

Microbiologia degli alimenti



Il metabolismo microbico è responsabile di molti processi di trasformazione

I prodotti che ne derivano, possono essere utili o dannosi per l'uomo: nel primo caso l'uomo ha messo a punto tecniche per promuovere o guidare questi processi, nel secondo caso l'obiettivo è stato di prevenire o arrestare le trasformazioni indesiderate

Molti dei cibi che consumiamo sono il risultato di una trasformazione microbica o possono subirla loro malgrado

Analizzando queste trasformazioni, si cercherà di spiegare in quali condizioni avvengono, quali microrganismi intervengono e in che cosa consiste l'intervento dell'uomo



Caratteristiche dei Lattobacilli

Hanno forma bastoncellare o coccica.

Sono positivi alla colorazione di Gram.

Non sono sporigeni, catalasi negativi, anaerobi ma ossigeno tolleranti.

Fermentano gli zuccheri con produzione di acido lattico come principale prodotto

Si dividono in omofermentanti o eterofermentanti

Acidurici o anche acidofili

Hanno esigenze nutrizionali complesse richiedendo per il loro sviluppo aminoacidi, purine, pirimidine e vitamine. Ne esistono oltre 100 specie

Al gruppo dei batteri lattici attualmente sono ascrivibili moltissimi generi, tra cui le specie e i ceppi maggiormente utilizzati nelle fermentazioni alimentari e/o come microrganismi probiotici, appartengono ai generi *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium* ed *Enterococcus*.

Genere	Forma ^b	CO ₂ da glucosio	Crescita a T (°C)		Crescita con NaCl (%)		Crescita a pH		Acido lattico
			10	45	6,5	18	4,4	9,6	
<i>Aerococcus</i>	CT	-	+	-	+	-	-	+	L
<i>Pediococcus</i>	CT	-	±	±	±	-	+	-	L,DL
<i>Tetragenococcus</i>	CT	-	-	-	+	+	-	+	L
<i>Enterococcus</i>	C	-	+	+	+	-	+	+	L(+)
<i>Lactococcus</i>	C	-	-	-	-	-	±	-	L(+)
<i>Leuconostoc</i>	C	+	-	-	±	-	±	-	D(-)
<i>Oenococcus</i>	C	+	-	-	±	-	±	-	D(-)
<i>Streptococcus</i>	C	-	-	±	-	-	-	-	L
<i>Vagococcus</i>	C	-	-	-	-	-	±	-	L
<i>Lactobacillus</i>	B	±	±	±	±	-	±	-	D,L,DL
<i>Carnobacterium</i>	B	-	+	-	ND ^o	-	ND	-	L(+)
<i>Weissella</i>	B/C	+	-	-	±	-	±	-	D,DL

La maggior parte delle specie di lattobacilli è molto esigente da un punto di vista nutrizionale, richiedendo per la crescita substrati complessi contenenti oltre alle fonti di carbonio e azoto, composti fosforati e solforati

Sono largamente distribuiti in natura ritrovandosi in differenti habitat: la cavità orale, il tratto intestinale umano ed animale

Altri habitat comuni sono rappresentati da vegetali, insilati, suolo, acqua, letame, cereali, alimenti fermentati (latte, carne e vegetali)

Possono crescere in un range di temperatura compreso tra 5°C e 53°C con valori ottimali di 30-40°C

Sono acidurici, con un pH ottimale di crescita di 5,5-5,8 potendo crescere anche a pH<5

Classificazione

In base alla presenza o all'assenza degli enzimi responsabili del tipo di omo o etero-fermentazione degli zuccheri, rispettivamente gli enzimi fruttosio-1,6-difosfato aldolasi e la fosfochetolasi, le specie appartenenti al genere *Lactobacillus* sono divise in 3 gruppi fisiologici

Gruppo I: Lattobacilli omofermentanti

Gruppo II: Lattobacilli eterofermentanti facoltativi

Gruppo III: Lattobacilli eterofermentanti obbligati

Gruppi fisiologici

Gruppo I: Lattobacilli omofermentanti

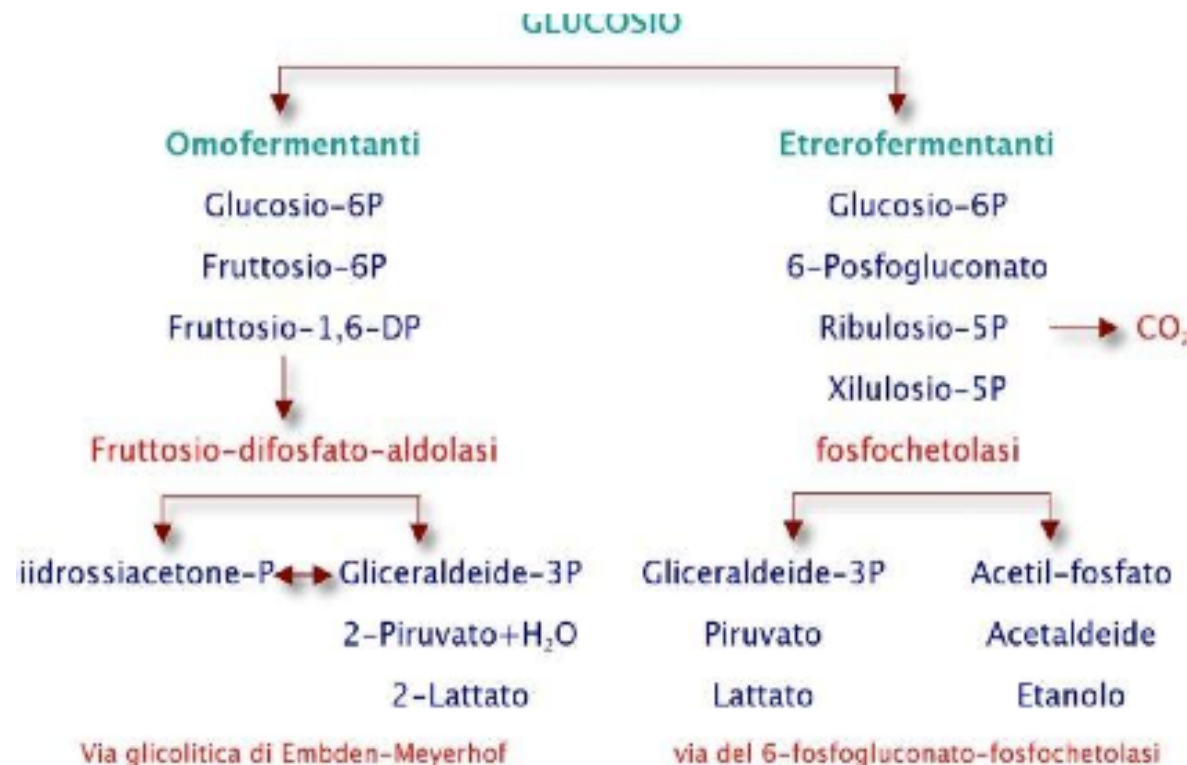
Appartengono a questo gruppo specie che fermentano gli esosi quasi esclusivamente ad acido lattico attraverso la via glicolitica di Embden-Meyerhof e che sono incapaci di fermentare i pentosi e il gluconato

