

Gram positivi di interesse alimentare

CNC & LAB

Cocchi Coagulasi Negativi *(Coagulase Negative Coccii, CNC)*

Definizione e Caratteristiche

La denominazione "cocchi coagulasi negativi" si riferisce a popolazioni batteriche di forma coccica che condividono la presenza dell'enzima **catalasi** ma si distinguono per l'assenza dell'enzima **coagulasi**.

Questo criterio serviva a distinguere, all'interno dei cocchi catalasi positivi, i coagulasi positivi, considerati **solitamente patogeni**, da quelli negativi, generalmente ritenuti **benigni**.

L'Elevata Biodiversità Tassonomica

Alcune specie rientrano
nel *phylum* dei
Firmicutes, mentre
altre in quello degli
Actinobacteria.

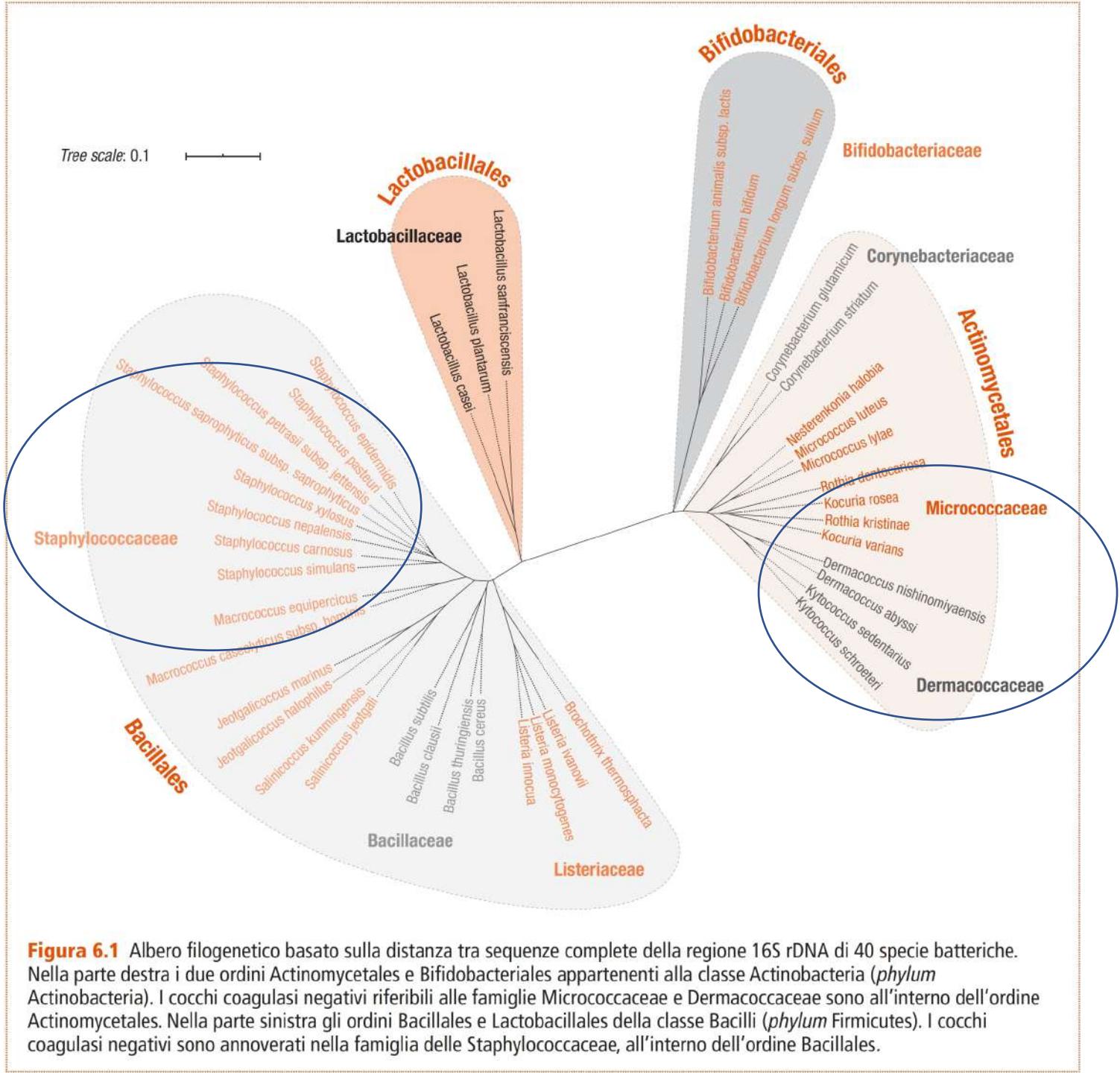


Figura 6.1 Albero filogenetico basato sulla distanza tra sequenze complete della regione 16S rDNA di 40 specie batteriche. Nella parte destra i due ordini Actinomycetales e Bifidobacteriales appartenenti alla classe Actinobacteria (*phylum* Actinobacteria). I cocci coagulasi negativi riferibili alle famiglie Micrococcaceae e Dermacoccaceae sono all'interno dell'ordine Actinomycetales. Nella parte sinistra gli ordini Bacillales e Lactobacillales della classe Bacilli (*phylum* Firmicutes). I cocci coagulasi negativi sono annoverati nella famiglia delle Staphylococcaceae, all'interno dell'ordine Bacillales.

Rivisitazione Tassonomica

La classificazione dei CNC è stata oggetto di radicali rivisitazioni. Storicamente distinti nei generi *Staphylococcus* e *Micrococcus* all'interno della famiglia Micrococcaceae, le moderne analisi filogenetiche hanno dimostrato che non sono strettamente correlati.

Gli **stafilococchi** risultano **anaerobi facoltativi**, mentre i **micrococchi** sono **aerobi obbligati**.

Phylum	Ordine	Famiglia	Generi Rappresentativi (CNC)	Contenuto G + C %
Firmicutes	Bacillales	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Macrococcus</i> , <i>Salinicoccus</i>	Basso (30-45%)
Actinobacteria	Actinomycetales	<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i> , <i>Kokuria</i> , <i>Nesterenkonia</i>	Elevato
Actinobacteria	Actinomycetales	<i>Dermacoccaceae</i>	<i>Dermacoccus</i> , <i>Kytococcus</i> , <i>Luteipulveratus</i>	Elevato

Staphylococcaceae

Il termine **stafilococco** (dal greco *staphyle*, grappolo, e *kokkos*, granello) fu introdotto alla fine del 1800 per distinguere le cellule catalasi positive che si organizzano **a grappolo** da quelle disposte a catena (come gli streptococchi).

Generi di interesse alimentare

Staphylococcus

Micrococcus

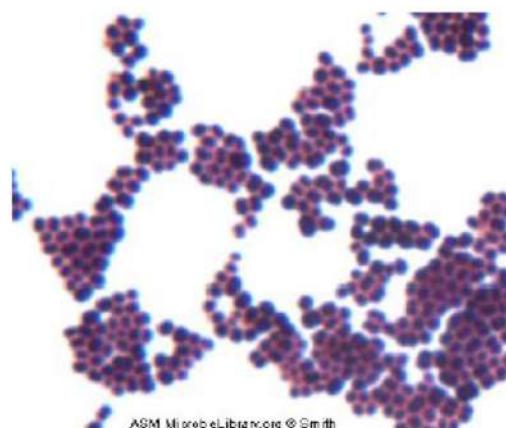
Staphylococcus

Il genere *Staphylococcus* è il più studiato, specialmente per le specie patogene e coagulasi positive.

Il genere comprende sia specie saprofite (*S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. simulans*) che specie patogene come *S. aureus* (coagulasi positivo)

Caratteristiche Fisiologiche e Strutturali

Tutti gli stafilococchi coagulasi negativi sono caratterizzati da cellule **non mobili, anaerobie facoltative**



Micrococcaceae

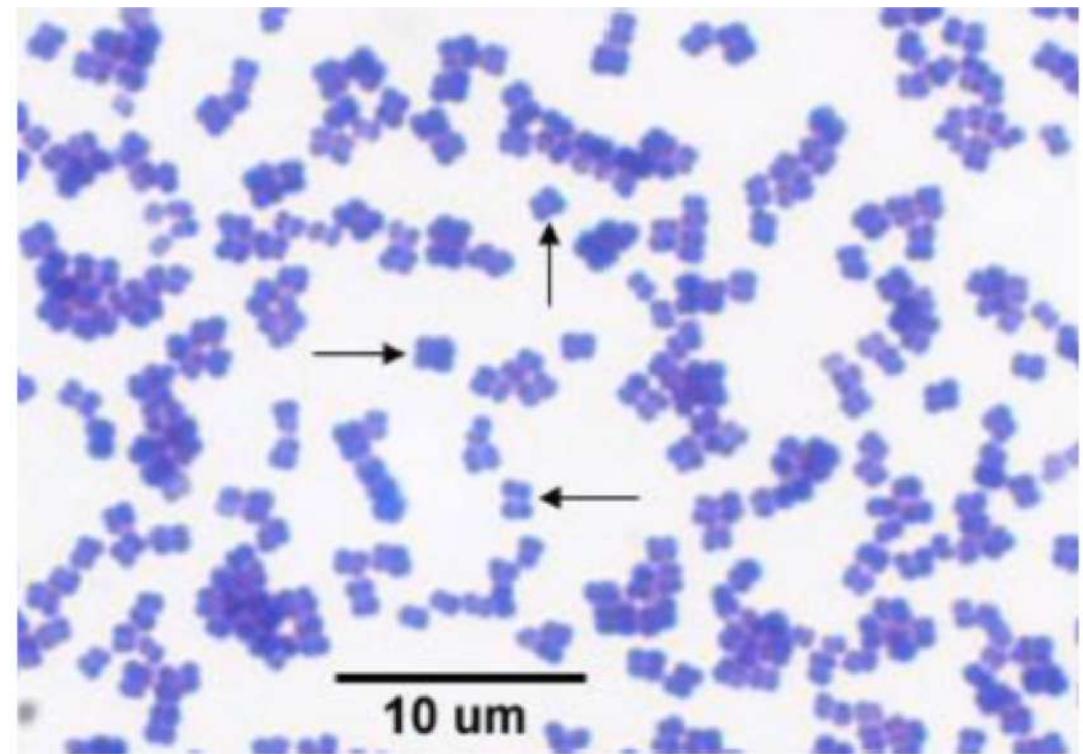
La ridefinizione tassonomica della famiglia *Micrococcaceae* ha rivisitato il genere *Micrococcus* e delineato nuovi generi.

Specie tradizionalmente in *Micrococcus* sono state riclassificate in *Kocuria* (es. *K. varians* e *K. rosea*).

Micrococcus

Cocchi molto piccoli, disposti grappoli o tetradi

- Aerobi spesso obbligati (sono marginalmente anaerobi facoltativi ma prediligono aerobiosi)
- Saprofiti
- Sono alotolleranti e si trovano in salamoie per la salatura di formaggi (7.5-10 % di sale)
- Svolgono un ruolo fondamentale nelle fermentazioni dei salami dove producono lipasi



I CNC negli Alimenti

Contaminanti abituali e ubiquitari.

L'ampia diffusione dei CNC nell'ambiente e, in particolare, la loro presenza abituale sulla pelle dei mammiferi, li rendono contaminanti molto comuni negli alimenti, specialmente in quelli di origine animale.

