Workshop
FOCUS SU SICUREZZA D'USO E NUTRIZIONALE DEGLI ALIMENTI
21-22 Novembre 2005

MICRORGANISMI PROBIOTICI: caratterizzazione fenotipica, genotipica e probiotica

Alfonsina Fiore, Maria Casale

C.N.Q.R.A. – Reparto Pericoli Microbiologici
Istituto Superiore di Sanità
Roma

ISTITVTO SVPERIORE DI SANITA

CNQRA
Centro Nazionale per la Qualità e per i Rischi Alimentari

DEFINIZIONE DI MICRORGANISMI PROBIOTICI

"*Microrganismi che, quando consumati in adeguate quantità, producono un effetto benefico sulla salute dell'ospite*" (Guarner e Schaafsma, 1998)

PROBIOTICI

Microrganismi in grado di:

- *Sopravvivere al passaggio attraverso il tratto digerente*

- *Resistere a valori bassi di pH, al succo gastrico ed alla bile*

- *Proliferare nell'intestino*

- La maggior parte dei ceppi batterici ad attività probiotica appartiene ai generi Lactobacillus e Bifidobacterium





esempi di possibili meccanismi d'azione di batteri probiotici

- Produzione di sostanze ad azione antimicrobica
- Modulazione del sistema immunitario
- Competizione per i nutrienti
- Esclusione competitiva per il legame di batteri patogeni

Quantità di batteri probiotici necessaria per ottenere una temporanea colonizzazione intestinale:

10^9 cellule vive/giorno

STABILITA' COMMERCIALE DELLE PREPARAZIONI A BASE DI PROBIOTICI

SORVEGLIANZA POST-PRODUZIONE

SICUREZZA D'USO

Definizione del "*qualified presumption of safety*" (QPS) *EFSA,2003*

Ogni microrganismo vivo, intenzionalmente aggiunto ad un alimento deve essere "*qualificato*" stabilendone i criteri di sicurezza

Ad esempio, per i microrganismi come i probiotici, è necessario dimostrare l'assenza di fattori acquisiti dell'antibiotico resistenza

ATTIVITA' DI MONITORAGGIO INTEGRATORI ALIMENTARI A BASE DI PROBIOTICI

OBIETTIVI:

- Monitorare la produzione nazionale per definire la qualità di tali preparazioni

- Seguire ogni prodotto in varie fasi della vita "di scaffale" per costruire una curva di decadimento del numero dei microrganismi in funzione del tempo di vita dell'integratore stesso

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CNQRA
Centro Nazionale per la Qualità e per i Rischi Alimentari

- Effettuare la numerazione dei ceppi batterici dichiarati in etichetta
- Valutare la vitalità di ogni ceppo batterico
- Effettuare l'identificazione a livello di specie e di ceppo
- Determinare l'attività probiotica dei ceppi isolati
- Determinare l'eventuale antibiotico resistenza dei ceppi isolati

CNQRA
Rep. Pericoli Microbiologici

Gruppi NAS
Sede centrale di Roma
Sedi periferiche

SED
Servizio Elaborazione Dati
ISS
Dott.ssa S. Marongiu

Campionamento
Consegna dei campioni in ISS

Elaborazione di software per:

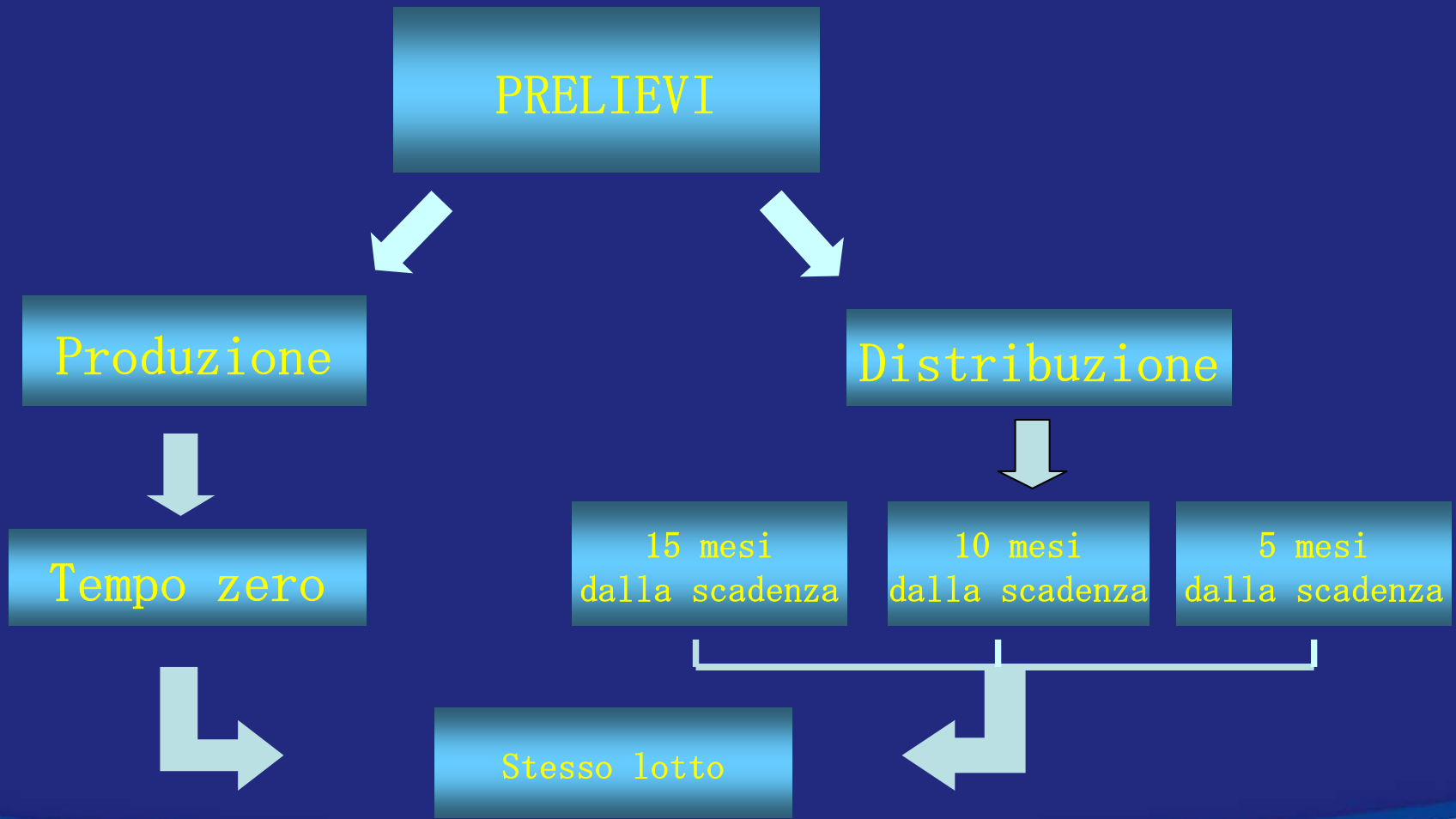
-registrazione ed archiviazione dati dei campioni all'arrivo in ISS;

-NAS sede centrale e sedi periferiche*

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

CNQRA
Centro Nazionale per la Qualità e per i Rischi Alimentari

CAMPIONAMENTO



campionamento

- **30** Ditte produttrici di integratori alimentari a base di probiotici (Nord, Centro, Sud Italia)
- **40** prodotti prelevati negli stabilimenti di produzione
- **15** prodotti prelevati nei luoghi di distribuzione (farmacie, erboristerie, supermercati), relativi alla scadenza di 15 mesi

NUMERAZIONE DEI CEPPI BATTERICI

- Norma *ISO 15214:1998*; Numerazione di batteri lattici con il metodo della conta in piastra
- Norme *FIL-IDF 117A:1988 / FIL-IDF 146:1991*; Numerazione di *Streptococcus thermophilus*
- L.C. Mc Donald et al. *Appl Env Microbiol* 1987,vol.53:6, p. 1382-1384; numerazione di Bifidobacterium spp.
- Leuschener et al. *J AOAC Int* 2003, vol.86:3; numerazione di bacilli sporogeni

Risultati parziali

*Ad oggi più di **300** ceppi isolati*

ISTITVTO SVPERIORE DI SANITÀ

CNQRA

Centro Nazionale per la Qualità e per i Rischi Alimentari

IDENTIFICAZIONE (1)

- *Caratterizzazione fenotipica*:

- studio del profilo fermentativo dei carboidrati (sistemi miniaturizzati)

- attività enzimatica

IDENTIFICAZIONE (2)

- *Caratterizzazione genetica*:

-a livello di specie: ARDRA-PCR (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)

-a livello di ceppo: PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis)

LINEE GUIDA FAO/WHO

E' necessario identificare ogni specie batterica a livello di ceppo perché:

- L'effetto probiotico è ceppo specifico
- L'identificazione del ceppo è importante per correlare un determinato ceppo batterico ad uno specifico effetto sulla salute; nonché negli studi epidemiologici e di sorveglianza

IDENTIFICAZIONE (3)

- *Caratterizzazione probiotica*:

Resistenza ai sali biliari, a bassi valori di

pH, al succo gastrico