Gruppo II: Lattobacilli eterofermentanti facoltativi

Le specie del gruppo fermentano gli esosi attraverso la via di Embden-Meyerhof o glicolisi e producono quasi esclusivamente acido lattico. Tuttavia in presenza limitata di glucosio, producono lattato, acetato, etanolo o acido formico; sono in grado di fermentare i pentosi a lattato ed acetato per mezzo di una fosfochetolasi inducibile dalla presenza di pentosi

Gruppo III Lattobacilli eterofermentanti obbligati

I lattobacilli appartenenti a questo gruppo fermentano gli esosi a lattato, acetato (o etanolo) e CO₂ attraverso la via metabolica del fosfogluconato, mentre i pentosi sono fermentati, sempre mediante l'intervento dell'enzima fosfochetolasi a lattato e acetato



Attività metaboliche

Fermentazione dei carboidrati

Azione sulle proteine

Produzione di sostanze aromatiche

Produzione di sostanze ad azione antimicrobica

Attività proteolitica

I batteri lattici possono utilizzare, in funzione del loro corredo enzimatico proteolitico, una serie di composti proteici per soddisfare le loro esigenze in aminoacidi

L'esigenza in aminoacidi è ceppo-dipendente e può variare da 4 fino a 14 diversi aminoacidi

Nel latte la crescita dei LAB dipende dai loro enzimi proteolitici

Le caseine costituiscono circa l'80% delle proteine nel latte: α s1, α s2, β e k-caseina. Le caseine contengono tutti gli aminoacidi necessari alla crescita dei LAB

La quantità di aminoacidi liberi e peptidi nel latte è molto bassa

Componenti del sistema proteolitico

PROTEINASI

Sono localizzate a livello della parete cellulare e appartengono al gruppo delle serina-proteasi. Scindono le proteine in peptidi che sono trasportati nella cellula da un sistema di trasporto degli oligopeptidi. Sono classificate in base a pH e temperature ottimali ovvero alla specificità del substrato

PEPTIDASI

Possono essere sia extra che intra-cellulari e idrolizzano i peptidi in amminoacidi

CARRIERS

Sistemi enzimatici di membrana che operano il trasporto di peptidi e amminoacidi all'interno della cellula

Impieghi dei Lattobacilli

Produzione di alimenti fermentati: crauti, olive verdi, sottaceti, insaccati, prodotti da forno, formaggi, bevande fermentate lattiche.

Alterazione di alimenti: birra, frutta, pesce marinato, latte, carne e prodotti carnei, bevande fermentate.

Attività probiotica: alcune specie sono capaci di apportare benefici alla salute umana: *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. rhannosus*, *Lb. salivarius*, *Lb. crispatus* e *Lb. plantarum*.

Possono essere considerati come i classici batteri “buoni” in quanto sono coinvolti positivamente in diversi processi produttivi riguardanti soprattutto il settore agro-alimentare e quello dietetico-farmaceutico

Per poter vivere non richiedono aria in quanto non sono in grado di respirare, ma fermentano gli zuccheri semplici (glucosio, lattosio, ect.), dando origine ad acido lattico, acidificando quindi l’ambiente in cui si sono sviluppati

Questa caratteristica attività metabolica, la fermentazione lattica, viene da lungo tempo sfruttata dall’uomo a proprio beneficio, forse anche da alcuni nostri progenitori alcune centinaia di migliaia di anni. Tuttavia lo sfruttamento cosciente e razionale dei batteri lattici è iniziato soltanto cent’anni fa

Alcuni alimenti che subiscono la fermentazione lattica, assumono caratteristiche chimico-fisiche, organolettiche, sensoriali e nutritive differenti, a volte anche migliorate, da quelle del prodotto di partenza. Questi alimenti fermentati presentano inoltre una maggiore conservabilità e talora anche un più alto grado di sicurezza d'uso

I batteri lattici, tra cui *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, possono essere anche responsabili dell'acidificazione del latte, evento comunemente considerato come un processo alterativo

Se invece governato in modo opportuno, questo processo porta all'ottenimento di lattici fermentati come lo yogurth

Anche la produzione dei formaggi altro non è che un differente tipo di trasformazione del latte, dove vi è pure una decisiva, indispensabile partecipazione dei batteri lattici

Lo stesso caratteristico aroma del burro è dovuto alla presenza del diacetile, che è un metabolita di alcuni batteri lattici, che vengono a svilupparsi durante la fase di maturazione della crema del latte

Alcuni batteri lattici interessanti per il settore lattiero-caseario, sono pure in grado di produrre delle sostanze, le batteriocine, attive contro batteri patogeni, come *Listeria monocytogenes*, che possono essere veicolati dagli alimenti

Le batteriocine vengono prodotte industrialmente, mediante processi di fermentazione

Altri ceppi sono produttori di diverse sostanze proteiche, le nisine, con attività antibatterica; vengono aggiunti, infatti, ai formaggi fusi, come i formaggini, per la loro capacità di prevenire o bloccare l'attività alterativa di batteri sporigeni eventualmente presenti

Sono tra i pochi antibiotici che per legge possono essere addizionati agli alimenti

La caratteristica attività fermentativa dei batteri lattici, viene pure sfruttata per conservare alimenti di origine vegetale come i crauti, le olive, i cetrioli

Anche l'ottenimento degli insilati è dovuto all'attività di specifici batteri lattici: essi vengono preparati per poter alimentare con foraggio "fresco", cioè ad alto contenuto di acqua, il bestiame di allevamento, ed in particolare le bovine da latte, durante la stagione invernale

In questi casi l'attività fermentativa viene sfruttata soprattutto per conservare prodotti alimentari con un elevato tenore di acqua, che andrebbero incontro a fenomeni di putrefazione dovuti all'intervento di particolari microbi

I batteri lattici trovano impiego anche nella preparazione di prodotti da forno

Per ottenere panettone, pandoro, cracker, o pane con migliori caratteristiche sensoriali (sapore, aroma), devono necessariamente intervenire, oltre al lievito, anche alcuni batteri lattici.