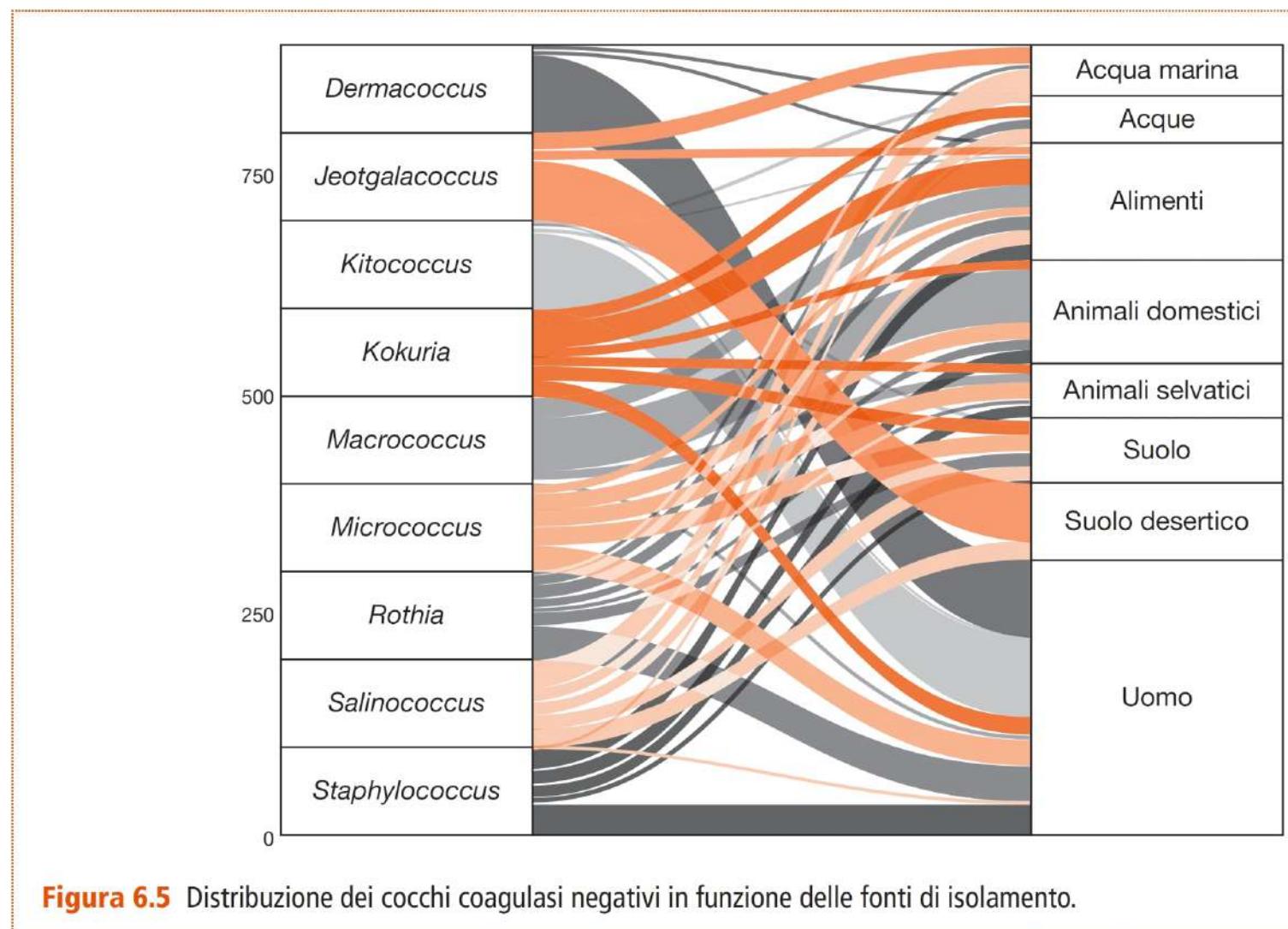


Figura 6.5 Distribuzione dei cocci coagulasi negativi in funzione delle fonti di isolamento.

Presenza nel Latte e nei Formaggi

costituiscono una porzione importante del microbiota del latte crudo. *Staphylococcus*, *Macrococcus*, e generi delle *Micrococcaceae* come *Kocuria*, *Rothia* e *Micrococcus*.

- Formaggi a pasta dura, semidura e morbida: *S. xylosus* e *S. saprophyticus*.
- Formaggi a maturazione superficiale: Sono riscontrati principalmente *Macrococcus caseolyticus* e ceppi di *Kocuria spp.*

CNC negli Insaccati Fermentati

Negli insaccati fermentati, la specie dominante è *S. xylosus*. Le subdominanti *S. carnosus* e *S. saprophyticus*.

- *S. xylosus*: buon adattamento
- *S. carnosus*: resiste ad ambienti acidi e bassa *aw*.

Il Ruolo degli Aerobi Obbligati

Kocuria.

Questi sono largamente isolati nella fase iniziale della maturazione, ma vengono progressivamente sostituiti dagli stafilococchi coagulasi negativi, poiché consumano l'ossigeno residuo nell'ambiente.

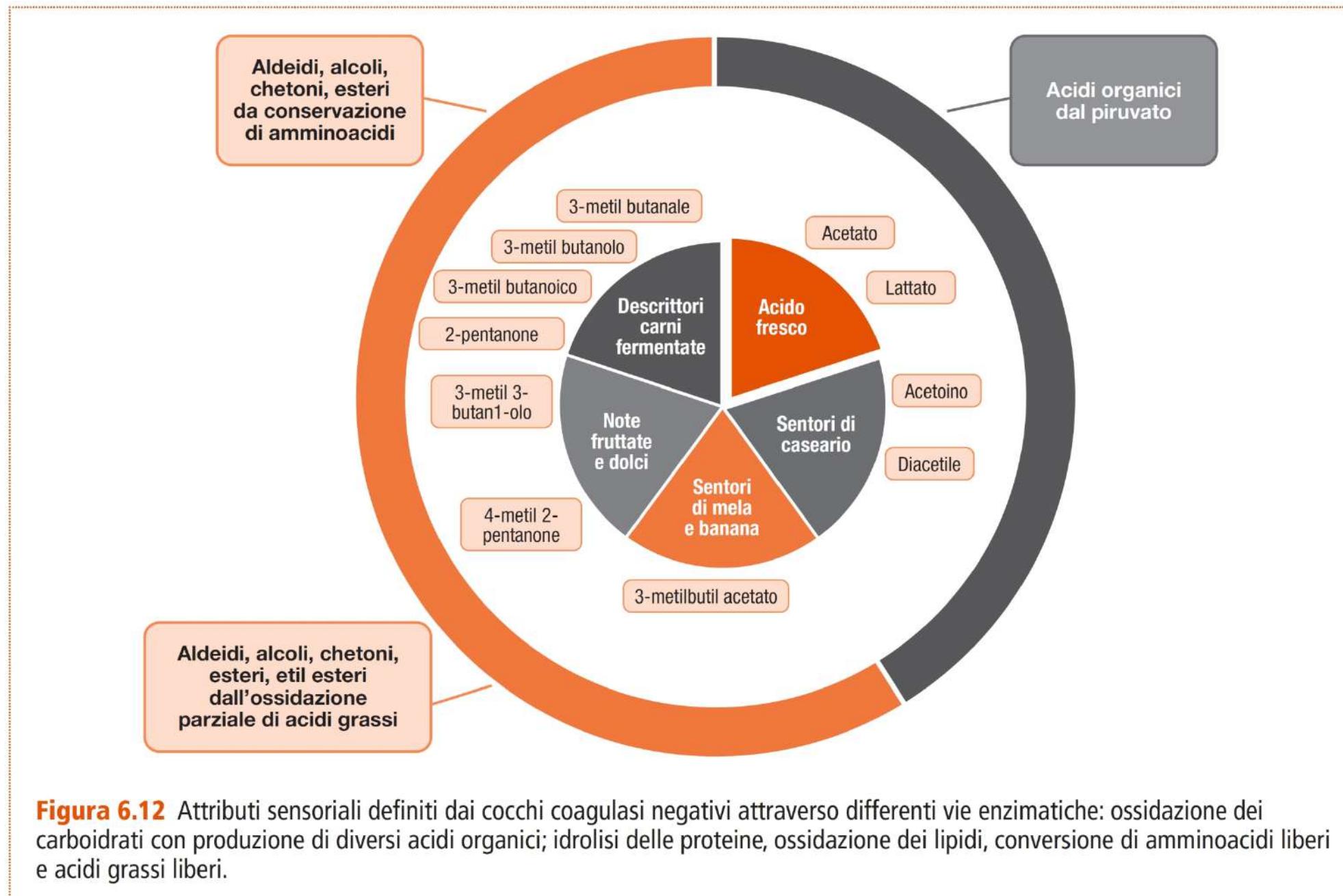
CNC nelle Biotecnologie Alimentari

I CNC, grazie alle loro attività metaboliche e al ricco corredo enzimatico, sono pienamente compatibili con le biotecnologie alimentari. La loro capacità di produrre acidi organici, molecole inorganiche, composti aromatici e peptidi bioattivi è essenziale per garantire, innovare e diversificare la qualità dei prodotti alimentari.

Via dell'Acido Lattico

Via dell'Acido Acetico e Etanolo

Via dell'Acetoino e Butandiolo



Bioprotezione, Colore e Salubrità

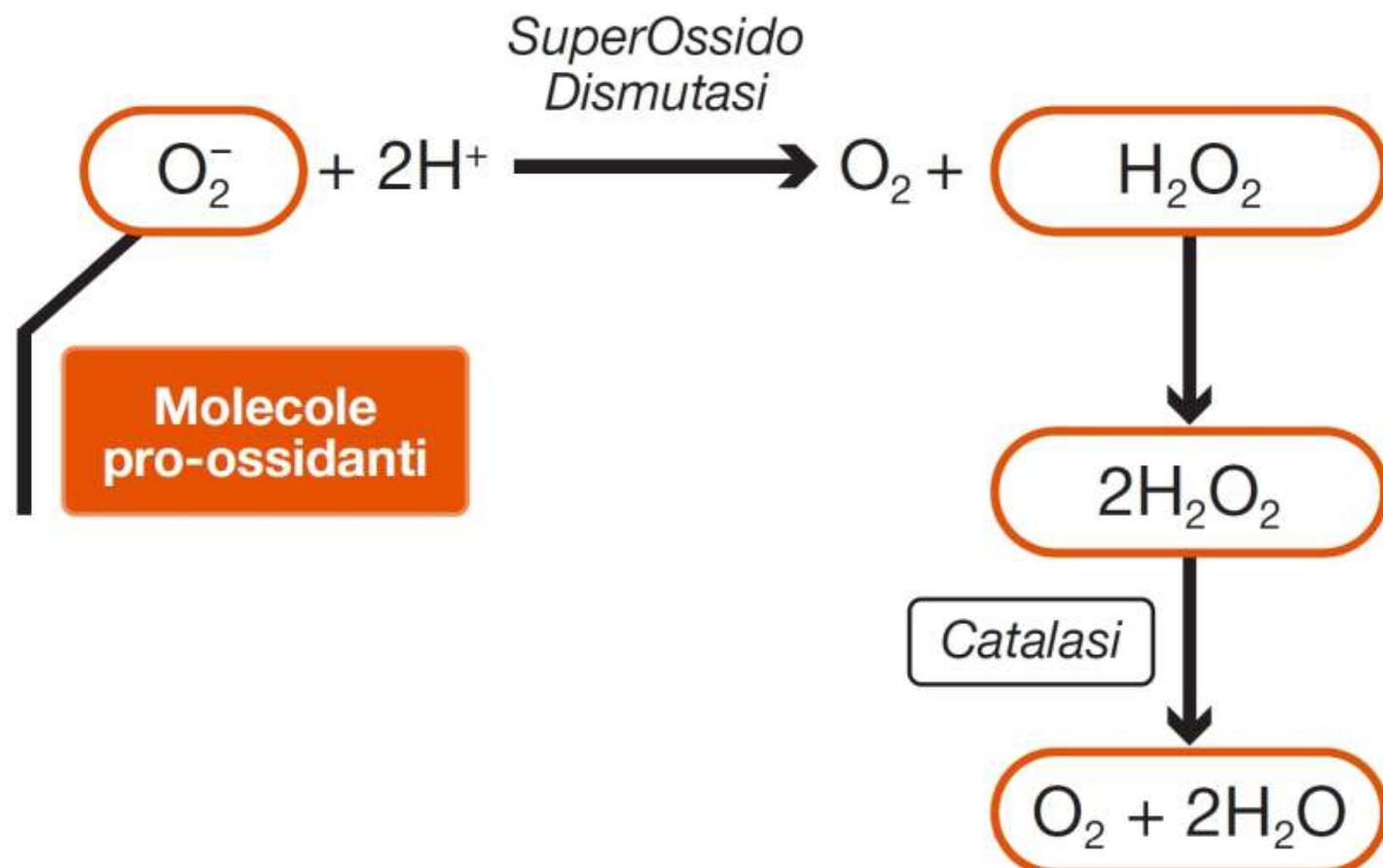
Controllo dell'Ossidazione (Attività Antiossidante)

L'impiego crescente dei CNC è legato alla loro capacità di regolare i fenomeni di ossidazione delle componenti lipidiche, che causano rancidità.

