



DAIRY ZOOM

Chimica, biochimica e fisiologia della produzione del latte

di ALESSANDRO FANTINI

I biofilm negli ambienti naturali e patologici

Quando si pensa ai batteri s'immaginano come singole cellule presenti sui vari tessuti dell'organismo mutuando quando si osserva con i microscopi nelle coltivazioni in vivo. Con la stessa ottica si pensa alla presenza dei batteri nelle acque e sulla terra. Questa rappresentazione è una semplificazione didattica e sperimentale di quanto in realtà si trova in natura. Nella realtà molti batteri vivono liberi negli ambienti che colonizzano e tale tipo di organizzazione si definisce planctonica ricordando come appunto il plancton vive negli oceani, ossia in forma dispersa e fluttuante nell'acqua. Molti organismi unicellulari come i batteri in realtà vivono organizzati in strutture definite appunto biofilm formando delle vere e proprie comunità miste.

Cosa è il biofilm

Il biofilm altro non è che una matrice in genere polisaccaridica, secreta dagli stessi batteri, all'interno della quale possono vivere più specie batteriche in rapporto spesso di mutuo sostegno in un complesso sistema biologico e strutturale. I biofilm sono delle strutture antichissime ritrovate fossili in ambienti idro-termali risalenti a 3.3-3.4 miliardi di anni fa. Le ragioni per cui molte specie batteriche abbandonano reversibilmente o reversibilmente la forma planctonica sono molte e non completamente ben note. I batteri che vivono e costruiscono il biofilm hanno un tasso di crescita sicuramente più elevato e

ciò deriva dalla stabilità ambientale tipica di queste strutture e per una maggiore disponibilità di nutrienti. Altra importantissima ragione è il ruolo protettivo che l'organizzazione dei biofilm comporta nei confronti dei raggi UV, l'esposizione agli acidi, alla disidratazione e la salinità, alla fagocitosi e agli agenti antibiotici ed antimicrobici. La struttura dei biofilm ricorda in forma molto primitiva quella degli organismi pluricellulari. All'interno dei biofilm più complessi possiamo trovare più specie batteriche. Taluni li definiscono anche "consorzi batterici" dove possiamo trovare strutture anche canalicolari dove il flusso dei nutrienti, l'eliminazione dei cataboliti ed i segnali chimici possono agevolmente transitare. La matrice del biofilm è prodotta dagli stessi batteri ed è in genere di natura polisaccaridica. È una struttura molto idratata e di tipo anionico. Tale matrice può essere talmente

"forte" da fossilizzare. Possiamo trovare questo tipo d'organizzazione sessile dei batteri in ambienti tra i più diversi. Frequentemente sono riscontrabili negli ambienti acquatici marini e d'acqua dolce, in ambienti acquatici estremi, come le acque geo-termali, ma anche nelle strutture definite "made men". Quest'ultime possono andare dagli ambienti industriali, sia metallici che sintetici, dalle protesi utilizzate nella medicina, etc. Oltre a queste localizzazioni si trovano queste strutture coinvolte in patologie molto gravi, soprattutto per medicina umana, ma anche in distretti anatomici molto importanti, per la nostra attività, come il ruminante, di cui parleremo più avanti in maniera più specifica.

Il primo evento, propedeutico alla creazione del biofilm, è l'adesione dei batteri planctonici ad una superficie, sia naturale che artificiale. I primi "coloni" aderiscono alle superfici attraverso deboli e reversibili forze di Van der Waals. Successivamente l'ancoraggio avviene con specifiche molecole di adesione cellulare (polimeri lineari) come i pili, i flagelli che stabiliscono con le superfici legami molto stabili. Contestualmente all'adesione inizia la produzione batterica della matrice polisaccaridica del biofilm e la replicazione dei batteri. In seguito vengono continuamente reclutati batteri planctonici che vanno a rendere sempre più complessa la neonata struttura. Interessante è il tipo di comunicazione che si stabilisce tra i batteri, sia della stessa specie, che di



▼ Se nella gestione della produzione del latte la presenza dei biofilm rappresenta un indubbio vantaggio evolutivo così non è per il campo medico, umano e veterinario, in quanto queste comunità sono negativamente coinvolte in gravi patologie, nella resistenza agli antimicrobici e ai disinfettanti.

specie diverse. Nei batteri gram-negativi la comunicazione cellulare avviene tramite molecole di omeoserina lattone acetilata (AHLs) che vengono rilasciate dalle cellule e si accumulano nella matrice del biofilm. Queste molecole sono in grado d'interagire con dei recettori situati sulla superficie delle cellule batteriche e condizionarne l'espressione genetica e forse questa è la ragione che induce la trasformazione comportamentale delle cellule planctoniche in quelle sessile della medesima specie batterica. Molecole analoghe, ma diverse sono coinvolte nell'espressione genetica anche dei batteri gram-positivi.

