Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Produzioni Animali Sostenibili LM-86

UD-2

Insegnamento in: ***SANITA' E SICUREZZA DEI PRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE OTTENUTI DA TECNOLOGIE INNOVATIVE E SOSTENIBILI***

SSD: VET/04; 6 CFU (60 ore)

BIOFILM: Adesione e desorbimento

A.A. 2026-2027

Docente del Corso:
Dr. Gianluigi Ferri
DVM; PhD in Food Inspection
gferri@unite.it

MODULO 1: INTRODUZIONE

Che cos'è il Biofilm?

Definizione Scientifica

Una **comunità sessile** di microrganismi inclusi in una matrice polimerica di origine batterica adesa saldamente a una superficie.

Comunità Organizzata

I batteri non vivono soli, ma cooperano coordinandosi reciprocamente.

Matrice Protettiva

Prodotta dagli stessi batteri per proteggersi dai rischi esterni.

Ancoraggio alla Superficie

Capacità di aderire a materiali organici ed inorganici.

MODULO 1: STORIA

La Scoperta del Biofilm: Anton van Leeuwenhoek

SECOLO XVII

Prime Osservazioni

Scoperta di microrganismi nella placca dentale umana mediante il primo microscopio ottico.

CONCETTO

Gli "Animalcules"

Definiti come piccole entità viventi organizzate in comunità su superfici organiche.

ANNI '80-'90

Svolta Moderna

Conferma scientifica grazie alla microscopia elettronica avanzata a scansione.

MODULO 1: SUBSTRATI

Superfici Biotiche e Abiotiche

Superfici Biotiche

Superfici vive o d'origine biologica organica.

- **Tessuti viventi:** Denti, mucose, pelle.
- **Matrici alimentari:** Carne, formaggi, verdure.

Superfici Abiotiche

Inerti, materiali e strumenti di lavoro.

- **Metalli:** Acciaio inox dei macchinari.
- **Polimeri:** Teflon, plastica, gomma, vetro.

MODULO 2: STATI BACTERICI

Stato Planctonico vs Stato Sessile



Stato Planctonico

Batteri in forma singola e libera nel mezzo fluidodinamico.

Vulnerabili ai disinfettanti



Stato Sessile (Biofilm)

Batteri ancorati adesi in un'architettura complessa e protratta.

Altamente resistenti

MODULO 2: DEFINIZIONI CHIAVE

Microbiota vs Microbioma

Microbiota

La **popolazione di microrganismi** specifica che colonizza un determinato substrato o ambiente.



Microbioma

Include la **totalità del patrimonio genetico** e le interazioni ambientali delle comunità microbiche.

MODULO 2: EVOLUZIONE

Perché i Batteri formano il Biofilm?

SOPRAVVIVENZA

Una strategia evolutiva fondamentale per garantire la propagazione nel tempo e nello spazio.

Protezione dai disinfettanti

Resistenza agli antibiotici

MODULO 2: SOCIO-MICROBIOLOGIA

Il Comportamento Sociale dei Batteri

Socio-Microbiologia

Disciplina che studia il comportamento coordinato e cooperativo dei gruppi batterici.

Il biofilm non è un insieme casuale di cellule, ma un'**aggregazione strutturata ed altamente organizzata**.

- **Comunicazione:** Scambio di segnali chimici.
- **Cooperazione:** Divisione dei compiti metabolici.
- **Sincronizzazione:** Risposta coordinata agli stress.

MODULO 2: FUNZIONE PROTETTIVA

Lo Scudo Protettivo Batterico

Agenti Disinfettanti

Ostacola la penetrazione diretta dei biocidi di sanificazione.

Antibiotici

Neutralizza o rallenta la diffusione delle molecole farmacologiche.

Disidratazione

Mantiene un alto grado di idratazione (fino al 97% d'acqua).

MODULO 3: CICLO VITALE

Un Processo Ciclico e Dinamico

STEP 1

Formazione

Adesione reversibile

STEP 2

Adesione

Sintesi EPS irreversibile

STEP 3

Strutturazione

Canali idrici e 3D

STEP 4

Maturazione

Crescita esponenziale

STEP 5

Dispersione

Distacco planctonico

MODULO 3: FATTORI AMBIENTALI

Parametri del Substrato e dell'Ambiente

Parametro	Effetto sull'Adesione
Rugosità e Materiale	Superfici apolari e ruvide facilitano l'ancoraggio.
Temperatura e pH	Modulano l'attività metabolica e la sintesi di EPS.
Idrofobicità	Interazioni idrofobiche promuovono il contatto.
Residui Organici	Forniscono il nutrimento iniziale essenziale.