Le specie di CNC intervengono con gli enzimi catalasi e superossido dismutasi (SOD) per "neutralizzare" le molecole pro-ossidanti: la SOD converte i radicali superossido in perossido di idrogeno, che a sua volta viene convertito dalla catalasi in acqua e ossigeno.

Alcune specie di stafilococchi (*S. carnosus*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus*) possiedono fino a tre enzimi catalasi.

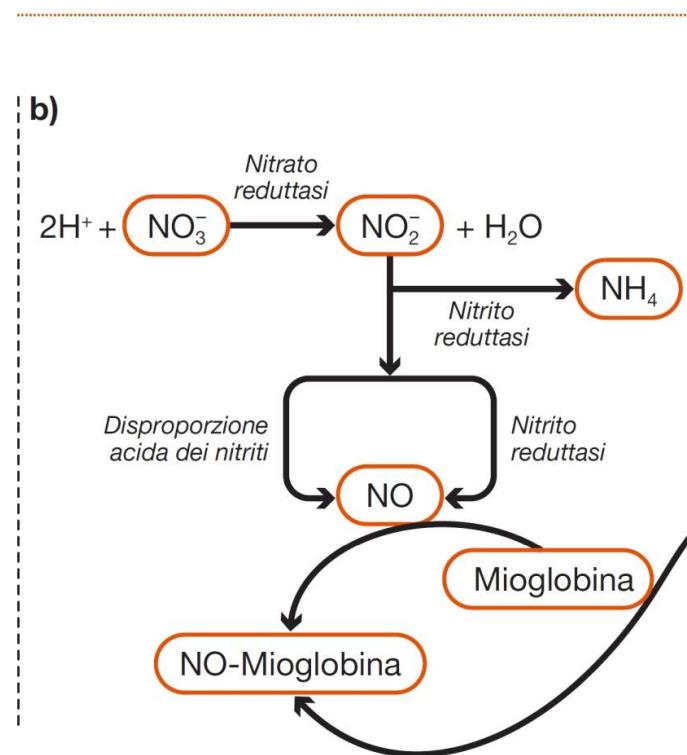
a)



Fissazione del Colore (Azione Nitrato Reduttasica)

L'azione nitrato reduttasica dei CNC è cruciale per la qualità sensoriale dei prodotti carnei fermentati. Essa riduce i nitrati (NO_3^-) a nitriti (NO_2^-).

In condizioni acide, i nitriti formano ossido di azoto (NO), che combinandosi con la mioglobina forma la nitrosomioglobina, responsabile del caratteristico colore rosso.



Meccanismo di Bioprotezione

I nitriti e l'ossido di azoto accumulati grazie ai CNC fungono da importanti composti ad **azione inibente** nei confronti di microrganismi indesiderati (es. *Clostridi* e *Listeriaceae*), alterando enzimi essenziali nel loro metabolismo.

I CNC producono oltre venti **batteriocine** ad attività antimicrobica, principalmente appartenenti alla **classe I e classe II**

⚠ Sicurezza e Status (QPS/GRAS)

I CNC sono soggetti a dubbi sulla sicurezza

- **Resistenza agli antibiotici:** Varia da specie a specie; i geni sono spesso riscontrati, ma la trasmissibilità è rara.
- **Produzione di ammine biogene:** Meccanismo diffuso in risposta a condizioni di stress.
- **Infezioni nosocomiali:** Capacità di indurre infezioni in ambiente clinico.

Questi fattori limitano il loro inserimento negli elenchi di microrganismi sicuri riconosciuti a livello internazionale, come GRAS (USA) o QPS (UE).

Nonostante i timori clinici, i CNC non sono mai stati registrati come causa di intossicazioni alimentari o patologie legate al consumo di alimenti.

Oltre ai requisiti di sicurezza da rispettare, un potenziale starter CNC deve presentare determinate caratteristiche tecnologiche

Starter	Caratteristiche di sicurezza	Caratteristiche tecnologiche
Stafilococchi e micrococchi	<ul style="list-style-type: none"> Coagulasi negativi ✓ Assenza di antibiotico-resistenza trasmissibile per via orizzontale ✓ Incapacità di produrre ammine biogene 	<ul style="list-style-type: none"> Sviluppo a 15 °C Resistenza a NaCl (7,5%) ✓ Riduzione del nitrato a nitrito Detossificazione delle ammine biogene presenti (produzione di ammino ossidasi) ✓ Attività enzimatiche (proteolisi, lipolisi) Produzione di catalasi Metabolismo degli aminoacidi

Batteri Lattici

(Lactic Acid Bacteria; *LAB*)

I Batteri Lattici (LAB)

Il nome "batteri lattici" (o **LAB**, da *Lactic Acid Bacteria*) indica una categoria funzionale di microrganismi. La loro caratteristica principale è la capacità di produrre acido lattico come risultato dominante del metabolismo degli zuccheri.

I LAB hanno le seguenti caratteristiche:

- Forma: Cocchi e Bacilli.
- Gram positivi.
- Non sporigeni.
- Catalasi negativi.

Le cellule possono presentarsi al microscopio come cellule singole, coppie, catenelle o tetradi, a seconda della specie e del genere.

Tassonomia dei Batteri Lattici (LAB) negli Alimenti

I LAB di interesse alimentare appartengono a quattro delle cinque famiglie dell'ordine Lactobacillales (la famiglia Aerococcaceae non è di interesse). Queste famiglie contengono complessivamente 58 generi e circa 600 specie, di cui solo una piccola parte è rilevante per la microbiologia degli alimenti:

- *Carnobacteriaceae*
- *Enterococcaceae*
- *Streptococcaceae*
- *Lactobacillaceae* (include gli ex membri di *Leuconostocaceae*)

Le variazioni tassonomiche, come la recente riclassificazione del genere *Lactobacillus*, hanno un impatto pratico, anche sull'etichettatura dei prodotti.

Carnobacteriaceae

La famiglia *Carnobacteriaceae* contiene 16 generi e 50 specie. Il genere tipo è più numeroso è *Carnobacterium* (12 specie).

Batteri di forma bacillare, catalasi negativi e non sporigeni.

Sono psicrotrofi (crescono bene a basse temperature), a lenta acidificazione e capaci di crescere a pH elevati (fino a 9,5).

eterofermentanti e degradano gli amminoacidi a catena ramificata, contribuendo in modo sostanziale all'aroma dei prodotti finali.

C. divergens, *C. maltaromicum* e *C. mobile*.

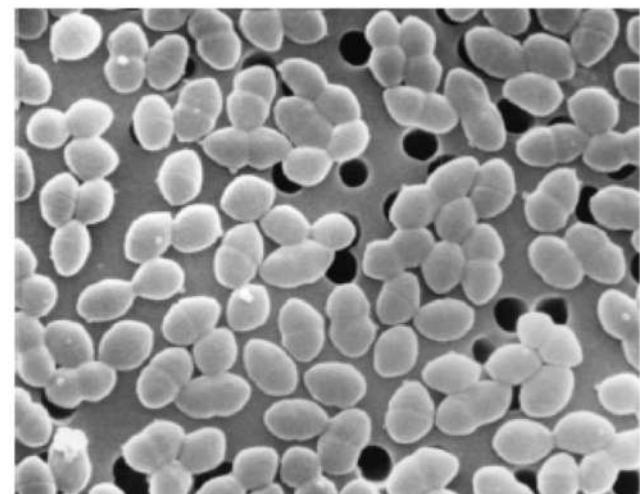
Enterococcaceae *Enterococcus*

La famiglia Enterococcaceae contiene 7 generi e 84 specie. I generi di maggiore interesse alimentare sono *Enterococcus* (59 specie) e *Tetragenococcus* (5 specie).

Enterococcus: Può essere utilizzato come coltura starter e probiotico, ma può anche agire come organismo opportunista patogeno o alterante.

E. faecalis, *E. durans* ed *E. faecium* si ritrovano in alimenti di varia origine:

Producendo principalmente acido L-lattico, (5-65°C) e pH (4,5-10), sia in presenza che in assenza di ossigeno.

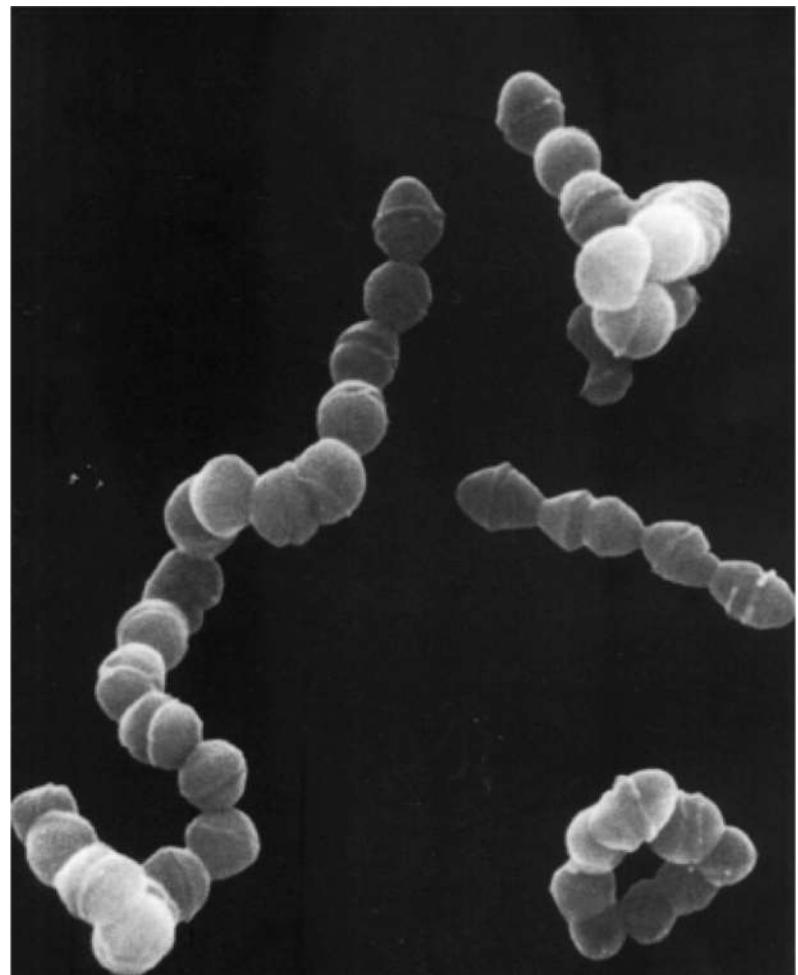


Streptococcus

Il genere comprende principalmente specie patogene per l'uomo e gli animali (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, specie di riferimento).

S. thermophilus: La specie di interesse alimentare è assolutamente sicura e utilizzata globalmente come coltura starter nella produzione di yogurt (insieme a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*).

S. gallolyticus subsp. *macedonicus* è ritrovato in prodotti caseari.



Streptococcaceae _ Lactococcus

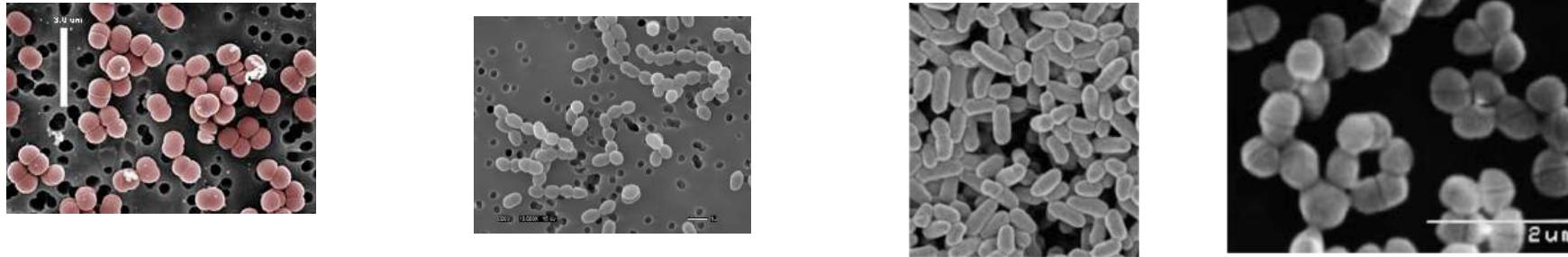
Lc. lactis è la specie più studiata, usata come starter produce acido L-lattico dal lattosio



Subspecie (*Lc. lactis*):

- *subsp. lactis*: Acidifica rapidamente il substrato.
- *subsp. cremoris*: Contribuisce a un gusto più rotondo e limita l'asprezza.
- *biovar diacetylactis* : Produce diacetile dalla fermentazione del citrato, conferendo sapore e aroma di burro.