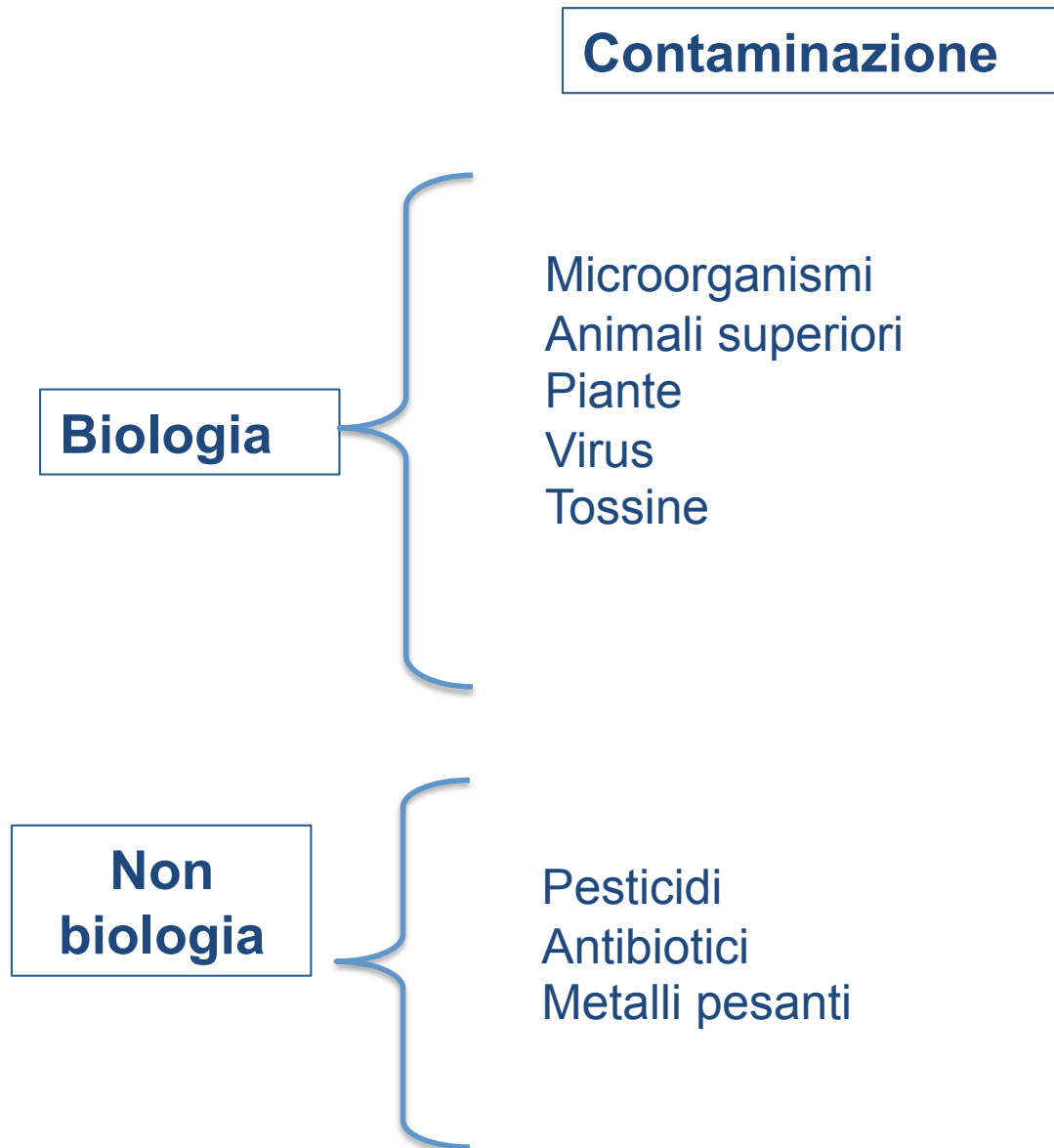
Anche nella produzione di vino in molti casi, specie per i vini rossi destinati all'invecchiamento, vi è l'intervento dei batteri lattici, in particolare di *Leuconostoc oenos*, che è in grado di migliorare il vino trasformando l'acido malico in acido lattico

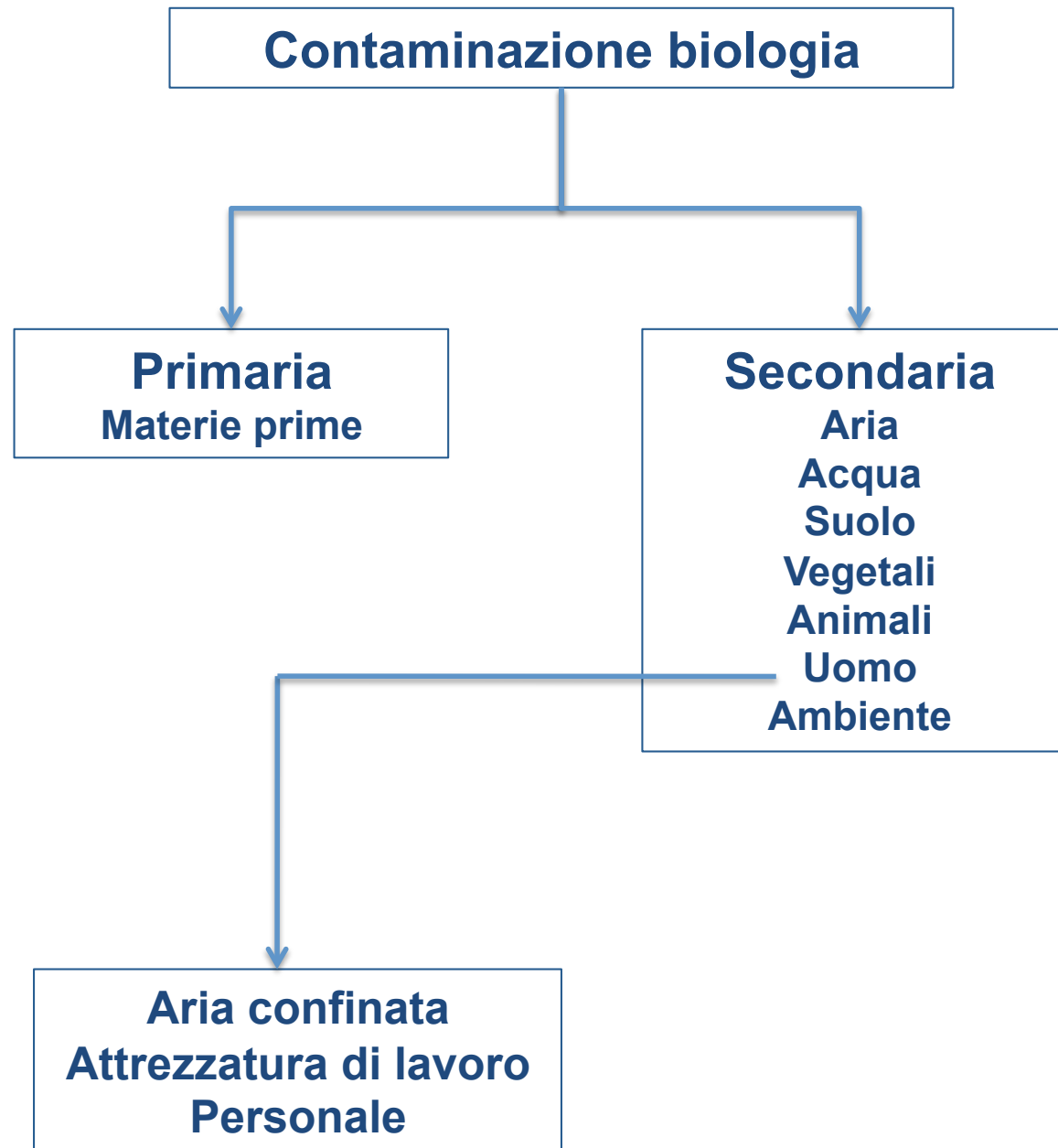
Questo intervento risulta utile quando vi è un eccesso di ac. malico nei vini

Persino per alcuni insaccati i processi di maturazione sono governati positivamente anche da determinati tipi di batteri lattici

Tutti questi processi fermentativi attualmente non vengono più lasciati al caso, ma vengono gestiti mediante l'impiego di selezionate colture di avvio (colture starter), che apposite industrie o laboratori producono e vendono agli operatori dei vari settori