MODULO 4: FASE 1

Fase 1: Transizione e Primo Contatto

EVENTO CHIAVE

Passaggio di Stato

I batteri passano in breve tempo dallo stato planctonico libero ad una prima aggregazione instabile.

CARATTERISTICA

Adesione Reversibile

Il contatto è debole e instabile: il batterio può staccarsi facilmente ritornando nel fluido.

MODULO 4: FISICO-CHIMICA

Forze ed Interazioni Elettrochimiche Deboli

Van der Waals

Forze attrattive a corto raggio tra atomi e molecole.

Interazioni Idrofobiche

Repulsione molecolare dell'acqua che avvicina le strutture.

Moto Browniano

Movimento casuale microscopico che favorisce il contatto casuale.

MODULO 4: FILM CONDIZIONANTE

Il Film Condizionante

Adsorbimento di Nutrienti

Prima dell'arrivo dei batteri, residui di molecole organiche (proteine, carboidrati) ed inorganiche si depositano sulla superficie.

Prerequisito per la crescita

Nota Importante:

La sola presenza del film condizionante **non garantisce automaticamente** la successiva formazione del biofilm maturo.

MODULO 4: PROPRIETÀ DEI MATERIALI

Superfici Apolari vs Polari

FACILITANO L'ADESIONE

Superfici Apolari

Teflon, plastiche e polimeri sintetici.

L'idrofobicità attrae le strutture superficiali batteriche.

MINORE ATTITUDINE INIZIALE

Superfici Polari

Acciaio inossidabile e vetro.

Soggette comunque a colonizzazione in presenza di lesioni/graffi.

MODULO 4: STRUTTURA PARIETALE

Appendici Cellulari Facilitanti

Fimbrie

Proiezioni filamentose corte che mediano l'ancoraggio diretto.

Flagelli

Organelli di motilità che permettono il raggiungimento attivo del substrato.

Pili

Strutture proteiche coinvolte nell'adesione e nello scambio genetico.

MODULO 5: FASE 2

Fase 2: Adesione Irreversibile

SECREZIONE MASSIVA

Sintesi di EPS

I batteri aderiscono massivamente producendo sostanza polimerica extracellulare (EPS).

STABILIZZAZIONE

Ponti Tridimensionali

Si formano legami covalenti e ponti molecolari che rendono impossibile lo stacco semplice.

MODULO 5: MATRICE EPS

Extracellular Polymeric Substance (EPS)

90 - 97%

Contenuto d'Acqua nella Matrice Esopolisaccaridica

Un conglomerato idratato di biopolimeri e macromolecole glucidiche complesse.

MODULO 5: ETEROGENEITÀ

Composizioni Specifiche dell'EPS

LISTERIA MONOCYTOGENES

Matrice Proteica

Componente maggioritaria costituita da proteine di superficie e strutturali.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Matrice Esopolisaccaridica

Componente prevalente costituita da glucani e poli-N-acetilglucosamina (PNGA).

MODULO 6: FASE 3

Fase 3: Strutturazione Tridimensionale

Rete Tridimensionale

Un numero sempre maggiore di cellule rimane intrappolato nella matrice, moltiplicandosi e creando stabilità meccanica elevata.

Resistenza Meccanica

L'ancoraggio diventa così forte da richiedere forze d'impatto notevoli per la disgregazione.

MODULO 6: COMPOSIZIONE

Macromolecole della Matrice

Acidi Nucleici (eDNA)

DNA extracellulare per stabilità e trasferimento genetico.

Proteine ed Enzimi

Enzimi esocellulari per nutrimento e difesa.

Lipidi

Conferiscono idrofobicità e coesione alla matrice.

MODULO 6: CIRCOLAZIONE INTERNA

Canalizzazioni e Perfusione

Canali Altamente Permeabili

All'interno della matrice si formano canalicoli idrici che simulano un vero e proprio sistema circolatorio primitivo.

Afflusso di Nutrienti

Garantiscono la perfusione di metaboliti essenziali.

Rimozione dei Scarti

Allontanano rapidamente i cataboliti tossici dalle colonie.

MODULO 7: QUORUM SENSING

Che cos'è il Quorum Sensing?

Dialogo Biochimico

Meccanismo di comunicazione cellula-cellula basato sulla sintesi e sulla percezione di segnali chimici.

Valore Soglia di Densità

Il sistema si innesca solo quando la popolazione batterica raggiunge un'elevata densità critica.

MODULO 7: AUTOINDUTTORI

Gli Autoinduttori (AHL)

AHL

Omoserina lattone acetilato: principale molecola segnale nei Gram-negativi.

Rilascio e Captazione

Secreto nella matrice e riassorbito dalle cellule adiacenti via endocitosi.

