digiuno		10^3-10^5
Ileo	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>	10^5-10^7
Colon, Retto	<i>Bacteroides</i> <i>Eubacterium</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Clostridium</i> <i>Peptococcus</i> <i>Escherichia</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i>	$10^{10}-10^{12}$ 10^8-10^{10}

Igiene del personale

- Gli operatori che vengono a contatto con gli alimenti deve sottostare ad una cura particolare dell'igiene personale e dell'abbigliamento.
- Le **mani** sono un mezzo importante di distribuzione di microrganismi: affinché questa trasmissione sia minima bisogna provvedere ad un adeguato lavaggio con saponi battericidi; i normali saponi, soprattutto quelli liquidi, se mal conservati possono contaminarsi.



CAMPIONAMENTO

Raccolta di materiale su cui eseguire l'analisi microbiologica



CAMPIONE RAPPRESENTATIVO

Su cui verranno effettuate
analisi microbiologiche per
verificare che rispetti
determinati **criteri**
microbiologici (STANDARD
O LINEE GUIDA)



**Limiti della presenza o assenza di microrganismi o loro
tossine negli alimenti**

In funzione del ruolo, i microrganismi che contaminano gli alimenti possono essere suddivisi in:

**Indicatori di tipicità
o protecnologici**

Naturalmente presenti

Selezionati in laboratorio

Indicatori di qualità

Indicatori di salubrità

Indicatori di qualità

Indicano con il loro numero espresso per grammo o per millilitro (**UFC/g o ml**) le caratteristiche di **pulizia ed igiene delle tecniche di manipolazione e conservazione** che il prodotto ha subito.

Il valore caratterizza la **conservabilità** fino al momento del consumo.

Marker di igiene sono:

- o ***E.coli*** → Contaminazione fecale
- o **Clostridi solfito-riduttori** → Contaminazione fecale
- o ***S. aureus*** → Contaminazione umana
- o **Muffe** → Contaminazione ambientale

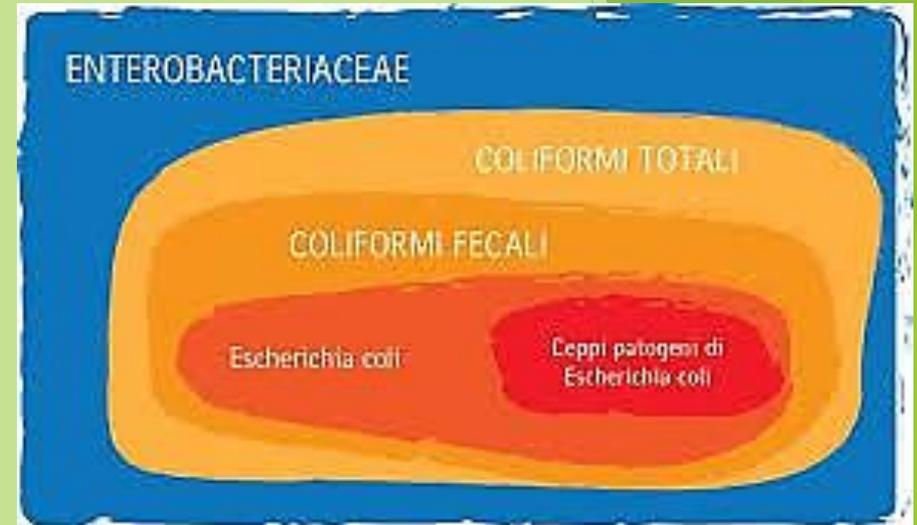


Marcatori di igiene	Prodotto	Gruppo o specie microbica
Indice di contaminazione fecale	Tutti gli alimenti	<i>E. coli</i>
	Acque per il consumo umano	Coliformi, <i>E. coli</i> , enterococchi, <i>C. perfringens</i>
Germi testimoni di carenza di igiene	Latte e prodotti lattiero-caseari	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>
	Carne e derivati	Coliformi fecali, <i>C. perfringens</i> , <i>Listeria spp.</i>
Indice di contaminazione umana da manipolazione	Tutti gli alimenti	<i>S. aureus</i>
Muffe tossinogene	Latte in polvere, cereali, farine e sfarinati, legumi, cacao, caffè, spezie, semi oleaginosi, alimenti a ridotta Aw, puree e preparati a base di frutta	<i>Aspergillus spp.</i>
Batteri tossinfettivi	Puree e preparati a base di verdure, piatti pronti di gastronomia, prodotti di salumeria, preparazioni a base di carne cotta, alimenti non acidi condizionati in assenza di aria	Clostridi solfito-riduttori