Fonti e tipologia di contaminazione degli alimenti





CONTAMINAZIONE NON BIOLOGICA

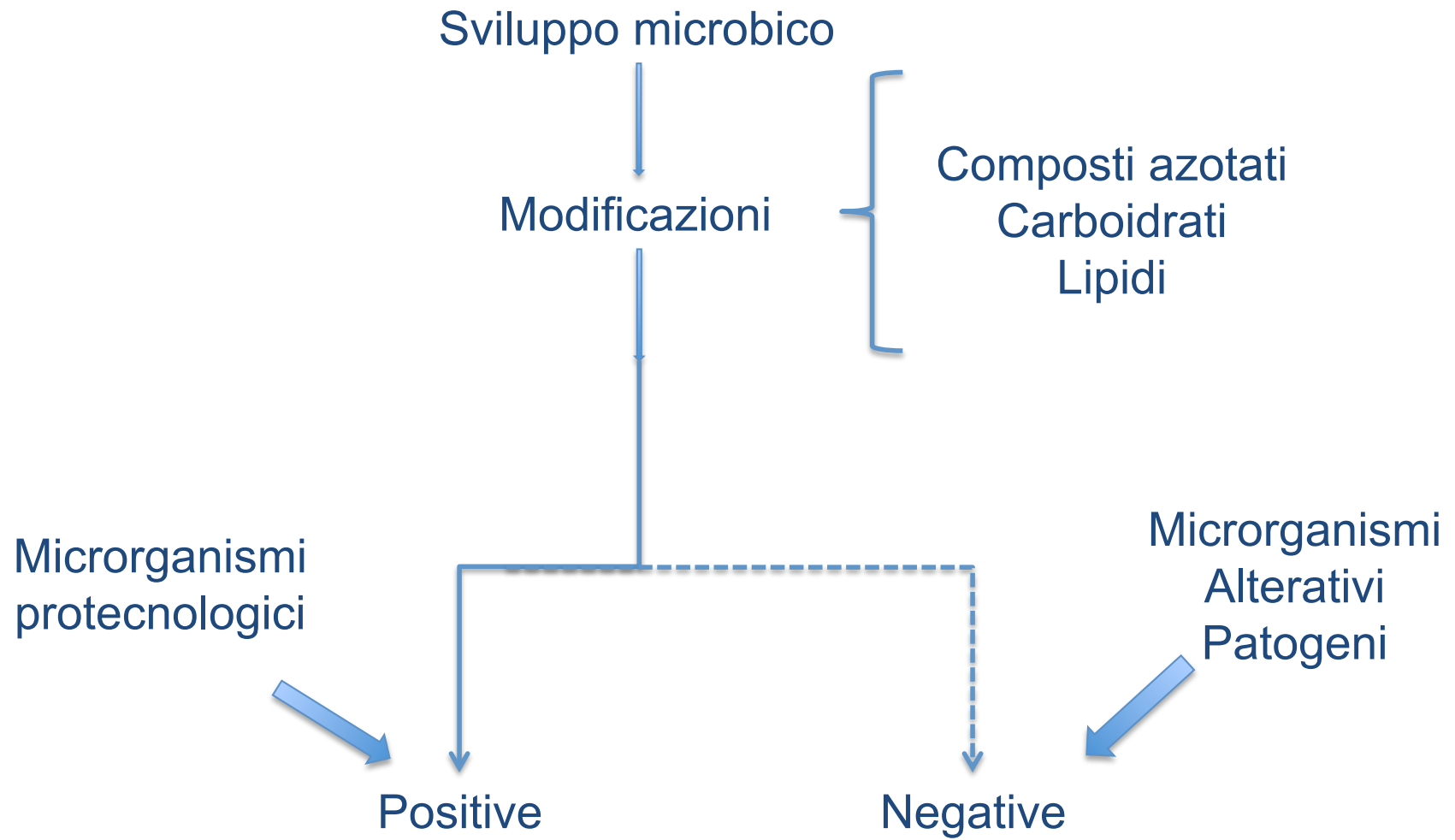
Sostanze chimiche diverse

- **Pesticidi**
- **Antibiotici – Estrogeni**
- **Metalli pesanti (Cd, Hg, Cr, Pb)**
- **Composti radioattivi**

Residui di detergenti

Materiali estranei non biologici

- **Vetro**
- **Fibre sintetiche**
- **Fibre metalliche**
- **Plastica**



INDICI DI TIPICITA' (microrganismi protecnologici): caratterizzano un determinato prodotto alimentare

INDICI DI QUALITA': forniscono informazioni circa il rispetto delle norme igieniche e di pulizia durante la lavorazione. Influiranno sulla conservabilità e sulle caratteristiche organolettiche del prodotto (shelf-life)

INDICI DI SALUBRITA': rappresentano un rischio per il consumatore in quanto responsabili di malattie alimentari

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

MICRORGANISMI INDICATORI DI QUALITA': indicano con il loro numero espresso per grammo o per millilitro le caratteristiche di pulizia e igiene delle tecniche di manipolazione e conservazione che il prodotto ha subito. Il valore di questi indici ne caratterizza la conservabilità fino al momento del consumo, nonché le caratteristiche tipiche. I più comuni sono la CBT, coliformi, muffe.

Un microrganismo per essere considerato indicatore di qualità deve:

- essere presente e poter essere determinato negli alimenti per i quali deve essere stabilita la qualità
- la crescita ed il numero deve essere strettamente correlata alla qualità globale dell'alimento
- deve poter essere determinato facilmente e con rapidità
- deve essere facilmente distinto da altri microrganismi
- la crescita non deve essere contrastata da altri componenti o microrganismi presenti

Evoluzione nel tempo degli indici di qualità

Moltiplicazione

provocano alterazioni più o meno manifeste che modificano il prodotto dal punto di vista organolettico

Stasi

prodotto è accettabile

Riduzione

si registra un miglioramento della qualità globale del prodotto evidenziato da un allungamento dei tempi di conservazione.

MICROORGANISMI INDICATORI DI SALUBRITA'

Sono rappresentati da quei microrganismi il cui numero per grammo è un parametro di rischio per il consumatore; vengono definiti patogeni e sono responsabili di infezioni e intossicazioni alimentari. La loro moltiplicazione nell'alimento aumenta il rischio di malattia, mentre la loro diminuzione può migliorare la sicurezza d'uso.

Devono rispondere ai seguenti requisiti:

- facile e rapida individuazione**
- se non chiaramente patogeni, possederne i medesimi requisiti di crescita e di sviluppo**

Raramente gli indicatori di salubrità causano percettibili alterazioni delle caratteristiche organolettiche.

FATTORI CHE CONTROLLANO LA CRESCITA MICROBICA

Fattori intrinseci

Struttura

Disponibilità di nutrienti

Presenza di sostanze antimicrobiche naturali

Disponibilità di acqua

pH

Potenziale redox

Fattori estrinseci

Temperatura/Tempo

Umidità dell'ambiente

Modalità di confezionamento (gas)

Fattori di processo

Trattamenti termici

Utilizzo di radiazioni

Addizione di sostanze chimiche

Fenomeni di competizione microbica (starter)

LA TEMPERATURA


Psicrofili	-5	0	30
Psicotrofi	0	15-25	37
Mesofili	10	30-37	45
Termotrofi	20	45	50
Termofili	40	55	65

Temperature superiori alla massima di crescita provocano la morte delle cellule (azione microbicide) a seguito di:

- Danni irreversibili a carico di strutture vitali
- Fenomeni di coagulazione delle proteine
- Rottura della parete

Fattori che influenzano la resistenza termica

- Tipo di cellula
- Età della cellula
- Temperatura di crescita
- Contenuto in acqua
- Composizione substrato
- pH
- Presenza sostanze inibenti



**Tenore in grasso
Presenza di sali
Presenza di carboidrati
Presenza sostanze proteiche**

Scala di resistenza termica

Minima resistenza



Gram negativi Lieviti Muffe
Bastoncini Gram positivi
Cocchi Gram positivi
Microrganismi capsulati
Spore eumiceti
Spore batteriche

Massima resistenza

La resistenza termica è influenzata da:
Stato fisiologico cellula
pH
Presenza di sostanze con azione protettiva

Sterilizzazione

Trattamento termico superiore ai 100 °C che comporta la distruzione dei microrganismi presenti, spore comprese

Sterilità commerciale (stabilità): Trattamento che provoca la riduzione di 12 cicli logaritmici delle spore di un batterio altamente resistente (*C. botulinum*) in un minuto. Le eventuali spore rimaste devono essere in stasi, cioè non in grado di germinare in condizioni di normale conservazione

Sterilità biologia: Assenza di microrganismi

CONSERVE

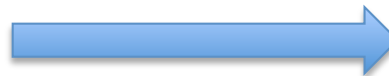
Alimenti confezionati sottoposti ad un trattamento che garantisca l'inattivazione degli enzimi microbici o dei loro prodotti metabolici tossici, confezionati in contenitori a chiusura ermetica, impermeabili ai gas e ai microrganismi che devono mantenersi stabili a temperatura ambiente sino all'apertura (normali condizioni di impiego).