Attivazione Genica

Legame con proteine regolatrici per stimolare la trascrizione del DNA.

MODULO 7: MECCANISMO

Cascata di Sintesi dell'AHL Sintasi

FASE 1

Ingresso AHL

AHL entra nella cellula

FASE 2

Legame Proteico

Legame a proteina attivatrice

FASE 3

Trascrizione

Espressione gene AHL Sintasi

FASE 4

Sintesi Esponenziale

Rilascio massivo nel mezzo

MODULO 7: REGOLAZIONE FISIOLOGICA

Funzioni Controllate dal Quorum Sensing

Attività Regolata	Impatto Fisiologico
Espressione della Virulenza	Attivazione coordinata della produzione di tossine.
Coniugazione Genetica	Trasferimento orizzontale di plasmidi tra batteri adiacenti.
Motilità e Sporulazione	Controllo del movimento e formazione di spore di resistenza.
Formazione del Biofilm	Sintesi massiva della matrice EPS strutturata.

MODULO 8: FASE 4

Fase 4: Maturazione del Biofilm

Crescita Esponenziale

I batteri oramai adesi irreversibilmente si moltiplicano attingendo energia dal substrato e dall'ambiente circostante.

Prevenzione dello Stacco Precoce

L'elevata secrezione di EPS stabilizza le micro-colonie impedendone il distacco accidentale per fluttuazione.

MODULO 8: GRADIENTI AMBIENTALI

Tensione d'Ossigeno e Stratificazione

STRATI ESTERNI

Batteri Aerobi

Si collocano nelle zone superficiali a contatto diretto con l'ossigeno.

STRATI PROFONDI

Batteri Anaerobi Stretti

Incastonati nelle zone profonde prive di ossigeno gassoso.

MODULO 9: FASE 5

Fase 5: Distacco e Dispersione

Chiusura del Ciclo Vitale

Le cellule batteriche tornano allo stato planctonico libero per diffondere nell'ambiente.

Colonizzazione di Nuove Nicchie

Garantisce la propagazione e la sopravvivenza della specie su nuove superfici pulite.

MODULO 9: MECCANISMI DI DISTACCO

Dispersione Meccanica vs Enzimatica

Dispersione Meccanica

Causata dal flusso dinamico dei liquidi, abrasione o attrito meccanico sulle superfici.

Dispersione Enzimatica

Regolata geneticamente tramite secrezione di enzimi idrolitici **polisaccaride-liasi**.

MODULO 10: RESISTENZA

Vantaggi Evolutivi del Biofilm

Protezione Antimicrobica

Barriera contro biocidi e disinfettanti industriali.

Accumulo Nutrizionale

Concentrazione e ritenzione dei substrati nutritivi.

Ritenzione Idrica

Prevenzione completa della disidratazione batterica.

MODULO 10: AMBITO SANITARIO

Incredibile Grado di Resistenza

10 - 10.000x

Maggiore Resistenza rispetto allo Stato Planctonico

Rende inefficaci i normali dosaggi dei comuni principi attivi igienizzanti.

MODULO 10: MECCANISMI DI DIFESA

Chelaizone ed Azione Enzimatica

Azione Chelante dell'EPS

I polimeri polisaccaridici legano e sequestrano le molecole antimicrobiche neutralizzandole.

Neutralizzazione Enzimatica

Presenza di enzimi nella matrice con azione catalitica degradativa verso le molecole battericide.

MODULO 10: GENETICA

Trasferimento Plasmidico Orizzontale

Scambio Genetico Facilitato

La vicinanza fisica estrema tra le cellule del biofilm promuove il passaggio di plasmidi recanti geni di resistenza agli antibiotici.

Impatto Sanitario:

Aumento esponenziale dei fenotipi batterici multi-resistenti (AMR) diffusi nella filiera.

MODULO 11: PATOGENI CHIAVE

Principali Generi Formatori di Biofilm

Pseudomonas spp.

Batteri alteranti psicrotrofi prevalenti.

Listeria monocytogenes

Patogeno ambientale ubiquitario ad alta gravità.

Staphylococcus aureus

Contaminante da manipolazione umana/animale.

MODULO 11: LISTERIA

Focus: *Listeria monocytogenes*

CARATTERISTICHE

Gram-Positivo Ubiquitario

Resiste al freddo di refrigerazione (4°-10°C), al sale e ad ampi intervalli di pH.

IMPATTO

Listeriosi Alimentare

Elevata mortalità in soggetti fragili, anziani, immunocompromessi e donne in gravidanza.

MODULO 11: LISTERIA MORFOLOGIA

Struttura a "Nido d'Ape"

Cambiamento di Forma

Nel biofilm passa da bastoncello a forma rotondeggiante, rallentando la crescita ma aumentando la resistenza.