I batteri coliformi: *Enterobacteriaceae*

Coliformi totali:

Citrobacter,
Enterobacter,
Escherichia,
Klebsiella,
Serratia (alcune specie)



Coliformi fecali, o termotolleranti, o termotrofi

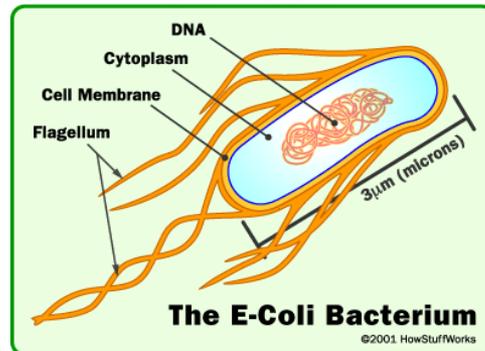
Enterobacter (alcune specie),
Klebsiella (alcune specie)

Escherichia coli

Escherichia coli

E. coli è un ospite normale del tratto GI di uomo ed animali, per cui la sua presenza in acqua indica contaminazione fecale.
Ha molti diversi antigeni O, H, K, e specifici sierotipi sono associati ad aumentata virulenza

Possiede numerosi fattori di virulenza, fra cui **ADESINE** altamente specializzate ed **ESOTOSSINE**



Moltissimi E. coli sono presenti nel tratto gastroenterico, e le infezioni possono essere sia endogene che esogene (gastroenteriti, meningite neonatale). Di solito, le malattie da E. coli derivano dalla flora normale quando le difese sono compromesse. Ci sono ceppi (EIEC, ETEC, ecc.) particolarmente patogeni

ETEC (enterotossico): è la più importante causa batterica di diarrea in bambini nei paesi in via di sviluppo, e la causa più comune della “diarrea del viaggiatore”. **Trasmesso per via alimentare.**

Ha fattori di colonizzazione (pili), che si legano a specifici recettori sulla membrana delle cellule intestinali e produce **due potenti enterotossine**, codificate da plasmidi:

LT labile al calore (simile alla tossina colerica, e può essere scambiato per colera in bambini denutriti): aumenta cAMP. Con secrezione di ioni e diffusione di acqua. Induce citochine proinfiammatorie

ST stabile al calore, aumenta cGMP, con effetti simili a LT.

Diagnosi di laboratorio: isolamento da feci, ELISA per rivelazione delle tossine, ibridazione con sonde molecolari per i geni LT e ST.

EIEC Enteroinvasivi: solo pochi sierotipi O causano dissenteria (feci con sangue e pus) con febbre, crampi addominali, localizzati soprattutto all'intestino crasso. **Spesso infezione alimentare.** Il fattore di adesione e di invasività è codificato da un plasmide. Dopo l'endocitosi, EIEC lisa il vacuolo endocitico, diffonde alle cellule adiacenti, causando distruzione tissutale e infiammazione.

Sono disponibili saggi immunologici e sonde molecolari, ma spesso di scarsa utilità perché il grande plasmide che codifica i fattori di virulenza in vitro viene perso rapidamente

EPEC enteropatogeno, causa diarrea acquosa in neonati in paesi poveri, distrugge i microvilli.

Diagnosi mediante sierotipizzazione con antisiero polivalente per i tipi EPEC conosciuti.

