

Principali microrganismi coinvolti in processi alimentari

Batteri } procarioti



Lactobacillus
Leuconostoc
Pediococcus
Streptococcus
Lactococcus

Aerococcus
Tetragenococcus
Oenococcus
Vagococcus
Carnobacterium

Batteri lattici

Gluconobacter
Acinetobacter

Sporolactobacillus
Bacillus
Bifidobacterium

Batteri probiotici

Propionibacterium

Batteri propionici

Clostridium butyricum
Escherichia coli

Lieviti } eucarioti
Muffe }



Saccharomyces cerevisiae
Schizosaccharomyces pombe
Pichia membranaefaciens
Aspergillus oryzae
Penicillium camemberti
Penicillium roqueforti
Geotricum
Mucor

Gruppi microbici di interesse alimentare

I microrganismi coinvolti nella preparazione di alimenti o in processi alterativi o responsabili di infezioni e tossi-infezioni sono generalmente organizzati in “gruppi” sulla base di comuni caratteristiche colturali e metaboliche. Questi “gruppi” non hanno solitamente un valore tassonomico. I principali gruppi microbici di interesse alimentare sono di seguito riportati:

Batteri lattici

Si tratta di batteri Gram positivi che producono quantità apprezzabili di acido lattico a partire da carboidrati. Sono generalmente ritenuti NON patogeni. (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Oenococcus*, *Vagococcus*, *Carnobacterium*).

Batteri acetici (*Acetobacter aceti*)

Batteri propionici

Si tratta di specie batteriche che producono quantità apprezzabili di acido propionico (*Propionibacterium freudenreichii*) e sono utilizzate nella produzione di formaggi tipo *Emmenthal*.



Batteri proteolitici

In questo gruppo sono riuniti tutti generi microbici di interesse alimentare caratterizzati da una spiccata attività proteolitica dovuta alla produzione di proteinasi extracellulari. (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Enterobacteriaceae*, *Brevibacterium*)

Batteri lipolitici

Diverse specie appartenenti ai generi *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium* sono caratterizzati dalla produzione di lipasi extracellulari.

Batteri Saccarolitici

Si tratta di microrganismi in grado di idrolizzare polisaccaridi complessi. (*Bacillus*, *Clostridium*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*).

Batteri termofili

_____ Si tratta di microrganismi in grado di crescere a temperature maggiori o uguali a 50 °C. (*Bacillus, Clostridium, Pediococcus, Streptococcus, Lactobacillus*).

Batteri psicrotrofi

_____ Si tratta di microrganismi in grado di crescere a temperature inferiori o uguali a 5 °C. (*Pseudomonas, Alteromonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Serratia, Bacillus, Clostridium, Lactobacillus, Leuconostoc, Carnobacterium, Brochothrix, Listeria, Yersinia, Aeromonas*).

Batteri termodurici

Diversi microrganismi sono in grado di sopravvivere alle temperature di pastorizzazione (71 °C per 15 min). (*Micrococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Pediococcus, Bacillus e Clostridium*).

Batteri alotolleranti

Si tratta di microrganismi in grado di sopravvivere a concentrazioni saline maggiori del 10 %. (*Bacillus, Micrococcus, Staphylococcus, Pediococcus, Vibrio, Corynebacterium*)

Batteri osmofili

Possono crescere in soluzioni ad elevata concentrazione di soluti. (*Staphylococcus, Leuconostoc, Lactobacillus*).

Batteri gasogeni

Molti batteri producono gas (CO₂, H₂, H₂S). (*Leuconostoc, Lactobacillus, Propionibacterium, Escherichia coli, Enterobacter, Clostridium*).