**Conserve di carne e di pesce
Alimenti prima infanzia
Alimenti per piccoli animali
Conserve vegetali non acide**



Sterilità biologica

**Conserve vegetali acidi
Latte**



Sterilità commerciale

Pastorizzazione

Trattamento termico inferiore ai 100 °C che comporta la distruzione delle forme patogene e parzialmente della microflora saprofito (gram- e gram+). Sopravvivono le spore batteriche ed in parte quelle sessuate degli eumiceti

Microrganismi resistenti

Termodurici

Semiconserve

Per la loro conservazione è necessario rispettare la catena del freddo

TECNOLOGIE EMERGENTI

Alte pressioni idrostatiche (400-800 MPA a 20°C x 0,5-5min), il prodotto da trattare viene chiuso in un involucro sigillato di materiale flessibile circondato da liquidi

Corrente elettrica ad alto voltaggio campi pulsati con forza da 20 a 70 kVcm⁻¹ con durata degli impulsi tra 1 e 5 µ sec. L'inattivazione microbica avviene a seguito della permeabilizzazione della membrana sottoposta continuamente a ripetuti colpi e che si rompe quando il voltaggio attraverso di essa raggiunge 1 volt lasciando fuoriuscire il materiale citoplasmatico

Manotermosonicazione, prevede l'uso simultaneo di calore e ultrasuoni a bassissime sovrappressioni, mai oltre 10 atm

Basse temperature

Refrigerazione (0-10°C)

Batteriostatica

Rallentamento sino all'arresto dell'attività enzimatica

Diminuzione della disponibilità di acqua

Congelamento (< 0°C)

Alterazioni irreversibili della cellula

Temperature basse rappresentano una situazione sfavorevole per una cellula microbica, che risponde a tale disagio con:

Modifiche strutturali

aumento del contenuto in acidi grassi insaturi

Modifiche fisiologiche

riduzione della velocità di crescita

riduzione del trasporto di soluti

Aumento della disponibilità di ossigeno

Produzione di sostanze extracellulari (pigmenti, polisaccaridi)

Modificazione dei prodotti del metabolismo

Modifiche morfologiche

Aumento delle dimensioni cellulari

Formazione di flagelli

Specie	T °C minima
<i>Salmonella</i> spp.	+6 °C
<i>Salmonella</i> (in presenza di NaCl)	+10 °C
<i>Clostridium perfringens</i>	+15 °C (cresce lentamente) a 6.5 °C cessa la crescita
<i>Staphylococcus aureus</i> produzione di tossina	+7 °C (cresce lentamente) +20 °C
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+5 °C
<i>Bacillus cereus</i>	+7 °C
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+1 °C/+3 °C
<i>Listeria monocytogenes</i> Muffe tossinogene	+4/+5 °C
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo E e ceppi non proteolitici)	+3.5/+5 °C
<i>Clostridium botulinum</i> (ceppi proteolitici)	+10 °C

L'efficacia del trattamento di congelamento dipende:

Microrganismo

Fase di crescita

Temperatura di congelamento

Velocità di congelamento

Tempo di conservazione allo stato congelato

Modalità di scongelamento

Ripetuti congelamenti e scongelamento

Il congelamento provoca:

Danni letali

Danni sub-letali

Meccanico strutturali

Cellule danneggiate (cellule stressate)

Disidratazione

Temperature durante il trasporto di sostanze alimentari allo stato congelato

Gelati alla frutta e succhi di frutta	-10 °C
Altri gelati	-15 °C
Prodotti della pesca congelati e surgelati	-18 °C
Burro o altre sostanze grasse	-10 °C
Uova sgusciate, pollame, selvaggina	-10 °C
Carni	-10 °C
Tutte le altre sostanze alimentari	-10 °C

Radiazioni

Emissione e propagazione di energia attraverso lo spazio o la materia

Radiazioni non ionizzanti

Onde sonore

Onde elettriche

Microonde

Raggi infrarossi

Raggi ultravioletti

Radiazioni ionizzanti

Raggi γ

Raggi X

Generatori di elettroni

Attività dell'acqua

Attività dell'acqua $a_w = P/P_o$

Rapporto tra la tensione di vapore dell'acqua del substrato e quella dell'acqua pura alla medesima temperatura

Il suo valore è influenzato da:

Temperatura

Umidità dell'ambiente

Stato fisico dell'acqua

Intervallo di a_w a 20 °C	Alimenti	Microrganismi
1-0.95	Alimenti freschi, alimenti sino al 20% di zucchero o 3% di sale	Tutti i batteri e i lieviti
0.95-0.91	Formaggi a media stagionatura, alimenti sino al 55% di zucchero e 12% di sale	La maggior parte dei batteri lattici, <i>Bacillus</i> spp., alcuni lieviti e muffe
0.91-0.87	Salumi e formaggi stagionati: con il 65% di saccarosio o 15% di sale	Micrococcaceae e lieviti
0.87-0.80	Farina, riso con 15-17% di umidità, latte condensato	<i>Staphylococcus</i> in cond. aerobie, lieviti, muffe, batteri alofili
0.80-0.75	Alimenti con il 26% di sale, gelatine di frutta, marmellata	Batteri e lieviti alofili/osmofili
0.75-0.65	Formaggi molto stagionati da grattugia	Lieviti e muffe alofile
0.65-0.60	Dolciumi e caramelle con 8% di acqua, cioccolato, frutta secca con 15-20% umidità	Poche forme xerofile di lieviti e muffe
<0.60	Spezie, uova in polvere con 5% di acqua, latte in polvere con 2-3% di acqua, biscotti secchi, fette biscottate, vegetali essiccati	Nessuna crescita microbica

✓ $a_w > 0.95$

Possibile qualsiasi tipo di alterazione

✓ $0.80 < a_w < 0.95$

Alterazioni da parte di muffe in 1-2 settimane

✓ $a_w = 0.75$

Ridotta possibilità di alterazioni

✓ $a_w = 0.70$

Difficile possibilità di alterazioni

✓ $a_w = 0.65$

Nessuna alterazione e comunque sono necessari tempi molto lunghi

pH – ACIDITA'

Il pH interno della cellula microbica è controllato da un SISTEMA TAMPONE localizzato a livello di membrana

L'azione batteriostatica e battericida dell'ambiente acido è determinata dalla combinazione di due differenti effetti:

**concentrazione ioni H⁺
effetto specifico delle molecole di acido**

L'azione antimicrobica dell'acidità si manifesta attraverso:

**inibizione della crescita
riduzione della resistenza termica**

Alimenti a bassa acidità fino pH 5.3

Piselli, fagioli, carne, pesce, pollo, latte, formaggio, uova, patate, crostacei, molluschi

Alimenti a media acidità $5.3 < \text{pH} < 4.5$

Spinaci, asparagi, barbabietole, cetrioli, latticello acido, crema acida

Alimenti acidi $4.5 < \text{pH} < 3.7$

Pomodori, pere, mele, ananas, yogurt, fichi

Alimenti molto acidi $\text{pH} < 3.7$

Crauti, ribes, arance, limoni, aceto, vino, fragole, albicocche, prugne, uva

Batteri



Prossimo neutralità

Patogeni



Facilmente inibiti dall'ambiente
acido



pH= 4,6 valore di sicurezza

Alteranti



Meno esigenti

Eumiceti



Ambiente più acido

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

INFEZIONE

Alimento contaminato



Necessità della moltiplicazione batterica nell'alimento, prima del consumo

NO

Per *S.thypi*, *Shigella*,
V.cholerae

SI

Per le Salmonelle minori



Infezione intestinale

(microrganismi presenti, in grado di moltiplicarsi nel lume intestinale)