Lc. raffinolactis è usato commercialmente; *Lc. piscium* è impiegato come coltura protettiva per prodotti ittici.



Pediococcus, Leuconostoc, Weissella e Oenococcus

Filogeneticamente correlati ai lattobacilli, ma di forma coccica con divisione cellulare che porta a tetradi.

Sono omofermentanti (producono acido lattico dal glucosio senza rilascio di CO₂)

Prevalentemente associati a prodotti fermentati di origine vegetale (cavoli, crauti, cetrioli, vino).

Lactobacillaceae



La famiglia *Lactobacillaceae* è la più eterogenea (starter e probiotici).

La famiglia è stata rivista all'inizio del 2020 e ora include anche la famiglia *Leuconostocaceae*, comprendendo complessivamente 31 generi e 325 specie.

I membri della famiglia possono avere un metabolismo omofermentante o eterofermentante.

Sono generalmente acidofili, ma capaci di sopravvivere anche a pH più basici.

Applicazioni: Sono usati come starter in una vasta gamma di prodotti: lattiero-caseari, vegetali fermentati, carni fermentate, bevande (birra, vino), paste acide e insilati. Alcune specie possono anche causare deterioramento.

Lactobacillus

Il genere *Lactobacillus* è stato oggetto di profonda riclassificazione; le specie sono ora distribuite in 25 nuovi generi per riflettere similarità filogenetiche, metaboliche ed ecologiche.

Le specie che hanno mantenuto il nome *Lactobacillus* (filogeneticamente correlate a *L. delbrueckii*, specie di riferimento) sono omofermentanti (es. *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. gasseri*).

LAB

Genus name before reclassification	Genus name after reclassification
Probiotics	
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosum</i>
Starter cultures	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Latilactobacillus curvatus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus sakei</i>	<i>Latilactobacillus sakei</i>

1. <i>Acetilactobacillus</i>	Ac.
2. <i>Agrilactobacillus</i>	Ag.
3. <i>Amylolactobacillus</i>	Am.
4. <i>Apilactobacillus</i>	Ap.
5. <i>Bombilactobacillus</i>	Bo.
6. <i>Companilactobacillus</i>	Co.
7. <i>Dellaglioa</i>	D.
8. <i>Fructilactobacillus</i>	Fr.
9. <i>Furfurilactobacillus</i>	Fu.
10. <i>Holzapfelia</i>	H.
11. <i>Lacticaseibacillus</i>	Lcb.
12. <i>Lactiplantibacillus</i>	Lpb.
13. <i>Lactobacillus</i>	Lb. o L.
14. <i>Lapidilactobacillus</i>	Lap.
15. <i>Latilactobacillus</i>	Lat.
16. <i>Lentilactobacillus</i>	Len.
17. <i>Levilactobacillus</i>	Lev.
18. <i>Ligilactobacillus</i>	Lig.
19. <i>Limosilactobacillus</i>	Lim.
20. <i>Liquorilactobacillus</i>	Liq.
21. <i>Loigolactobacillus</i>	Loi.
22. <i>Paralactobacillus</i>	Par.
23. <i>Paucilactobacillus</i>	Pau.

Terreni di isolamento



M17 per cocci (lattococchi,
streptococchi)



MRS per bastoncini (lattobacilli)



Kanamicina
Esculina agar
(enterococci)



Rogosa agar
(leuconostoc)

Starter: *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*.

Non-Starter (NSLAB): Contribuiscono all'aroma finale come microbiota secondario (es. con proteolisi e lipolisi). Possono essere impiegati come colture aggiuntive per aumentare la complessità aromatica.

Probiotici: Molti ceppi di lattobacilli (es. *L. acidophilus*, *L. gasseri*) e di altri generi riclassificati (es. *Lcb. rhamnosus*, *Lpb. plantarum*) sono riconosciuti come probiotici e sono commercializzati in integratori e alimenti funzionali.

LAB

Nome del genere e specie di riferimento	Significato del nome del genere	Caratteristiche principali del genere	Specie utilizzate per la produzione di alimenti fermentati (IDF Bulletin 495/2018)
<i>Lapidilactobacillus Lap. concavus</i>	Lattobacilli associati alle rocce (dal latino <i>lapidis</i> , roccia/parete). Il nome si riferisce alla fonte di isolamento della type species <i>Lap. concavus</i> , isolato dalle pareti di una cantina per la distillazione di liquori in Cina	Omofermentanti con abilità ceppo- o specie-specifiche di metabolizzare i pentosi, ecologia sconosciuta	
<i>Latilactobacillus Lat. sakei</i>	Lattobacilli diffusi (dal latino <i>latus</i> , ampio)	Omofermentanti, mesofili, con uno stile di vita nomade. Molti ceppi sono psicrofili e crescono sotto gli 8 °C	<i>Lat. curvatus</i> , <i>Lat. sakei</i>
<i>Lentilactobacillus Len. buchneri</i>	Lattobacilli che crescono lentamente (dal latino <i>lentus</i> , lento)	Eterofermentanti, mesofili, in grado di metabolizzare un ampio spettro di carboidrati. Alcuni lentilattobacilli sembrano in transizione verso uno stile di vita adattato all'ospite, ma la maggior parte di essi sono ambientali o associati ai vegetali. Molti di essi convertono l'acido lattico in dioli	<i>Len. buchneri</i> , <i>Len. diolivorans</i> , <i>Len. farraginis</i> , <i>Len. hilgardii</i> , <i>Len. kefiri</i> , <i>Len. kisonensis</i> , <i>Len. otakiensis</i> , <i>Len. parabuchneri</i> , <i>Len. parafarraginis</i> , <i>Len. parakefiri</i> , <i>Len. rapi</i> , <i>Len. sunkii</i>
<i>Levilactobacillus Lev. brevis</i>	Lactobacilli che promuovono la lievitazione (dal latino <i>levare</i> , alzare)	Eterofermentanti, mesofili o psicrofili, ambientali o associati ai vegetali	<i>Lev. acidifirinae</i> , <i>Lev. brevis</i> , <i>Lev. hammesii</i> , <i>Lev. namurensis</i> , <i>Lev. parabrevis</i> , <i>Lev. senmaiukei</i> , <i>Lev. spicheri</i> , <i>Lev. zymae</i>
<i>Ligilactobacillus Lig. salivarius</i>	Lattobacilli uniti all'ospite (dal latino <i>ligare</i> , legare)	Omofermentanti, la maggior parte di essi sono adattati all'ospite in cui sono stati ritrovati e sono mobili. Diverse specie esprimono l'ureasi per resistere all'acidità gastrica	<i>Lig. acidipiscis</i> , <i>Lig. pobuzihii</i> , <i>Lig. salivarius</i>
<i>Limosilactobacillus Lim. fermentum</i>	Lattobacilli "collosi" (dal latino <i>limosus</i> , limaccioso)	Eterofermentanti (con due eccezioni). Sono associati ai vertebrati e generalmente producono esopolisaccardi dal saccarosio (per questo quindi definiti "collosi")	<i>Lim. fermentum</i> , <i>Lim. frumenti</i> , <i>Lim. mucosae</i> , <i>Lim. paris</i> , <i>Lim. pontis</i> , <i>Lim. reuteri</i> , <i>Lim. secaliphilus</i>
<i>Liquorilactobacillus Liq. mali</i>	Lattobacilli da liquidi (dal latino <i>liquor</i> , liquido)	Omofermentanti, mobili, in grado di crescere in bevande e presenti in habitat vegetali. Molti di essi producono esopolisaccardi dal saccarosio e degradano i fruttani tramite fruttanasi extracellulari	<i>Liq. cacaonum</i> , <i>Liq. ghanensis</i> , <i>Liq. hordel</i> , <i>Liq. mali</i> , <i>Liq. nagelii</i> , <i>Liq. oeni</i> , <i>Liq. satsumensis</i>
<i>Loigilactobacillus Loi. coryniformis</i>	Lattobacilli deterioranti (dal greco <i>loigos</i> , rovina o distruzione)	Omofermentanti, mesofili o psicrofili	<i>Loi. bifementans</i> , <i>Loi. coryniformis</i> , <i>Loi. rennini</i> (spoilage)
<i>Paralactobacillus Par. selangorensis</i>	Lattobacilli simili al genere <i>Lactobacillus</i> (nome descritto in precedenza e riutilizzato nella riclassificazione)	Omofermentanti, mesofili	

In rosso -> principalmente o tendenzialmente omofermentanti

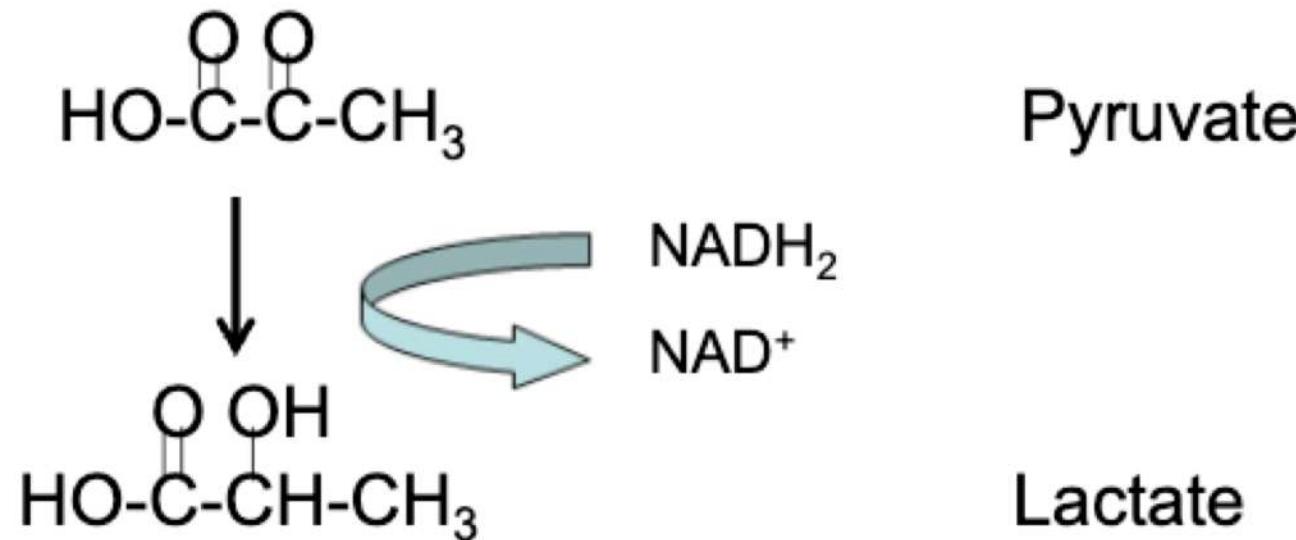
In blu-> principalmente eterofermentanti