EHEC enteroemorragico O157:H7 è il sierotipo più importante. Inizialmente diarrea acquosa, seguita da diarrea con sangue (colite emorragica) con crampi e vomito. **Infez. alimentare (carni poco cotte, acqua, latte non pastorizzato, verdura cruda, frutta.** Bassa dose infettante (100 batteri) Incubazione 3-4 giorni, malattia 4-10 giorni. Complicazione frequente sindrome uremica emolitica (blocco renale, trombocitopenia, anemia emolitica), con mortalità 5% e danni permanenti. Produce **due tossine (Shiga)**, che impediscono la sintesi proteica.

EHEC nei campioni fecali può essere scarsamente presente, <1% di tutte le colonie di E.coli, di solito non fermenta il sobitolo.



SMAC (Sorbitol MacConkey) differenzia efficacemente i sierotipi più comuni di *E. coli* associati a colite emorragica (O157:H7) dagli altri *E. coli* non patogeni. O157:H7 non fermenta il sorbitolo, e le colonie rimangono incolori, mentre gli altri *E. coli* danno colonie rosa sorbitolo-positive.

Malattie associate agli enterobatteri

INFEZIONI SISTEMICHE

Febbri enteriche (tifo, paratifo, in cui l'interessamento intestinale è associato a diffusione dell'infezione a tutto l'organismo con localizzazioni extraintestinali (es. epatiche)

INFEZIONI ESCLUSIVAMENTE INTESTINALI

Enteriti, gastroenteriti con diarrea o dissenteria (con mortalità infantile molto elevate nelle zone più povere del mondo)

Gli enterobatteri *NON INVASIVI* si localizzano nell'intestino tenue e producono enterotossine che stimolano l'attività secretoria della mucosa senza causare lesioni

Gli enterobatteri *INVASIVI* si localizzano in intestino tenue e colon, penetrano la mucosa e causano evidenti processi infiammatori con lesioni istopatologiche

INFEZIONI EXTRAINTESTINALI

Spesso con origine endogena, opportunistica: infezioni urinarie, nosocomiali, respiratorie

Clostridium perfringens (contaminazione fecale)

Frequentemente isolato in campioni clinici, può essere un semplice commensale o dare gravissime malattie. Il potere patogeno è dovuto principalmente a 12 tossine. Diversi tipi di *C. perfringens* producono diverse tossine

La tossina α , la più importante è l'unica prodotta da tutti i tipi di *C. perfringens*, provoca **lisi di eritrociti, leucociti, cellule endoteliali**.

L'enterotossina è termolabile, si lega a recettori dell'epitelio nell'intestino tenue ed altera il trasporto di ioni e fluidi.

Produce diversi enzimi degradativi (proteasi, ialuronidasi, collagenasi, ecc.) che distruggono i tessuti e promuovono la diffusione dell'infezione.

TABELLA 40-3. Fattori di virulenza associati al *Clostridium perfringens*

Fattori di virulenza	Attività biologica
α -tossina	Tossina letale; fosfolipasi C (lecitinasi); aumenta la permeabilità vascolare; emolisina; produce attività necrotizzante, come nella mionecrosi
β -tossina	Tossina letale; attività necrotizzante
ϵ -tossina	Tossina letale; permeasi
ι -tossina	Tossina letale, binaria; attività necrotizzante; adenosindifosfato (ADP)
δ -tossina	Emolisina
θ -tossina	Emolisina labile al calore ed all'ossigeno; citolitica
κ -tossina	Collagenasi; gelatinosi; attività necrotizzante
λ -tossina	Proteasi
μ -tossina	Ialuronidasi
ν -tossina	Desossiribonucleasi; emolisina; attività necrotizzante
Enterotossina	Altera la permeabilità di membrana nell'ileo (citotossica, enterotossica); superantigene
Neuraminidasi	Altera i recettori gangliosidici della superficie cellulare; promuove la trombosi capillare