Sindromi

Enterotossica

Colera

Enterite da E.coli enterotossica

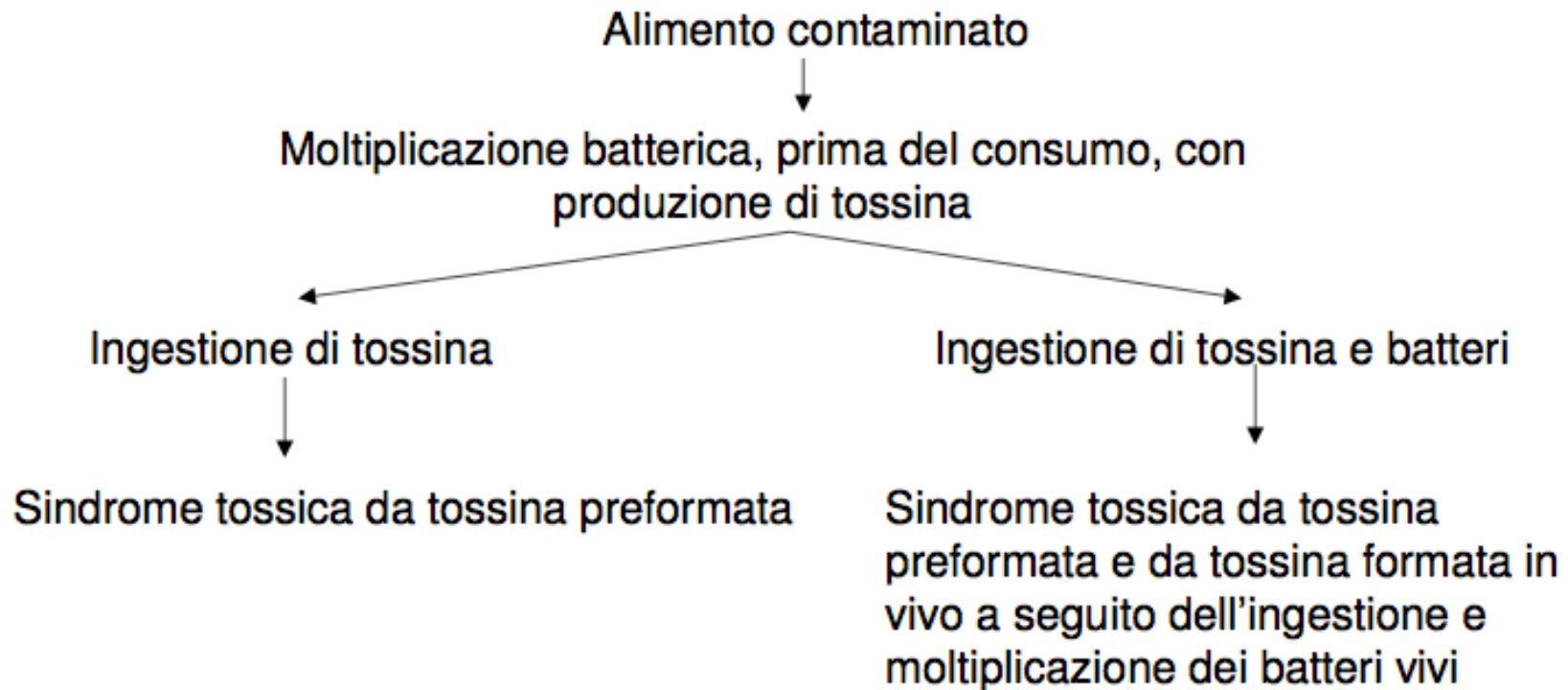
Enteroinvasiva

Salmonella spp

Yersinia enterocolitica

E. coli enteroinvasivo

INTOSSICAZIONE



Intossicazione alimentare

Síndrome da

Enterotossina stafilococcica

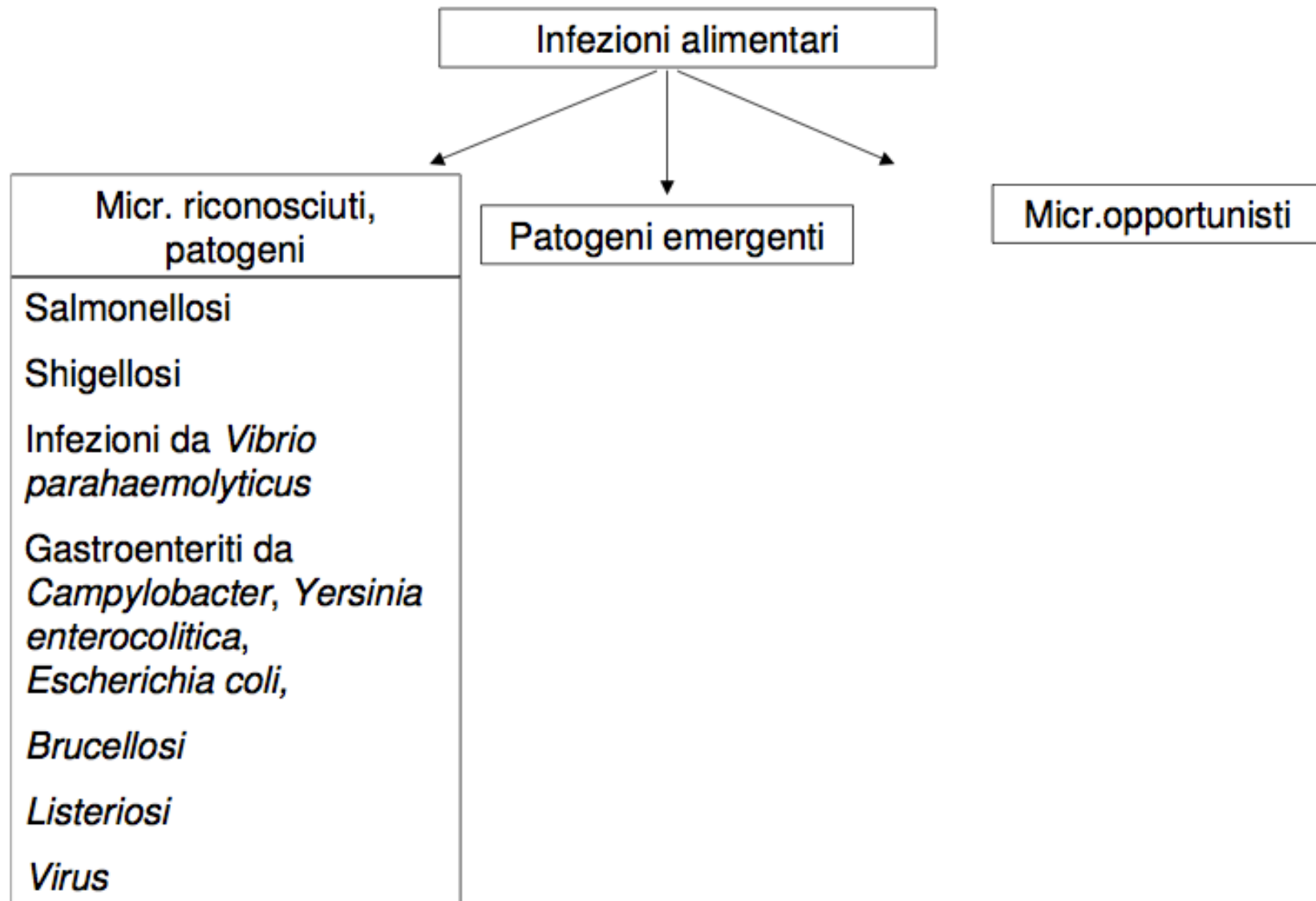
Esotossina botulinica

Tossinfezione alimentare

Síndrome da

Tossina di *B.cereus*

Tossina di *Cl. perfringens*



Salmonellosi

Gastroenteriti causate dall'ingestione di microrganismi vivi appartenenti al genere *Salmonella*, in particolare a specie che non hanno habitat umano (*Salmonelle* minori) ma con le quali l'uomo viene a contatto attraverso l'ambiente e numerosi animali domestici.

Per determinare la gastroenterite tali *Salmonelle* devono venire ingerite in numero elevato (10⁴- 10⁸ ufc/g) a seconda del loro potere infettante e della sensibilità individuale dell'ospite.

Appartenenti alla Famiglia delle Enterobacteriaceae, bastoncini mobili, Gram negativi, aerobi facoltativi che non fermentano il lattosio, dotati di diversi tipi di antigeni.

Temp. di crescita tra i 6 e 45 °C, pH tra 4.1 e 9.

L'aw minima è compresa tra 0,93-0,95.

La gastroenterite che si manifesta con febbre può avere anche decorso molto grave, soprattutto nei bambini piccoli e anziani, ha un periodo di incubazione tra 12-24 ore

Shigellosi

Sono in genere legate all'ingestione di acqua contaminata con *Shigella*, specie responsabile di varie forme di dissenteria bacillare.

Le più comuni infezioni intestinali sono sostenute dalla specie *S. sonnei* e *S. flexneri*, e sono caratterizzate da diarrea con sangue e muco, febbre e dolori addominali.

E' una delle più frequenti diarree del viaggiatore, tipica delle comunità in cui scarseggia l'igiene.

Bastoncini Gram negativi, aerobi/anaerobi facoltativi, la dose minima infettante varia da $1-10^4$ ufc/g a seconda della specie, della vitalità, della sensibilità e delle condizioni dell'ospite. Moltiplicandosi nell'intestino produce una tossina (Shiga tossina) citotossica, enterotossica, e neurotossica.

Infezione da *Vibrio parahaemolyticus*

Bastoncino piegato a virgola Gram negativo, anaerobio facoltativo, intervallo di temperatura tra 10 e 42 °C, pH tra 5 e 8.

E' stato isolato da molti prodotti ittici. Non tutti i ceppi sono patogeni, solo quelli che lisano i globuli rossi del sangue (ceppi Kanagawa positivi).

E' necessaria l'ingestione di una notevole quantità di cellule (10^5 - 10^7) per avere la comparsa dei sintomi.

L'infezione è caratterizzata da nausea, vomito, dolori addominali e diarrea. Questa gastroenterite è diffusa tra quelle popolazioni con abitudini di consumo di prodotti ittici crudi o poco cotti

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

Il genere *Campylobacter* comprende due specie: *C. jejuni* e *C. coli*, patogene per l'uomo.

L'infezione si manifesta, dopo un periodo di incubazione variabile da 2 a 11 giorni, con diarrea, crampi addominali preceduti da febbre che poi scompare. La fonte maggiore di infezione sembra essere il pollame e il latte non pastorizzato.

Yersinia enterocolitica è un piccolo bastoncino Gram negativo mobile a 22 ma non a 37°C, psicrotrofo.

E' stato spesso associato a una forma di gastroenterite in cui i sintomi principali sono rappresentati da dolori addominali e diarrea, oppure provoca una sintomatologia simile a quella di un attacco di appendicite. La sorgente di infezione più comune è rappresentata da maiali, bestiame, conigli, roditori.

È stata isolata da uova, carne cruda di animali diversi, pollame, ortaggi. L'infezione è legata all'ingestione di almeno 10^6 ufc/g.

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

Escherichia coli, bastoncino Gram negativo, capace di fermentare il lattosio con produzione di gas. Alcuni ceppi sono enteropatogeni e possono causare gravi gastroenteriti. Questi ceppi producono due enterotossine, una resistente al calore e una sensibile. Molti alimenti sono incriminati quali vettori di E.coli e delle rispettive enterotossine, come carne, pollame, crema, latte e formaggi.

Sono necessarie molte cellule di E. coli (10^6 - 10^8) per produrre tossine in quantità sufficiente a determinare la gastroenterite, soprattutto in bambini , anziani, e individui immunocompromessi.

Escherichia coli

Ceppi EPEC: responsabili di una grave forma di diarrea infantile a carattere epidemico. Colonizza a livello intestinale.



Fattore di Aderenza (EAF), proteina di membrana sintetizzata a livello plasmidico

EPEC I possiedono EAF

EPEC II privi di EAF, molto più diffusi

Ceppi ETEC: responsabili della diarrea del viaggiatore aderisce al piccolo intestino (8 fibre di aderenza)



Tossina termolabile LT

Tossina termostabile ST (100°C per 15')

Ceppi EIEC: ceppi caratterizzati da una virulenza enteroinvasiva . Invadono l'intestino dove provocano ulcerazioni. Carattere portato a livello plasmidico. La dose infettiva è molto alta e la trasmissione interpersonale è apparsa rara

Ceppi EHEC (O157:H7): responsabile della colite enteroemorragica. Il serbatoio è l'intestino bovino, la produzione di tossina avviene nel grande intestino, ma l'azione tossica si esplica nel colon



Veratossina 1 VT1

Veratossina 2 VT2

Si contrae in seguito al consumo di alimenti crudi contaminati, ma anche da persona a persona

Decorso molto lungo

T_{ott} 37°C T_{min} 6.5°C

aw_{min} 0.97 (6,5% NaCl). 37°C

aw_{min} 0.97 (6,5% NaCl)

Distrutta a 72°C per 20 secondi

Sopravvive al congelamento se le condizioni del substrato sono ottimali

Listeriosi

L'agente eziologico è rappresentato da *Listeria monocytogenes*.