Nome del genere e specie di riferimento	Significato del nome del genere	Caratteristiche principali del genere	Specie utilizzate per la produzione di alimenti fermentati (IDF Bulletin 495/2018)	Presenti e utilizzati in:
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Bacilli che vivono nel latte (dal latino <i>lactis</i> , latte)	Omofermentanti, termofili, sensibili alla vancomicina	<i>L. acetotolerans</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. amylolyticus</i> , <i>L. amylovorus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. johnsonii</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. kefiranofaciens</i>	Formaggi e yogurt (*probiotico)
<i>Acetilactobacillus Ac. jinshamensis</i>	Lattonbacilli dell'aceto (dal latino <i>acetum</i> , aceto)	Eterofermentanti, metabolizzano disaccaridi alcoli ottenuti dagli zuccheri, alcuni esosi ma non pentosi		
<i>Agrolactobacillus Ag. composti</i>	Lattonbacilli derivati da suolo (dal latino <i>ager</i> , suolo)	Omofermentanti, aerotolleranti. La dimensione del loro genoma, il contenuto in GC e la fonte di isolamento delle due specie del genere suggeriscono uno stile di vita cosiddetto "nomade"	<i>Ag. composti</i>	
<i>Amylolactobacillus Am. amylophilus</i>	Lattonbacilli che degradano l'amido (dal greco <i>amylon</i> , amido)	Omofermentanti, sensibili alla vancomicina, presentano amilasi extracellulari, probabilmente adattati agli insetti		
<i>Apilactobacillus Ap. kunkeei</i>	Lattonbacilli associati alle api (dal latino <i>apis</i> , api)	Eterofermentanti, caratterizzati da una ridotta dimensione del genoma, metabolizzano solo pochi carboidrati, adattati a vivere associati alle api e/o ai fiori		
<i>Bombilactobacillus Bo. mellifer</i>	Lattonbacilli associati alle api e ai bombi (dal latino <i>bombus</i> , bombo)	Omofermentanti, termofili, sensibili alla vancomicina, caratterizzati da una ridotta dimensione del genoma, associati alle api e ai bombi		
<i>Companilactobacillus Co. alimentarius</i>	Lattonbacilli associati ad altri lattonbacilli nella fermentazione dei cereali e altri vegetali (dal latino medievale <i>companio</i> , amico, lett. "colui con cui si divide il pane")	Omofermentanti, capacità ceppo- o specie-specifica di metabolizzare i pentosi, stile di vita "nomade"	<i>Co. alimentarius</i> , <i>Co. crustorum</i> , <i>Co. farciminis</i> , <i>Co. mindensis</i> , <i>Co. nantensis</i> , <i>Co. nodensis</i> , <i>Co. paralimentarius</i> , <i>Co. tucetti</i> , <i>Co. versmoldensis</i>	
<i>Dellaglioa D. algida</i>	Lattonbacilli dedicati al Prof. Franco Dellaglio, studioso italiano dei batteri lattici per oltre 50 anni dagli anni '70 del 1900 alla fine del 2010.	Omofermentanti, anaerobi facoltativi e psicrofili		
<i>Fructilactobacillus Fr. fructivorans</i>	Lattonbacilli che metabolizzano il fruttosio (dal latino <i>fructus</i> , fruit)	Eterofermentanti, aerotolleranti, caratterizzati da una ridotta dimensione del genoma. I fruttabacilli sono associati a nicchie ecologiche specifiche come insetti e/o fiori	<i>Fr. fructivorans</i> , <i>Fr. sanfranciscensis</i>	Impasti acidi lievitati (sviluppo aroma)
<i>Furfurilactobacillus Fu. rossiae</i>	Lattonbacilli derivati dalle fermentazioni dei cereali (dal latino <i>furfur</i> , crusca)	Eterofermentanti, caratterizzati da dimensione del genoma più grande e con potenziale metabolico esteso	<i>Fu. rossiae</i> , <i>Fu. siliginis</i>	
<i>Holzapfelia H. floricola</i>	Lattonbacilli dedicati al Prof. Wilhelm Holzapfel, studioso sudafricano dei batteri lattici, attivo dagli anni '60 del 1900 a oggi	Omofermentanti, sensibili alla vancomicina, associati agli insetti		
<i>Lacticaseibacillus Lcb. casei</i>	Lattonbacilli associati al formaggio (dal latino <i>casei</i> , formaggio)	Omofermentanti, molte specie utilizzano i pentosi e sono resistenti agli stress ossidativi. <i>Lcb. casei</i> e specie correlate hanno uno stile di vita nomade	<i>Lcb. casei</i> , <i>Lcb. manihotivorans</i> , <i>Lcb. paracasei</i> , <i>Lcb. rhamnosus</i>	Formaggi e yogurt (funzioni probiotiche)
<i>Lactiplantibacillus Lpb. plantarum</i>	Lattonbacilli associati alle matrici vegetali (dal latino <i>planta</i> , pianta)	Omofermentanti, caratterizzati da uno stile di vita nomade e dalla capacità di metabolizzare diversi carboidrati. La maggior parte delle specie degradano gli acidi fenolici tramite attività enzimatiche quali esterasi, decarbossilasi e riduttasi. <i>Lpb. plantarum</i> esprime la pseudocatalasi ed è caratterizzato dall'attività della nitroto reduttasi	<i>Lpb. plantarum</i> , <i>Lpb. fabiflamentans</i> , <i>Lpb. paraplanitarum</i> , <i>Lpb. pentosus</i>	Vegetali fermentati (salumi, formaggi, vino)

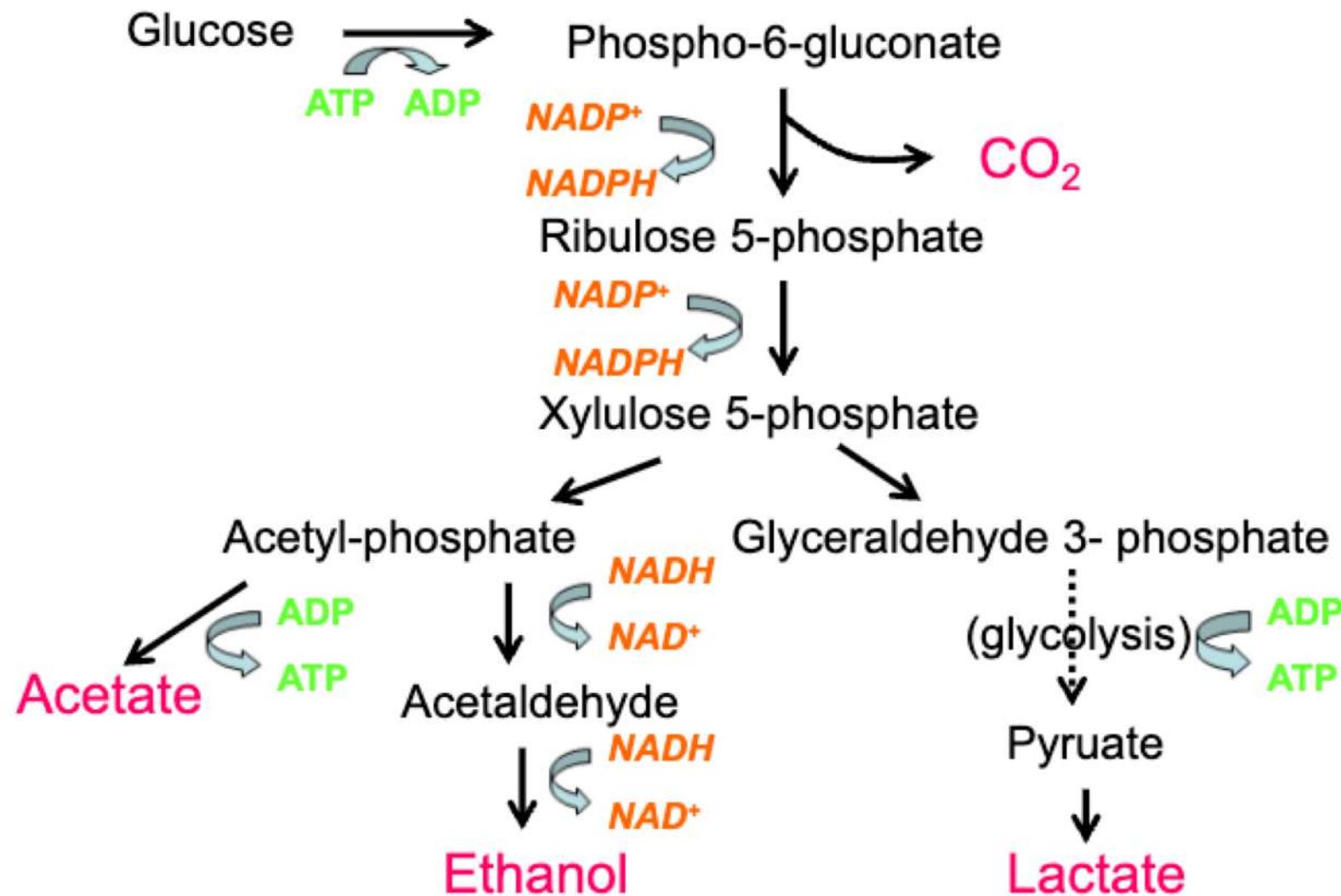
Classificazione Metabolica (Fermentazione degli Esosi)

Pediococcus, Lactococcus, Streptococcus, e alcuni lactobacilli sono omofermentativi

Glucose → Pyruvate via glycolytic pathway



Carnobacterium, Oenococcus, Enterococcus, Weissella Leconostoc and alcuni lattobacilli sono eterofermentativi



Impatto della Fermentazione sugli Alimenti

Acido Lattico: È sempre il risultato finale della fermentazione.

- Negli omofermentanti è l'unico metabolita.
- Negli eterofermentanti è associato ad altri metaboliti.

Impatto della CO₂(Eterofermentazione):

La liberazione di CO₂ ha un grande impatto sull'alimento:

- Causa formazione di schiuma se l'alimento è liquido.
- Crea cavità o occhiature se l'alimento è solido (es. formaggi).

Impatto sull'Alimento

I LAB definiscono e modificano l'alimento in termini di:

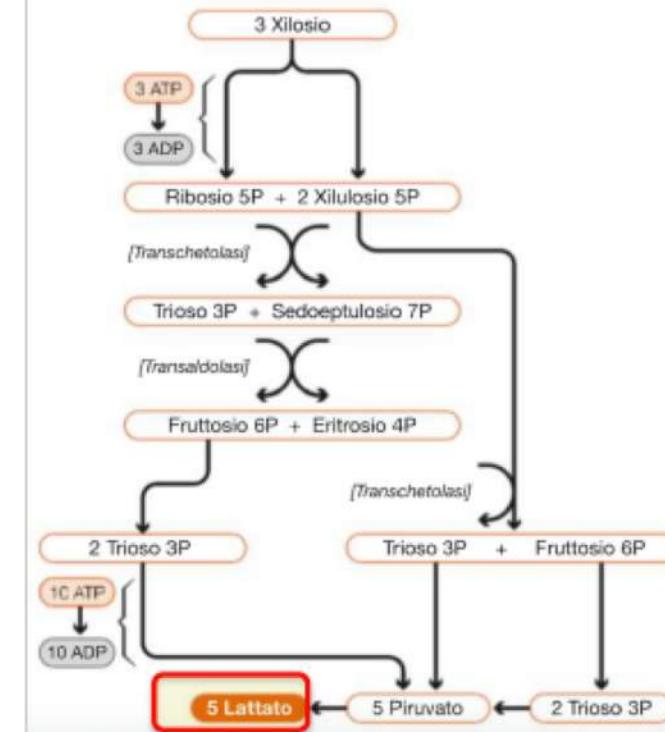
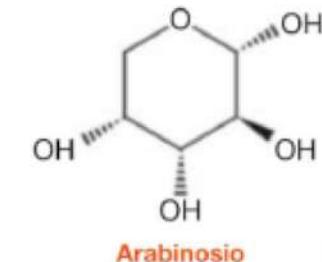
- **Struttura** (texture)
- **Aroma e Sapore**
- **Effetti sulla salute** (es. probiotici)
- **Shelf-life** (durata di conservazione)

Metabolismo dei Pentosi

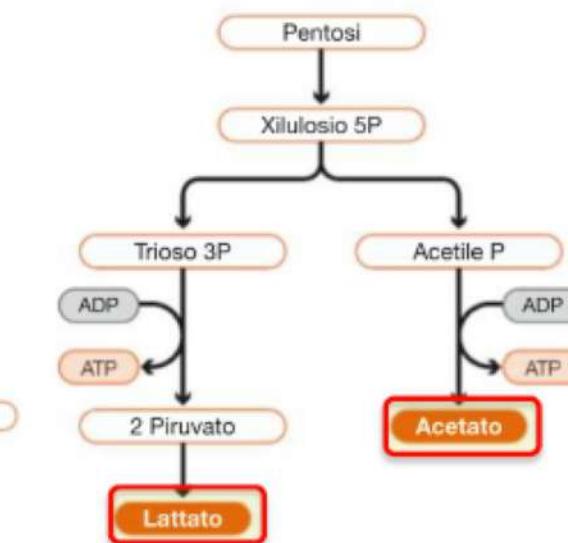
Alcuni LAB possono recuperare energia anche dalla fermentazione degli **zuccheri pentosi** (es. ribosio e arabinosio), che sono meno concentrati e meno frequenti negli alimenti (prevalentemente di origine vegetale).