Coliformi

_____ Utilizzati come indice del livello igienico di alimenti e ambienti. (*Escherichia, Enterobacter, Citrobacter, Klebsiella*)

Coliformi fecali

_____ Utilizzati Utilizzati come indice del livello igienico di alimenti e ambienti. (*Escherichia coli*).

Patogeni enterici

_____ Si tratta di batteri che possono determinare l'instaurarsi di tossi-infezioni gastro-intestinali. (*Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia, Escherichia, Vibrio, etc*)

La MICROBIOLOGIA ALIMENTARE è una branca dell'ECOLOGIA MICROBICA

Al fine di gestire al meglio le condizioni di crescita e le attività metaboliche dei microrganismi negli alimenti sono necessarie una serie di informazioni inerenti a:

- ➔ • grado di diversità biologica e all'identità tassonomica delle specie e dei ceppi che contaminano e colonizzano l'alimento in ogni stadio del processo produttivo, dalla materia prima al prodotto finito;
- ➔ • dati quantitativi che descrivono l'andamento delle popolazioni di specie e ceppi microbici durante le diverse fasi del processo produttivo;
- ➔ • distribuzione spaziale delle specie microbiche nel prodotto;
- ➔ • significato biochimico e fisiologico del processo di colonizzazione microbica;
- ➔ • effetto dei fattori intrinseci e di processo-conservazione che possono influenzare la crescita, la sopravvivenza e le attività metaboliche microbiche;
- ➔ • le correlazioni esistenti tra la crescita, le attività metaboliche e la qualità e la sicurezza del prodotto alimentare.

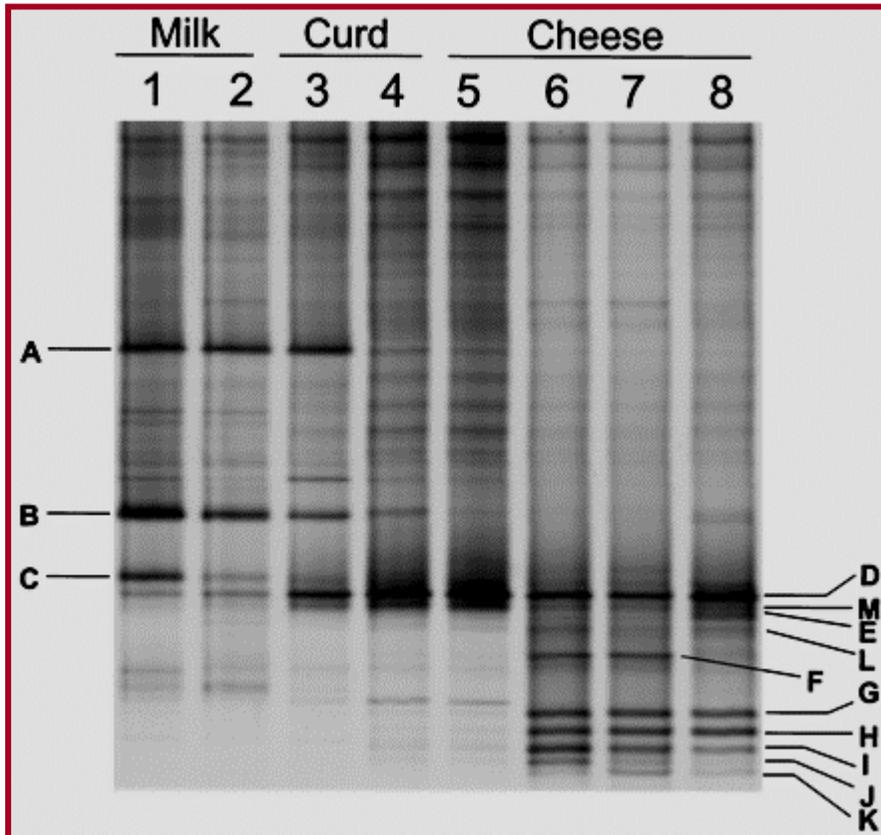
La valutazione del grado di diversità biologica rimane sempre una stima della reale diversità microbica esistente sia per la difficoltà di recuperare le specie presenti a bassa concentrazione nel campione, sia per l'annoso problema delle specie non coltivabili.