Si manifesta sotto forma di meningite, aborti, setticemia e sintomi di tipo influenzale, mai a carico dell'apparato gastrointestinale. Si ritiene che la malattia sia mortale nel 30% dei casi, soprattutto quando diagnosi e terapia non sono immediate. Bastoncino, Gram positivo, psicrotrofo (cresce fino a +1°C), pertanto la refrigerazione degli alimenti può portare a un alto livello di contaminazione, anche se la presenza iniziale è bassa.

E' stata ritrovata nel latte crudo, nei formaggi, anche in prodotti con latte pastorizzato, nelle carni e derivati, nei prodotti della pesca, negli ortaggi, nelle uova sgusciate, in acque, liquami, feci e materiali patologici provenienti da uomo e animali. E' un microrganismo resistente alla disidratazione(cresce fino a valori di $aw=0,93$ e con il 15% di NaCl e resiste nella maggior parte dei casi fino a valori di $aw=0,86$ e al 25% di NaCl) e alla salagione. Max di temp è 45°C, opt 30/37°C, può crescere a valori di pH compresi tra 4,8 e 9 con opt tra 6-7.

Particolarmente esposte sono le donne gravide, i neonati, i bambini molto piccoli, gli anziani, immunodepressi.

La trasmissione avviene per via alimentare ma anche per contatto diretto tra l'uomo e le varie fonti del microrganismo(terreno, aria, polvere, insetti. La legislazione prescrive che L. mon. sia assente per il latte e derivati in 25 ml o g e per gli altri alim non sup a 100 ufc/g come valore massimo accettabile

Intossicazioni batteriche



Botulinica



stafilococcica

Botulismo

Il responsabile eziologico è il *Clostridium botulinum* bastoncino del genere *Clostridium*, Gram +, sporigeno, anaerobio obbligato, mobile. Se ne conoscono 7 sierotipi diversi designati con le lettere A, B, C, D, E, f, G che producono altrettanti tipi di tossine. A, B ed E sono i responsabili del botulismo umano, mentre gli altri sono importanti come agenti del botulismo animale. Opt. Di temp varia tra i 30 e 37°C con min di 10 °C. Il tipo E riesce a svilupparsi fino a 3,3°C. Viene inibito da NaCl all'8% e da aw inferiori a 0,94. La termoresistenza delle spore è variabile: quelle dei tipi A e B possono resistere 6 ore a 100°C, mentre quelle del tipo E sono inattivate a + 80°C per 15 min. La tossina è di natura proteica, blocca le sinapsi impedendo il rilascio dell'acetilcolina che regola le contrazioni muscolari, per cui, dopo i primi sintomi di tipo gastroenterico, si hanno manifestazioni neurologiche come disturbi alla vista, della deglutizione, della parola e della respirazione, costrizione della trachea, paralisi della muscolatura involontaria e morte. Essa è fortemente acidoresistente (supera la barriera gastrica) ma instabile in ambiente alcalino: già a pH 6,8 non è più stabile e a pH 4,5 non viene più prodotta, quindi le conserve a valore o valore inferiore sono assolutamente esenti da questo problema. Le varie tossine prodotte sono piuttosto termolabili in quanto quelle prodotte dai ceppi A e B vengono distrutte a 80°C per 10 min e quella di tipo E a 60°C per 5 min.

Botulismo

I primi sintomi dell'intossicazione insorgono dopo 18-36 ore dall'ingestione del cibo contaminato

Le spore si trovano nel suolo, acque dolci e salate, apparato digerente di animali diversi, feci, ortaggi ecc.

Alimenti a rischio sono: conserve di carne, pesce e verdure soprattutto domestiche, semiconserve ittiche e di verdure confezionate sotto vuoto e male refrigerate, o comunque alimenti con pH intorno alla neutralità, mantenuti in condizioni non idonee di temperatura

INTOSSICAZIONE STAFILOCOCCICA

L'agente eziologico è rappresentato da *Staphylococcus aureus*, cocco anaerobio facoltativo, Gram + possiede dei biotipi capaci di elaborare durante la sua moltiplicazione negli alimenti delle tossine, chiamate enterotossine, in grado di provocare una gastroenterite dopo l'ingestione del cibo incriminato. Negli alimenti si ritrovano con maggior frequenza la A e la D. La quantità di tossine che viene prodotta nell'alimento è in relazione alla moltiplicazione cellulare, a sua volta regolata dalla temperatura, dal pH, dalla composizione chimica dell'alimento. La temp min di crescita è intorno a 10°C, quella massima intorno a 45°C. Il num minimo di enterotossina considerato per provocare la gastroenterite è di 10⁶-10⁸ ufc/g di alimento contaminato. E' molto termostabile tanto che il normale trattamento di cottura dei cibi non la inattiva. Circa il 75% dei casi di intossicazione stafilococcica sopravviene per inadeguato raffreddamento degli alimenti, soprattutto a base di carne, pesce, uova e latte. La moltiplicazione degli staf. Può insorgere in bar, ristoranti e nelle macchine distributrici che mantengono caldi i cibi. Il periodo di incubazione dell'intossicazione è generalmente breve (2-6 ore) e per questo si differenzia da tutte le altre intossicazioni e infezioni. I sintomi più comuni sono: nausea, vomito, crampi addominali, diarrea violenta con sangue e muco, mal di testa, debolezza ecc.

La crescita avviene tra 7°e 48°e la produzione di tossina tra 10°e 46°

Il range di pH tra 4 e 9.8 con opt tra 6 e 7

Si distinguono 7 enterotossine:A, B C1, C2 C3, D ed E

Molti geni che regolano la produzione di tossine sono portati da plasmidi.

Alimenti più a rischio sono : carne , uova, latte e tutti gli alimenti contaminati da manipolazioni scorrette

TOSSINFEZIONI

Sono quelle in cui si ha l'ingestione sia di tossine che di batteri. Sono da considerarsi tali quelle causate da *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus*. *C. perfringens* è un grosso bastoncino sporigeno, immobile, Gram positivo, anaerobio obbligato, con un range di temperatura tra 15 e 55°C e di pH tra 5 e 8.

Produce 5 tipi di tossine: A, B, C, D, E, ma solo quella di tipo A è implicata nelle forme di tossinfezione. I cibi coinvolti sono rappresentati da carne e pollame che non hanno subito un adeguato trattamento di cottura né adeguata successiva refrigerazione. Le spore non distrutte dal trattamento germinano prima del consumo dell'alimento, specie se questo viene mantenuto tiepido. E' un'intossicazione quasi sempre legata alla ristorazione collettiva.

Affinchè si manifestino forme di gastroenterite (8-24 ore dall'ingestione), caratterizzata dall'assenza di febbre, dolori addominali acuti, diarrea e gas, con o senza vomito e nausea. *C. perfringens* produce tossine quando passa dalla forma vegetativa a quella di spora, e questo si realizza sia nell'alimento che nel tubo digerente. La tossina viene inattivata a 60°C per 15 min. E' un mesofilo con optimum tra 37 e 45 °C e un minimo intorno a 20 °C. Il range di pH è 5.5 –8. I sintomi compaiono tra 6 e 24 ore dall'ingestione del cibo contaminato.

***Bacillus cereus* è un bastoncino sporigeno aerobio e anaerobio facoltativo, Gram positivo**

La temperatura minima è tra 4 e 5 °C e quella massima tra 48 e 50°C. Il range di pH oscilla tra 5 e 9

Produce due tipi di enterotossine: enterotossina emetica (quando la cellula sporifica) e enterotossina diarreogena (durante la fase esponenziale di crescita)