Condotta da *Lpb pentosus*, *Lpb. plantarum*, *Lpb.paraplanatum*

- **Vie dei Pentosi:** Fermentazione **omofermentante** dei pentosi (via del pentoso fosfato) o **eterofermentante** della fosfocetolasi.



Via di fermentazione omolattica dei monosaccaridi pentosi

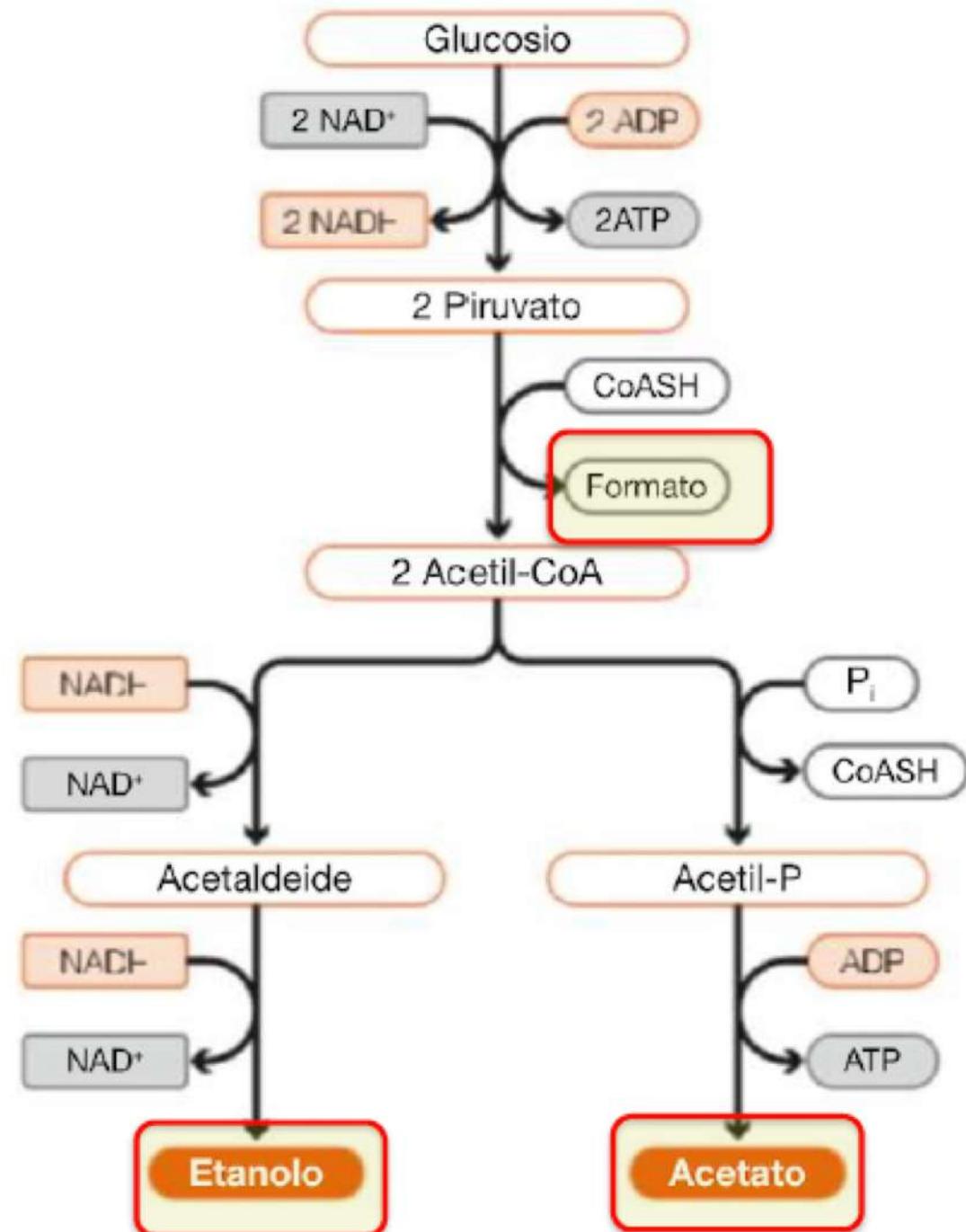


Via di fermentazione eterolattica dei monosaccaridi pentosi

Fermentazione acido mista

Avviene in condizioni di anaerobiosi con zucchero scarsamente disponibile (stress)

Oltre all'etanolo e all'acido acetico, viene prodotto anche dell'acido formico (odore pungente e penetrante)



Metaboliti Secondari e Impatto Globale

Oltre alle vie primarie, i LAB possono seguire vie metaboliche secondarie (cataboliche) che coinvolgono la degradazione di:

- **Acidi organici**
- **Proteine**
- **Lipidi**

Desiderati

Esopolisaccaridi (EPS)

Sostanze aromatiche

Batteriocine

Indesiderati

Ammine biogene

Degradazione di Acidi organici

Acido Organico

Acido Citrico

Acido Malico

Degradazione

Trasformato in ossalacetato e acetato, poi in piruvato o succinato (specie-dipendente).

Convertito in acido lattico con liberazione di CO₂.

Prodotti Chiave

Diacetile, Acetoino, 2,3-butandiolo

Acido Lattico

Impatto Organolettico

Aroma di burro e mandorla.

Forte caratterizzazione aromatica nel vino (Fermentazione Malolattica).

I LAB possono degradare questi composti per recuperare energia in assenza di zuccheri fermentescibili.

LAB Degradazione delle Proteine (Proteolisi)

I LAB sono auxotrofi (incapaci di sintetizzare da sé) per gli amminoacidi.

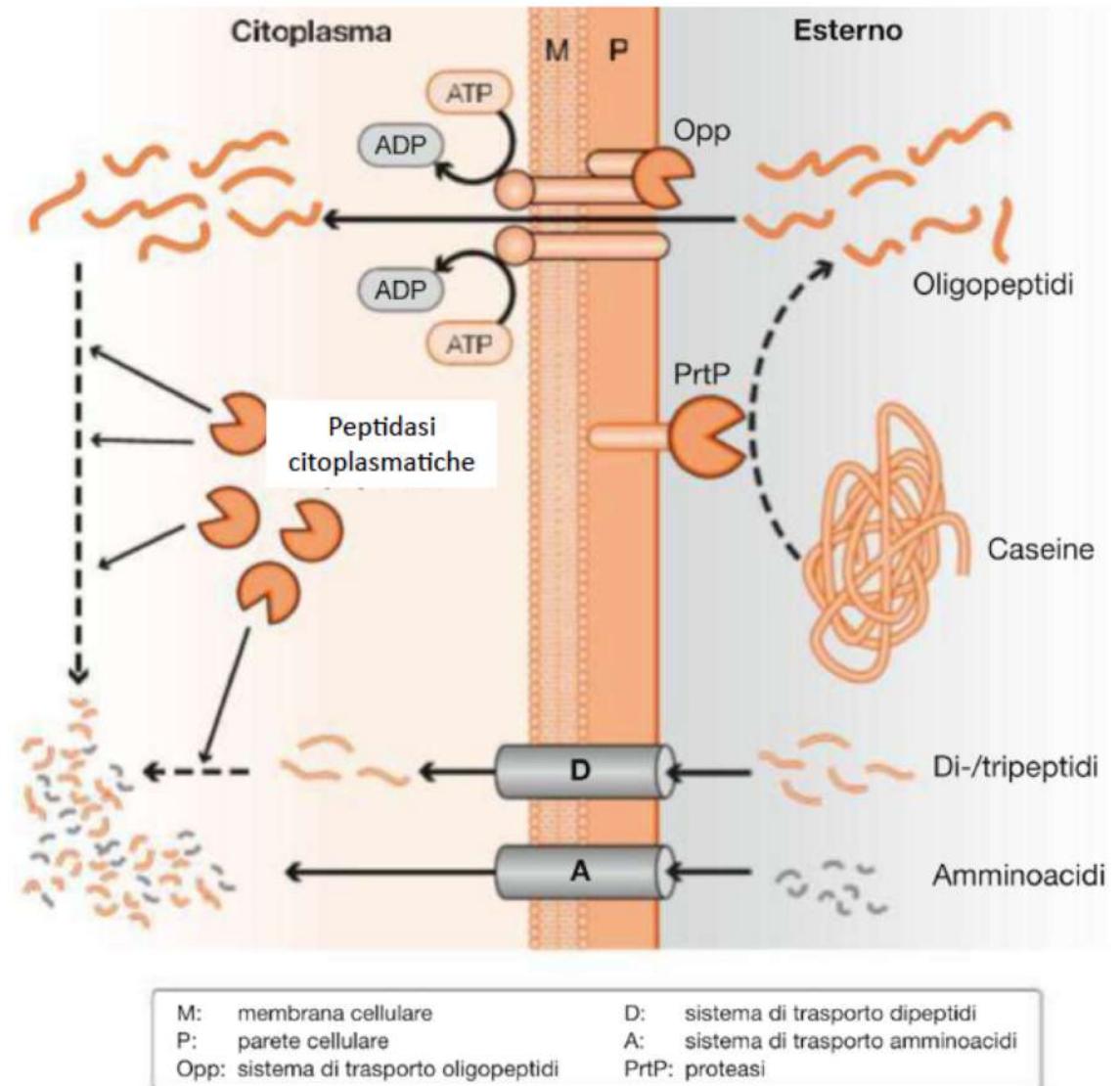
Sequenza del Processo Proteolitico

Proteinasi: Enzimi legati alla parete cellulare o rilasciati. Iniziano la degradazione delle proteine (intero o parzialmente degradate) per liberare oligopeptidi.

Sistema di Trasporto: permette il trasporto degli oligopeptidi all'interno della cellula.

Peptidasi (Citoplasmatiche): degradano in modo intracellulare i peptidi in peptidi più corti e amminoacidi.

Questo processo è cruciale per la nutrizione dei LAB e per il rilascio di precursori dell'aroma (amminoacidi) nell'alimento. Effetto tampone



Degradazione dei Lipidi (Lipolisi)

I LAB sono generalmente considerati scarsamente lipolitici rispetto a microrganismi come *Penicillium* o *Pseudomonas*.

Sono in grado di idrolizzare di- e monogliceridi contenenti acidi grassi a corta catena.

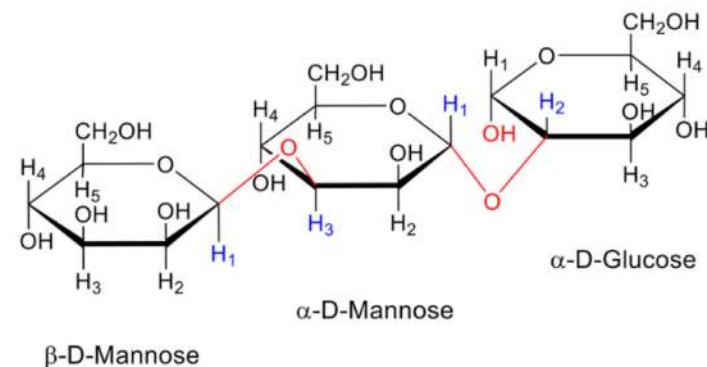
Una parziale attività esterasica suggerisce un limitato coinvolgimento dei LAB nella degradazione della frazione lipidica negli alimenti a lunga stagionatura.

Produzione di Esopolisaccaridi (EPS)

Gli EPS sono polimeri (subunità ripetuta di mono- o oligosaccaridi)

Funzione Tecnologica: Legano l'acqua, aumentando la viscosità, migliorando la texture e diminuendo la sineresi (separazione di fase liquida).

Funzioni biologiche: riserva energetica, interazione tra cellule batteriche, interazione tra cellula ed ambiente (adesione, biofilm)



Tipo di EPS**Composizione****Omopolisaccaridi
(O-EPS)**

Formati da un solo monosaccaride (glucosio, fruttosio, galattosio).

**Eteropolisaccaridi
(E-EPS)**

Costituiti da unità ripetute di zuccheri diversi.

Sintesi e Adesione

Sintetizzati da glicosil-trasferasi extracellulari e rilasciati nell'alimento.

Sintetizzati all'interno della cellula, polimerizzati all'esterno e spesso rimangono adesi alla parete.

Esempi

Destrano, Inulina.

Kefirano, Xantano, Gellano.