Diversity, Dynamics, and Activity of Bacterial Communities during Production of an Artisanal Sicilian Cheese as Evaluated by 16S rRNA Analysis†

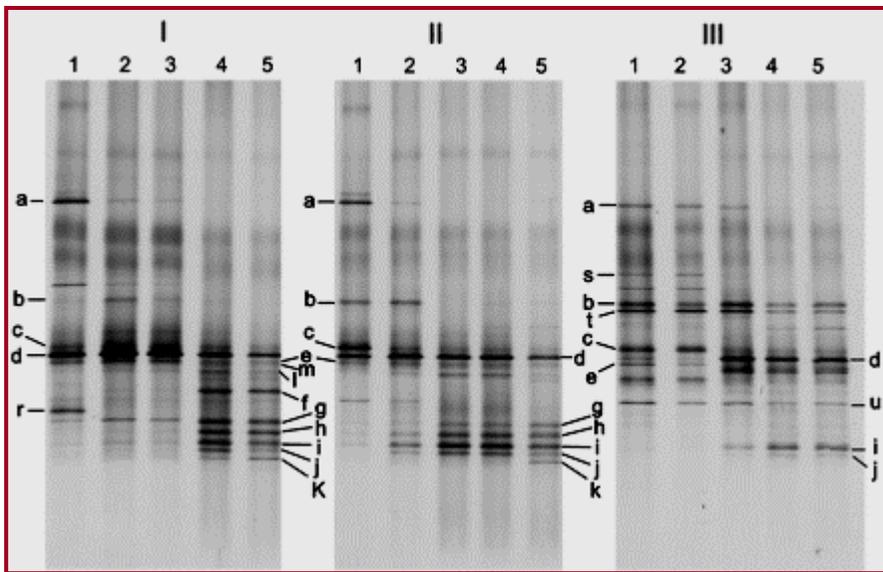
Cinzia L. Randazzo,^{1,2} Sandra Torriani,^{2‡} Antoon D. L. Akkermans,¹ Willem M. de Vos,¹ and Elaine E. Vaughan^{1*}

Laboratory of Microbiology, Department of Agrotechnology and Food Sciences, Wageningen University, 6703 CT Wageningen, The Netherlands,¹ and Laboratory of Microbiology, Dipartimento di Orto-Flora-Arboreicoltura e Tecnologie Agroalimentari, University of Catania, Catania, Italy²

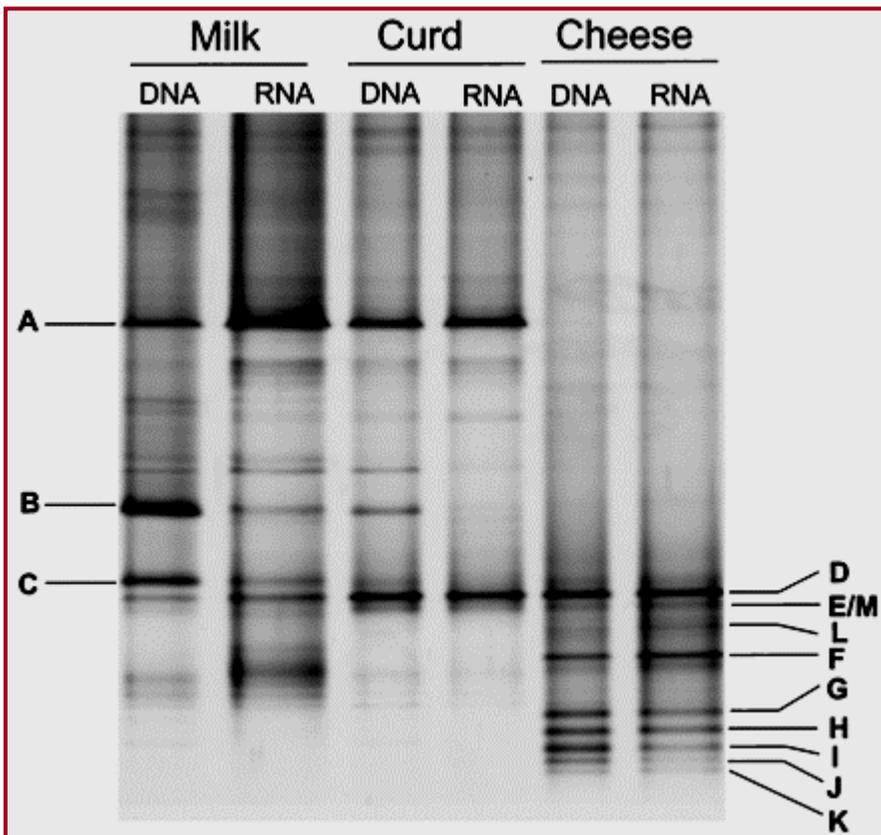
Received 10 August 2001/Accepted 14 January 2002