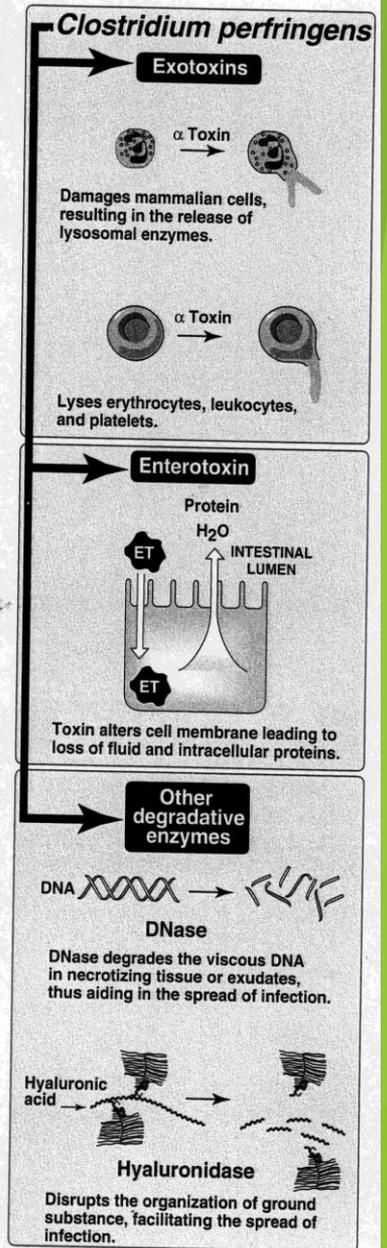


Figure 17.4
Toxins and degradative enzymes produced by *Clostridium perfringens*. [ET = enterotoxin.]

Intossicazione alimentare. Malattia comune, ma sottostimata, con breve incubazione (8-24h) , senza febbre o vomito, ma con crampi addominali e diarrea acquosa. Guarigione in 1-2 giorni. Di solito la cottura non è sufficiente per eliminare le spore, il cibo non viene refrigerato per cui si ha germinazione e proliferazione del C. Il riscaldamento del cibo (a 70°C) può distruggere la tossina.

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

E' necessario un elevato numero di microrganismi

Alimenti a rischio

Carni cotte (arrosti)

Sughi di carne

Salse

*raffreddati
lentamente*



Habitat

Intestino dell'uomo e degli animali

Terreno, polvere

Cause

Cibi conservati a temperatura ambiente

Cibi preparati con largo anticipo



Gangrena gassosa. Le spore introdotte (ferite, traumi, ecc.) germinano se il potenziale tissutale di ossidoriduzione diminuisce (per scarsa circolazione o danno tissutale). Spesso c'è coinfezione con altri batteri, fra cui anaerobi facoltativi che consumano l'ossigeno e favoriscono la crescita del C. Le tossine causano grave morte cellulare e gli enzimi distruggono il tessuto, favorendo la diffusione dell'infezione.

La fermentazione dei carboidrati tissutali produce gas, che si accumula nel sottocutaneo e produce un caratteristico crepitio alla palpazione (da cui il nome). Si formano copiosi essudati, e cattivo odore. Col progredire dell'infezione, l'aumentata permeabilità dei capillari consente alle tossine di diffondere ad altri siti, con effetti sistemici (shock, blocco renale, emolisi intravascolare, ecc.)



FIGURA 37-4. Cellulite da clostridio. I clostridi possono essere introdotti nei tessuti durante un intervento chirurgico o in seguito ad un trauma. Questo paziente ha subito una frattura composta della tibia. Cinque giorni dopo il trauma, la cute ha perso colore e si sono sviluppate bolle e necrosi. Si potevano osservare un essudato sieromematico e produzione di gas nel sottocutaneo, ma non c'era nessuna evidenza di necrosi muscolare. Il paziente guariva senza reliquati. (Da Lambert H, Farrar W, editors: *Infectious diseases illustrated*, London, 1982, Gower).

Cellulite anaerobia. Infezione del connettivo, non invade il tessuto muscolare

Stafilococco Aureo

Unico *S. patogeno* coagulasi +; produce l'esoenzima

S. aureus produce pigmenti carotenoidi, (colorazione giallo-oro alle colonie su agar). E' molto diffuso nella popolazione sana (20% di presenza), localizzato soprattutto su cute, nasofaringe, vagina. Lo stato di portatore può essere persistente.