Funzioni Fisiologiche degli EPS

La sintesi degli EPS è spesso indotta da condizioni di stress

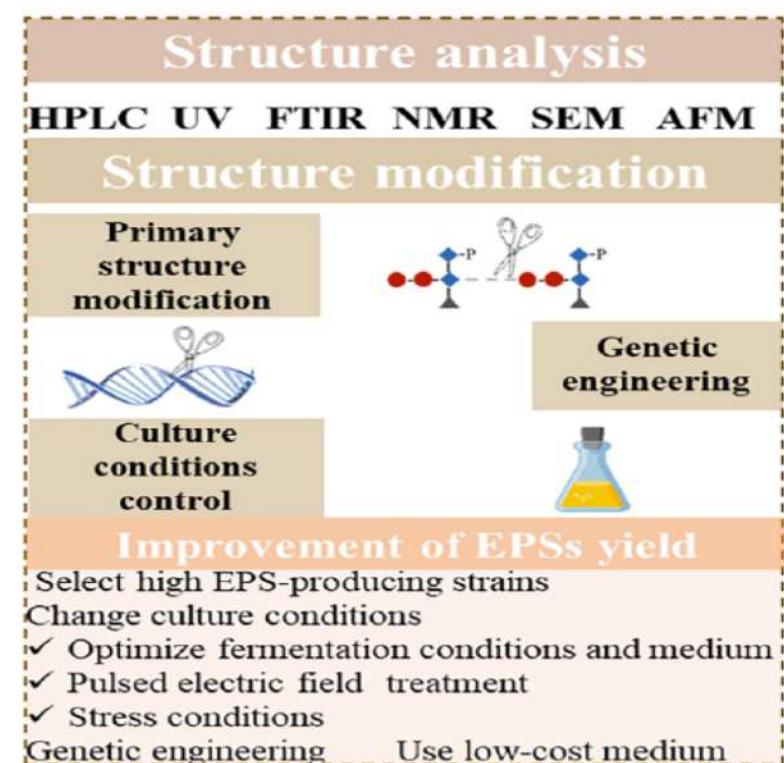
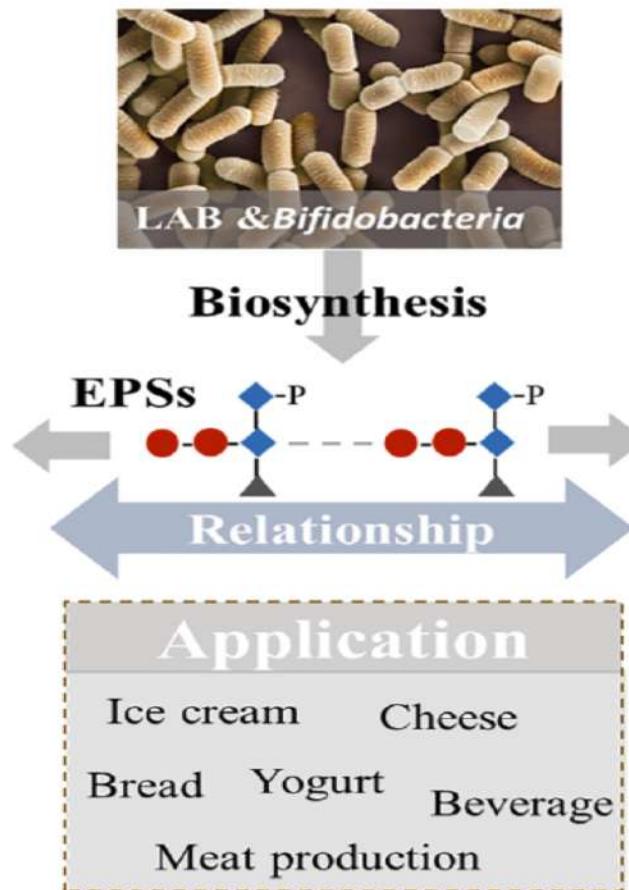
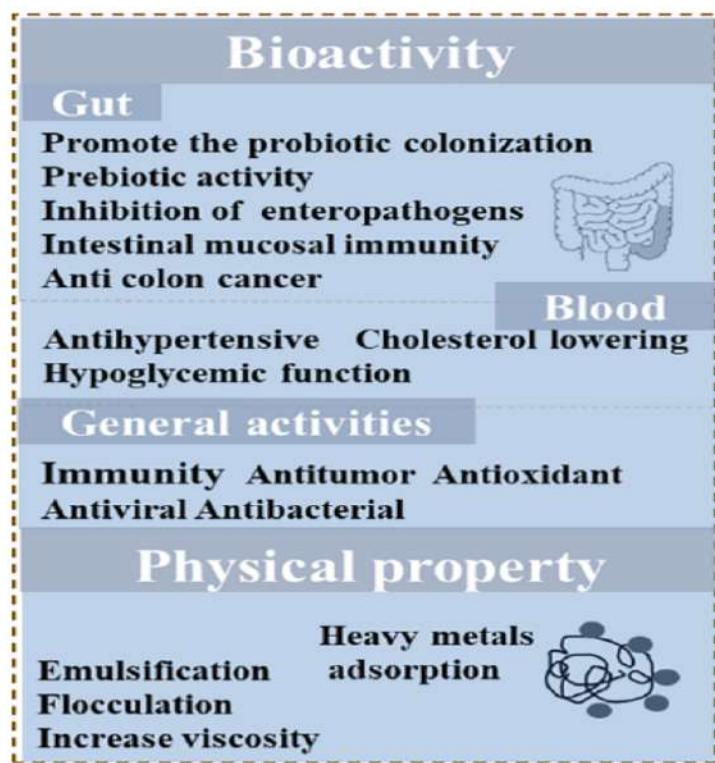
- Protezione Cellulare
- Riserva Energetica
- Interazione Cellulare

Principali Produttori di E-EPS:

Lactobacillus kefiranofaciens, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*.

Principali Produttori di O-EPS:

Leuconostoc, *Pediococcus* e *Weissella*.



cardioprotettivi,
antiulcera, antiossidanti,
inibiscono la proliferazione
delle cellule tumorali



Figure 1: Congo red agar media for testing Exopolysaccharide production.

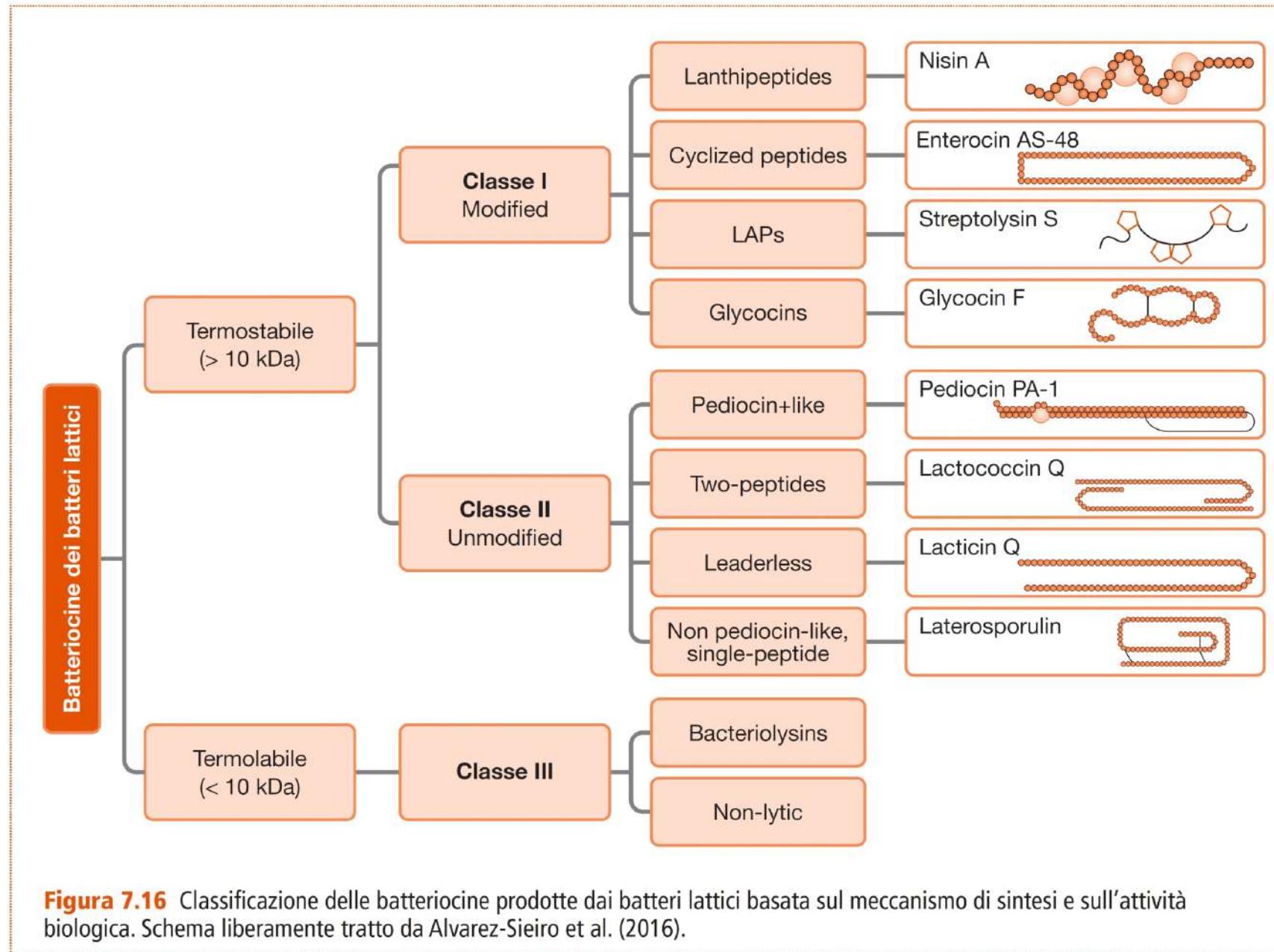
Produzione di Sostanze Aromatiche

Sono molecole volatili o non volatili (alcoli, aldeidi, chetoni, acidi grassi, esteri, solforati) che influenzano i gusti base: amaro, dolce, acido, salato e umami.

derivano dalla degradazione dei componenti principali degli alimenti (carboidrati, proteine, grassi) in composti più semplici (zuccheri, peptidi, amminoacidi).

- Il gusto dolce e l'umami derivano dalla degradazione degli amminoacidi, il gusto amaro dalla liberazione di oligopeptidi, e l'acido dalla produzione di acidi organici (precursori di altri aromi).

Produzione di Sostanze Antimicrobiche



Produzione di Ammine Biogene

Le ammine biogene sono composti azotati a basso peso molecolare prodotti dalla decarbossilazione microbica degli aminoacidi.

Specifici enzimi decarbossilasici sono necessari per catalizzare la rimozione del gruppo carbossilico dall'aminoacido, che viene liberato come CO_2

Difesa Cellulare: La reazione di decarbossilazione è in grado di contrastare l'acidificazione intracellulare. L'accumulo di ammine biogene aiuta la cellula a resistere allo stress acido.