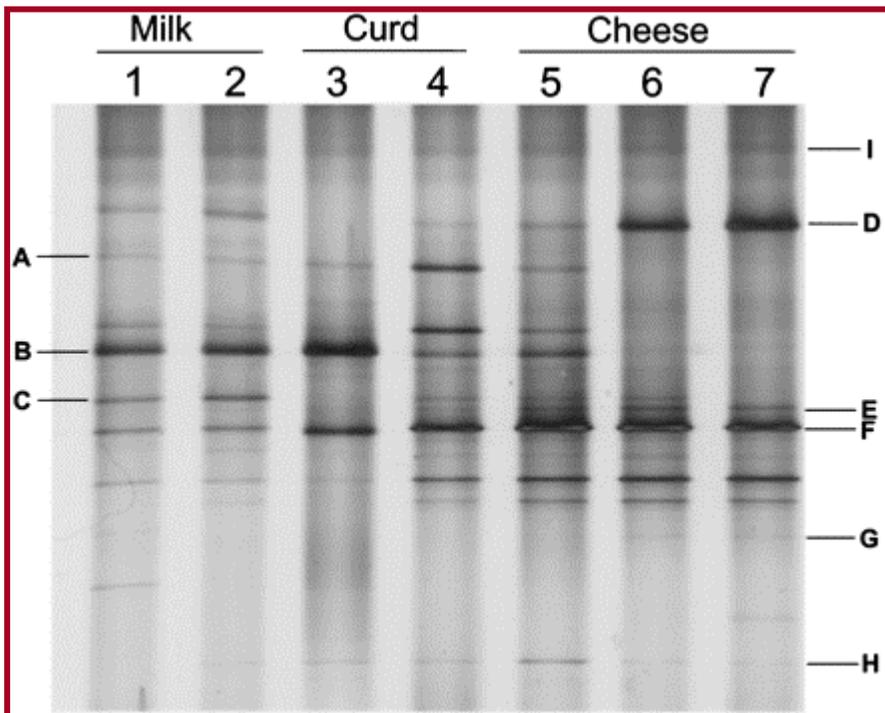
DGGE of PCR products of the V6 to V8 regions of 16S rDNA that represent the biodiversity in samples taken during Ragusano cheese manufacture provided by farmer I. Lanes: 1, milk; 2, milk with added rennet; 3, curd; 4, curd after fermentation; 5, fresh cheese; 6 and 7, 15- and 30-day ripened cheese, respectively; and 8, a 15-day ripened cheese provided by the same farmer after a period of 6 months. The positions of bands discussed in the text are indicated by letters that correspond to species of bacteria: A, *Macrococcus caseolyticus*; B, *Lactococcus lactis*; C, *Leuconostoc mesenteroides*; D, *Streptococcus thermophilus*; E, *Streptococcus bovis*; F, G, H, I, and J, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; K, *Lactobacillus fermentum*; L, *Lactobacillus casei*; and M, *Enterococcus hirae*. The identification of the bands is discussed in the text.



DGGE of PCR amplicons of the V6 to V8 regions of 16S rDNA that represent the biodiversity in samples taken during Ragusano cheese manufacture provided by three different farmers, I, II, and III. Lanes: 1, curd; 2, curd after fermentation; 3, fresh cheese; 4 and 5, 15- and 30-day ripened cheese, respectively. The positions of bands discussed in the text are indicated by the letters. Bands a to m correspond to the same bands in Fig. 1.