Produce molti fattori di virulenza

TABELLA 22-3. Fattori di virulenza di *Staphylococcus aureus*

FATTORI DI VIRULENZA	EFFETTI BIOLOGICI
Componenti strutturali	
Capsula	Inibisce la chemiotassi e la fagocitosi; inibisce la proliferazione di cellule mononucleate; facilita l'adesione ai corpi estranei
Peptidoglicano	Fornisce stabilità osmotica; stimola la produzione di pirogeni endogeni (attività endotossina-simile); chemioattraente per i leucociti (formazione di ascesso); inibisce la fagocitosi
Acido teicoico	Regola la concentrazione cationica della membrana cellulare; si lega alla fibronectina
Proteina A	Inibisce la rimozione mediata da anticorpi legando i recettori per Fc di IgG ₁ , IgG ₂ e IgG ₄ ; chemioattraente per i leucociti; anticomplementare
Membrana citoplasmatica	Barriera osmotica; regola il trasporto dentro e fuori dalla cellula; sito di enzimi biosintetici e respiratori
Tossine	
Citotossine (α , β , δ , γ , P-V leucocidina)	Tossiche per molte cellule, inclusi leucociti, eritrociti, macrofagi, piastrine e fibroblasti
Tossine esfoliative (ETA, ETB)	Serino proteasi che rompono i ponti intercellulari nello strato granuloso dell'epidermide
Enterotossine (A-E, G-I)	Superantigeni (stimolano la proliferazione dei linfociti T ed il rilascio di citochine); stimolano la liberazione di mediatori dell'infiammazione nei mastociti, incrementando la peristalsi intestinale e la perdita di liquidi, così come nausea e vomito
Tossina-1 della sindrome da shock tossico	Superantigene (stimola la proliferazione dei linfociti T ed il rilascio di citochine); produce perdita o distruzione cellulare delle cellule endoteliali
Enzimi	
Coagulasi	Trasforma il fibrinogeno in fibrina
Catalasi	Converte il perossido d'idrogeno in acqua ed ossigeno
Ialuronidasi	Idrolizza gli acidi ialuronici del tessuto connettivo favorendo la diffusione degli stafilococchi nel tessuto
Fibrinolisinasi	Scioglie i coaguli di fibrina
Lipasi	Idrolizza i lipidi
Nucleasi	Idrolizza il DNA
Penicillinasi	Idrolizza le penicilline

P-V = Panton-Valentine.

Gastroenterite da avvelenamento alimentare: si tratta di intossicazione non contagiosa, non di infezione. Brevissima incubazione (4-6h), dovuta all' ingestione di cibo contaminato da parte di operatori infettati o attraverso latte/formaggi (specie in maionese, dolci, insalate, gelati o carni salate). Il cibo contaminato deve rimanere a temperatura ambiente perché i batteri producano la tossina. Il successivo riscaldamento può uccidere i batteri, ma non eliminare la tossina. La malattia dura circa 24 ore, con vomito, dolori addominali, nausea, diarrea acquosa, senza febbre. Inutili gli antibiotici. Potenziale uso della tossina come arma batteriologica per ingestione o respirazione (in basse dosi può causare febbre, tosse, diff. respiratorie, in alte dosi può essere molto grave).

Enterocolite: alcuni ceppi di *S. aureus* possono causare infezione del tratto enterico soprattutto in pazienti trattati con antibiotici a largo spettro (eliminazione flora normale, proliferazione St., produzione enterotossina A)

Sindrome st. della cute scottata: (chiamata anche malattia di Ritter) necrosi epidermica acuta in paz suscettibili comincia con un eritema periorale che in 2 giorni diffonde a tutto il corpo. Si formano bolle che contengono liquido chiaro (senza batteri). Guarigione in 7-10 giorni. Positività al “segno di Nikolsky”. [L'impetigine bollosa è una forma localizzata, le vescicole contengono batteri e non c'è segno di Nikolsky]

Nikolsky's sign is a condition caused by a staphylococcal infection in which the superficial layers of skin slip free from the lower layers with a slight rubbing pressure. Large areas of the skin will blister and peel away leaving wet, red and painful areas.