Rischio per la Salute Umana

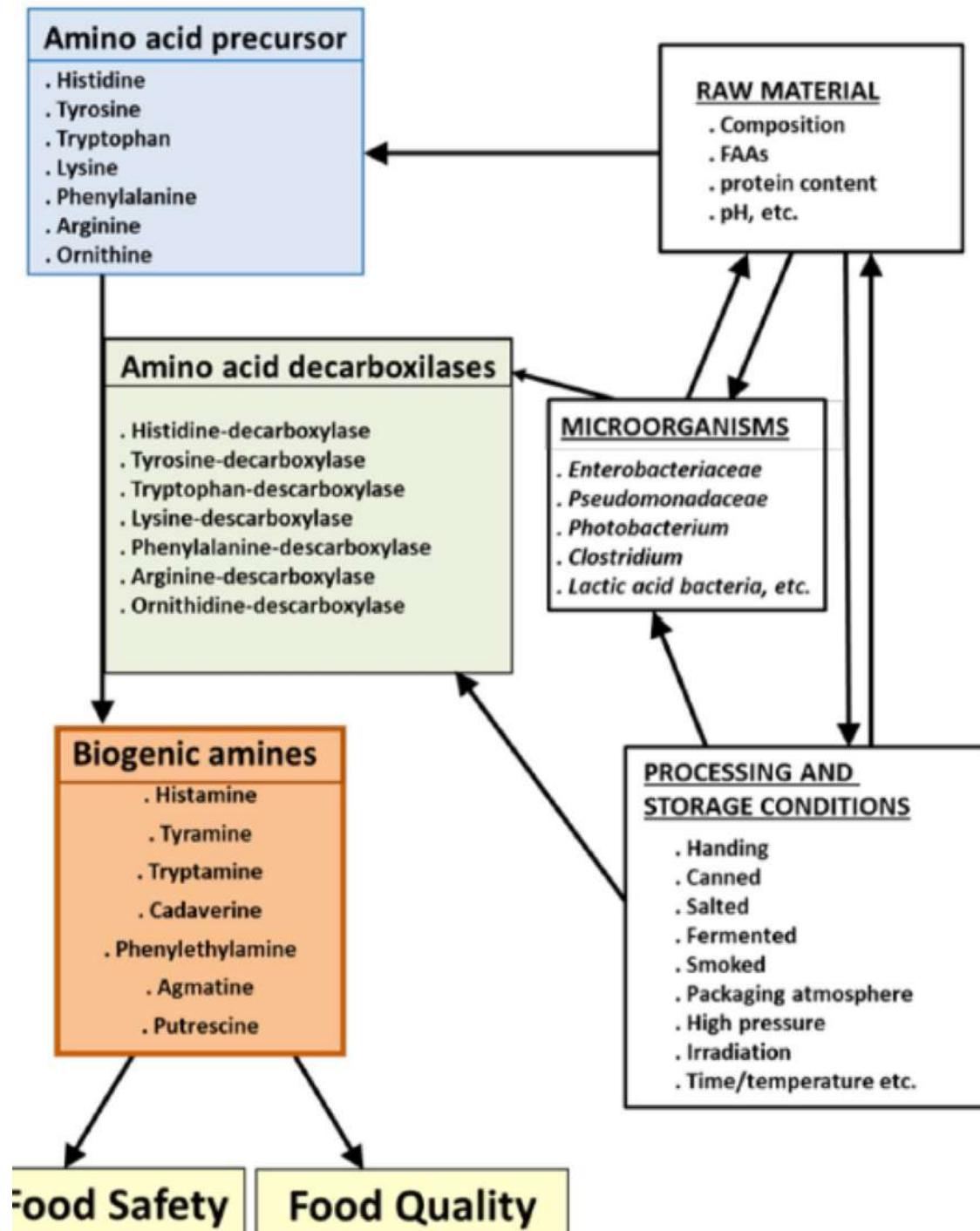
L'ingestione di ammine biogene in quantità eccessive può causare
Mal di testa, palpitazioni cardiache, vomito e diarrea, shock anafilattico (istamina)

Fattori che Influenzano la presenza e la quantità di ammine biogene

Quantità del Precursore

Gli enzimi decarbossilasici possono catalizzare la reazione anche dopo la morte e la lisi cellulare dei LAB

Tempo di Conservazione/Stagionatura: È più probabile ritrovare ammine biogene in alimenti lungamente stagionati o conservati, poiché c'è più tempo per la degradazione del precursore e per l'azione degli enzimi liberi.



Antibiotico resistenza

Capacità di alcuni batteri di sopravvivere e moltiplicarsi in presenza di antibiotici (fenotipo)

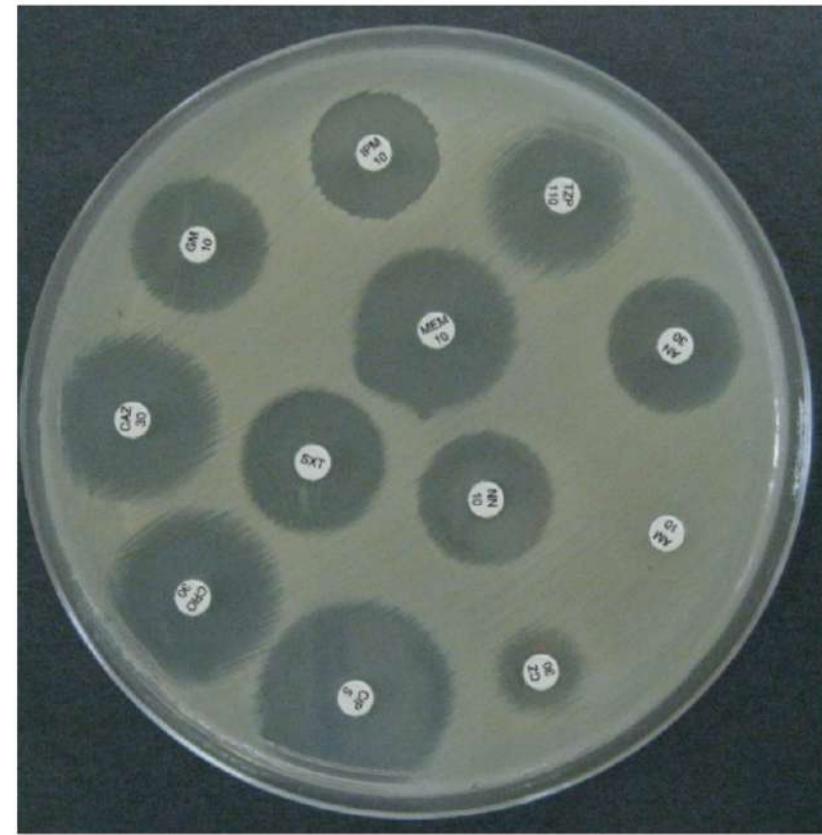
La resistenza agli antibiotici può variare da ceppo a ceppo all'interno della medesima specie
Le determinanti genetiche della resistenza, possono essere contenuti in plasmidi: DNA extracromosomico che può essere scambiato tra cellule batteriche

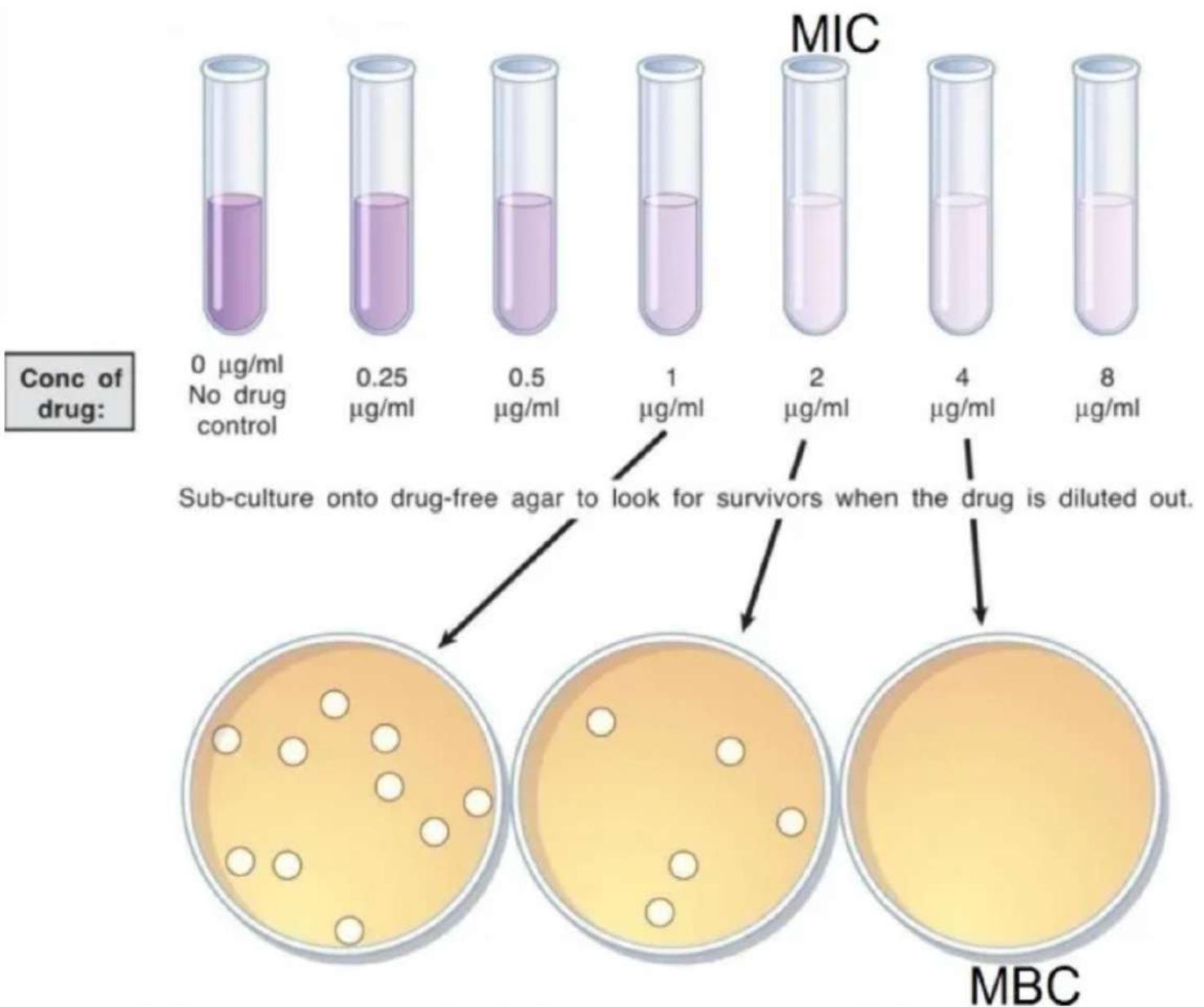
Si valuta:

1. Suscettibilità (Test di Kirby-Bauer)
2. La concentrazione inibente minima (*Minimal Inhibitory Concentration*; MIC) con metodo per diluizione
3. La concentrazione bettericida minima (*Minimal Bactericidal Concentration*; MBC) a seguito del metodo per diluizione

Prima analisi: verificare la suscettibilità agli antibiotici con Antibiogramma o test di Kirby-Bauer:

1. Seminare con tampone sterile un ceppo su una piastra
2. Aggiungere sul terreno dei dischetti sterili imbevuti di antibiotico
3. Incubare a tempi e temperature ottimali per il ceppo batterico
4. Valutare la formazione di aloni di inibizione intorno a ciascun dischetto





MIC: definita come la concentrazione (mg/L) di un antibiotico che inibisce visivamente la crescita *in vitro* di un microrganismo

MBC: la concentrazione di antibiotico che uccide il microorganismo; valutabile con semina ed incubazione su terreno colturale privo di antibiotico, a seguito del metodo per diluizione

Table 1. Bacterial cut-off values (mg/L)

	ampicillin	vancamycin	gentamicin	kanamycin	streptomycin	erythromycin	clindamycin	tetracycline	chloramphenicol
<i>Lactobacillus</i> obligate homofermentative ^a	1	2 ^b	16	16	16	1	1	4	4
<i>Lactobacillus acidophilus</i> group	1	2	16	64	16	1	1	4	4
<i>Lactobacillus</i> obligate heterofermentative ^c	2	n.r.	16	32	64	1	1	8	4
<i>Lactobacillus reuteri</i>	2	n.r.	8	64	64	1	1	16	4
<i>Lactobacillus</i> facultative heterofermentative	4	n.r.	16	64	64	1	1	8	4
<i>Lactobacillus plantarum/pentosus</i>	2	n.r.	16	64	n.r.	1	2	32	8
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	4	n.r.	16	64	32	1	1	8	4
<i>Lactobacillus casei /paracasei</i>	4	n.r.	32	64	64	1	1	4	4
<hr/>									
<i>Bifidobacterium</i>	2	2	64	n.r.	128	1	1	8	4
<i>Pediococcus</i>	4	n.r.	16	64	64	1	1	8	4
<i>Leuconostoc</i>	2	n.r.	16	16	64	1	1	8	4
<i>Lactococcus lactis</i>	2	4	32	64	32	1	1	4	8
<i>Streptococcus thermophilus</i>	2	4	32	64	64	2	2	4	4
<i>Bacillus</i> spp	n.r.	4	4	8	8	4	4	8	8
<i>Propionibacterium</i>	2	4	64	64	64	0.5	0.25	2	2
Other Gram +	1	2	4	16	8	0.5	0.25	2	2

n.r. not required.

^a including *L. delbrueckii*, *L. helveticus*

^b not required for *L. salivarius*

^c including *L. fermentum*