Comparison between DGGE patterns of PCR and RT-PCR products of the V6 to V8 regions from simultaneous DNA and rRNA isolations of milk, curd, and 15-day ripened cheese samples from farmer I. The bands are discussed in the text, and the positions of the bands are indicated by letters that correspond to those in Fig. 1.



DGGE profiles of amplicons generated by PCR with the *Lactobacillus*-specific primer that represent the *Lactobacillus* genus biodiversity in samples taken during Ragusano cheese manufacture provided by farmer I. Lanes: 1, milk; 2, milk with added rennet; 3, curd; 4, curd after fermentation; 5, fresh cheese; 6 and 7, 15- and 30-day ripened cheese samples, respectively. The positions of bands discussed in the text are indicated by letters that correspond to species of bacteria: A, *Leuconostoc mesenteroides*; B, *Leuconostoc lactis*/*Leuconostoc argentinum*; C, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*; D, *Lactobacillus fermentum*; E and F, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; G, *Pediococcus acidilactici*; H, *Lactobacillus casei*; and I, *Lactobacillus plantarum*. The identification of the bands is discussed in the text.

TABLE 3. Microbial enumeration of samples taken during Ragusano cheese production on different media^a

Sample	Bacterial count (log ₁₀ CFU/g of sample)						
	PCA (aerobic mesophiles)	M17 (<i>Streptococcus</i> spp.)	M17 ⁺ (<i>Lactococcus</i> spp.)	FH (mesophilic <i>Lactobacillus</i> spp.)	MRS (pH 5.2) (thermophilic <i>Lactobacillus</i> spp.)	MSE (<i>Leuconostoc</i> spp.)	KAA (<i>Enterococcus</i> spp.)
Milk	8.2	7.9	8.2	8.0	5.3	4.3	5.3
Milk & rennet	8.5	8.4	8.5	8.5	6.4	4.5	6.4
Cooked curd	8.8	8.9	8.8	7.9	7.5	5.6	5.7
Curd after 24 h	8.8	9.0	9.1	7.8	8.4	6.8	5.8
Fresh cheese	8.5	8.8	8.3	8.3	8.3	6.1	6.1
Cheese, 15-day	8.5	9.2	7.8	8.7	8.6	7.1	6.8
Cheese, 30-day	8.4	8.5	7.6	8.7	8.6	7.7	7.4

^a See the text for an explanation of the media. The targeted microorganisms are shown for each medium. M17⁺ is M17 containing cycloheximide.

TABLE 5. Identities of pure isolates

Strain	16S rDNA sequence	Closest relative	Identity (%)	Fragment ^a	GenBank accession no.	Related isolates ^b
CR300	1,503	<i>Enterococcus faecalis</i>	99	E-L ^c	AF349929	
CR303	1,400	<i>Enterococcus hirae</i>	98	M	AF349930	CR301, CR305, CR304, CR318
CR310	1,399	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	99	C	AF349931	CR319
CR314	1,445	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98	D	AF349932	CR315, CR322
CR316	1,456	<i>Enterococcus sulfurans</i>	97		AF349933	
CR317	1,228	<i>Lactococcus lactis</i>	97	B	AF349934	
CR6A	1,513	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99	K	AF349935	CR4A, CR5A, CR1, CR2, CR3, CR4, CR5, CR7, CR8, CR9, CR10
CR7A	1,250	<i>Lactobacillus plantarum</i>	98		AF349936	CR11
CR609	1,220	<i>Lactobacillus casei</i>	99	L	AF349937	CR600, CR601
CR6	1,530	<i>Pediococcus acidilactici</i>	98		AF349938	CR606

^a Letters correspond to fragments in Fig. 1.

^b Isolates that had the same RFLP and DGGE patterns.

^c Fragment was positioned between these bands in Fig. 1.