Architettura Bi-strato

Forma cavità eterogenee (5-50 µm) contenenti cellule vive, morte e materiale genetico.

MODULO 11: PROTEINE DI ADESIONE

Proteine di Matrice di *L. monocytogenes*

Proteina	Ruolo Funzionale nel Biofilm
Internalina A (InlA)	Proteina di parete coinvolta nell'adesione iniziale.
BapL	Promotore chiave della sintesi della matrice proteica.
Flagellina (FlaA)	Facilita il primo contatto e la colonizzazione delle superfici.

MODULO 11: STAPHYLOCOCCUS

Focus: *Staphylococcus aureus*

HABITAT

Gram-Positivo Alotollerante

Resiede sulla cute e mucose di uomini ed animali; indice di non corretta igiene delle mani.

RISCHIO MRSA

Ceppi Meticillino-Resistenti

Formano biofilm multi-stratificati immersi in un ricco glicocalice protettivo.

MODULO 11: REGOLAZIONE GENICA

Matrice ica-Dipendente e Indipendente

GENE ICA

Sintesi di PNGA

Produce poli-N-acetilglucosamina (adesina intercellulare) in anossia.

GENI SARA / AGR

Vie Indipendenti

Regolano proteine di superficie e proteasi di dispersione.

MODULO 12: PREVENZIONE

Prevenzione nelle Imprese Alimentari

Procedure SSOP / PRPO

Applicazione rigorosa della detersione e disinfezione nelle fasi pre-operative, operative e post-operative.

Regolamento CE 852/2004

Manutenzione igienica costante per azzerare i residui organici che nutrono il biofilm.

MODULO 12: RILEVAMENTO PRECOCE

Marker Colorimetrici & Fluorescenza UV

E. COLI

Fluorescenza Verde

Emissione verde caratteristica se esposto alla luce ultravioletta.

SALMONELLA SPP.

Fluorescenza Blu

Emissione blu distintiva per un'individuazione tempestiva.

MODULO 12: TECNOLOGIA

Biosensori a Onde Acustiche

Principio Piezoelettrico

L'adesione dei batteri alla superficie del sensore varia la frequenza acustica generando una corrente rilevabile.

Misura in Tempo Reale

Permette di quantificare la massa batterica in tempo reale lungo le tubazioni di processo.

MODULO 12: METODI ALTERNATIVI

Miscele Enzimatiche Specifiche

VANTAGGIO

Biodegradabilità e Sicurezza

Igiene ecologica non tossica per l'operatore umano e per l'alimento.

LIMITAZIONE

Sensibilità Termica

Le alte temperature denaturano la struttura proteica disattivando l'enzima.

MODULO 12: FITOTERAPICI

Oli Essenziali: Il Carvacrolo

Estratto da Timo ed Origano

Più efficace di perossido d'idrogeno ed acido peracetico su superfici in acciaio inox.

Impatto Organolettico

L'odore intenso ne limita l'uso; si utilizzano tensioattivi (Polisorbato 80) per la solubilizzazione.

MODULO 13: RIMOZIONE FISICA

Tecnologie Fisiche di Disgregazione

Campi Elettrici Pulsati

Intervallo 250-500 V/cm per la lisi delle cellule vegetative.

Ultrasuoni & Cavitazione

Generazione di micro-bolle che rompono gli acidi teicoici.

Campi Magnetici

Destabilizzazione delle cariche elettriche di parete e matrice.

MODULO 13: AGENTI CHIMICI

EDTA e Disinfettanti Ossidanti

EDTA CHELANTE

Sequestro di Ca^{2+} e Mg^{2+}

Sottrae gli ioni stabilizzatori, depolarizzando la membrana e provocando la lisi cellulare.

OSSIDANTI

Ipoclorito e Perossido

Richiedono la rimozione preventiva dello sporco grossolano per agire in profondità.

MODULO 13: APPROCCIO BIOLOGICO

Batteriocine e Biocontrollo

Proteine Antagoniste Naturali

Sostanze di origine batterica con azione battericida o batteriostatica mirata verso i patogeni.

Modelli di Studio

L'efficacia è convalidata con l'uso di *Listeria innocua* come modello predittivo per *L. monocytogenes*.

RIEPILOGO FINALE

Strategia Integrata di Contrasto

PILASTRO 1

Prevenzione BPH

Detersione costante per eliminare il film condizionante.

PILASTRO 2

Monitoraggio UV

Uso di detector e biosensori per bloccare lo step 1.

PILASTRO 3

Rimozione Combinata

Azione combinata di ultrasuoni, EDTA, enzimi e disinfettanti.

Domande ???