Nikolsky's Sign:
skin reddens, fluid
collects underneath,
and skin rubs off,
leaving raw red base

Aspergillus (Muffa)

Il genere Aspergillus è quello che include il maggior numero di specie tossigene:

- **Asp. flavus**
- **Asp. parasiticus**
- Asp. versicolor
- Asp. ochraceus
- Asp. clavatus

– Il fegato e il rene sono gli organi principalmente colpiti

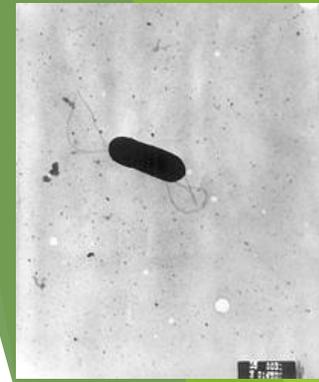
La maggior parte delle **micotossicosi** deriva dal consumo di cibi contaminati

– Il contatto attraverso la pelle con substrati infettati da muffe e l'inalazione di **tossine** prodotte da spore sono altre fonti importanti di esposizione

Le **aflatossine** sono prodotte da Aspergillus flavus e Aspergillus parasiticus

- In particolare, Aspergillus flavus è un contaminante comune in agricoltura. La contaminazione da aflatossine del mangime è stata spesso legata all'aumento di mortalità in animali da allevamento
- Il problema per l'uomo sta nel fatto che prodotti derivati dal latte possono diventare fonte di aflatossine

Listeria monocytogenes



Batterio Gram positivo

Asporigeno

Anaerobio facoltativo

Catalasi positivo ma ossidasi negativo.

Si mantiene vitale anche a 0 °C e fino a temperature prossime a quelle usate per la pastorizzazione, questo fa sì che la sua presenza tra i microrganismi infettanti negli alimenti a consumo umano ne sia tra quelli più presenti ed infestanti

Presenta buona resistenza a condizioni di pH (tra 4,4 e 9,6) e temperatura, caratteristiche che lo rendono un potenziale contaminante di alimenti, anche se conservati in frigorifero.

È un parassita intracellulare, riuscendo a evadere efficacemente dal fagosoma.

Possiede una peculiare proteina con attività enzimatica polimerizzante l'actina (ActA): il batterio si crea una "coda" di actina che gli dà la propulsione necessaria a superare la membrana plasmatica della cellula ospite, passando così direttamente nella cellula adiacente.

Responsabile della **listeriosi**: batteriemie e meningiti

Variabile, ma si stima che sia di 3-70 giorni, con una mediana di 3 settimane; per i sintomi gastrointestinali, si stima invece un'incubazione di poco superiore alle 12 ore.

Si cura con antibiotici, in particolare ampicillina o penicillina

VIA DI TRASMISSIONE

Attraverso i cibi

È la via più comune, sia che la contaminazione sia primaria (cioè che l'alimento si sia contaminato a livello agricolo) che acquisita durante la lavorazione (è facile che gli impianti siano contaminati).

I **formaggi molli**, o in generale quelli non a pasta dura, sono ritenuti più a rischio (compreso per esempio il Gorgonzola), ma altri vettori comuni sono **latte crudo**, o pastorizzato in maniera incompleta, **verdura contaminata** se consumata cruda, carne pronta al consumo (es., paté), **carne cruda**, **gelato**, **salumi crudi** (in alcuni casi il prosciutto è stato contaminato al momento del taglio da macchine poco pulite), salsa guacamole, pollame sia crudo che cotto (specie se in insalata), pesce crudo, in salamoia e affumicato (anche insalate di mare); il batterio è stato isolato anche in meloni venduti già tagliati e in insalate di patate.

Bisogna prestare attenzione al fatto che **questo patogeno cresce anche nei prodotti refrigerati.**