L'esempio del ruminante

Un esempio concreto per acquisire il concetto di biofilm batterico è l'esempio del ruminante e quanto avviene per la fermentazione della cellulosa. Nel ruminante bovino la maggioranza dei batteri ruminali e in parte anche i funghi sono organizzati in biofilm. La frazione planctonica è di scarsa entità e rappresenta spesso una forma momentanea o di passaggio. Si stima che solo il 30-40% dei microrganismi ruminale viva libera nel fluido ruminale. Il biofilm ruminale rappresenta un vero e proprio plus nella fermentazione di nutrienti insolubili come la cellulosa. L'efficienza fermentativa dei batteri cellulolitici in forma planctonica rispetto a quella sessile è di gran lunga meno efficiente. Una profonda conoscenza della struttura di queste comunità batteriche è propedeutica alla possibilità di miglioramento della digeribilità dell'NDF della razione alimentare e quindi di disponibilità sia di biomassa che di acidi grassi volatili per i fabbisogni nutritivi della bovina. Quando attraverso l'ingestione della razione alimentare viene immessa cellulosa nell'ambiente ruminale avviene in pochi minuti la colonizzazione delle particelle di fibra da parte di quei batteri ruminali in grado di idrolizzarla ossia di trasformarla in molecole solubili. I batteri in grado dapprima di aderire alle particelle di fibra e poi idrolizzarle sono essenzialmente il *Bacteroides succinogenens* (Gram positivi) e il *Ruminococcus albus* e *flavefaciens*, entrambi Gram negativi. Il primo di questi è in grado di secernere, in vescicole, enzimi amiloli-

tici mentre i Gram negativi hanno la necessità di una stretta adesione al substrato per iniziare ad utilizzare il corredo enzimatico di cui sono dotati. I prodotti della digestione della cellulosa di queste tre famiglie batteriche sono utili come nutrimento per loro stessi ma di richiamare, per chemiotassi, nel "consorzio microbico" nascente, altri microrganismi come il *Butyrivibrio fibrosolvens*, e *Treponema bryantii*, una spirocheta anaerobia. Quest'ultimo batterio è in grado di consumare glucosio e anidride carbonica producendo, a vantaggio dell'ospite, acetati, formiati e succinati. Quando la cellulosa è stata completamente fermentata i batteri mutano dalla forma sessile a quella planctonica, pronti a colonizzare altra cellulosa.

Biofilm e resistenze ad antimicrobici e disinfettanti

Se nella gestione della produzione del latte la presenza dei biofilm rappresenta un indubbio vantaggio evolutivo così non è per il campo medico, umano e veterinario, in quanto queste comunità sono negativamente coinvolte in gravi patologie, nella resistenza agli antimicrobici ed ai disinfettanti. Per meglio comprendere la gravità del fenomeno basti pensare alla placca dentale prodotta nel cavo orale dallo *Streptococcus sanguinis* e al suo grado di resistenza meccanica e chimica e ai danni che questo può creare a denti dell'uomo. Altro esempio piuttosto noto sono le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* dell'epitelio polmonare in grado di complicare il decorso di pazienti con fibrosi cistica a causa della forte riduzione del ruolo dei leucociti nel fagocitare questi batteri patogeni resistenti all'interno dei biofilm. Accanto a questo ruolo patogeno specifico l'organizzazione in biofilm dei batteri su superfici artificiali come ambienti, protesi, lenti a contatto, etc. complica, rendendo a volte molto difficile le pratiche di disinfezione di questi manufatti. I biofilm sono inoltre coinvolti in alcuni fenomeni di resistenza batterica agli antibiotici e ai disinfettanti nonché al sistema immunitario sia umorale che cellulare alterando o aggravando il corso e la prognosi di patologie anche

banali. Al di là delle problematiche patologiche legate all'organizzazione in biofilm che se pur importantissime in alcune gravi malattie umane, in medicina veterinaria i biofilm batterici esercitano un ruolo marginale. La ragione di questo è la breve durata della vita di un animale da reddito che impedisce la cronicizzazione di alcune malattie e dallo scarso ruolo che hanno alcune patologie degenerative nella vacca da latte. Di enorme interesse è invece la conoscenza dei biofilm ruminali.

Biofilm e fabbisogni nutritivi della bovina

È noto che con il progredire della selezione genetica i fabbisogni nutritivi della bovina al picco produttivo sono in crescita costante se non addirittura esponenziale. È altrettanto noto che ragioni fisiologiche, ma anche di tipo economico, legano il successo produttivo, riproduttivo e sanitario della vacca da latte ad una ottimale attività fermentativa del ruminante. Per ragioni essenzialmente didattiche e sperimentali si è abituati a pensare ad un ruminante che ospita un gran numero di specie batteriche, fungine e protozoarie in eterna lotta tra di loro ma in un sostanziale equilibrio, che assicura alla bovina un apporto nutritivo mai soddisfacente. Testimonianza ne è che tutte le bovine, a vario livello, dimagriscono dopo il parto. Molte delle nostre conoscenze di nutrizione sono basate su questa necessaria semplificazione. La realtà è invece di complessi biofilm di specie diverse che sono allo stesso tempo in competizione e in mutuo sostegno. Dalla competizione/cooperazione di queste specie batteriche scaturisce una buona parte del nutrimento della bovina da latte. La nutrizione del futuro sarà basata sulla possibilità di "addomesticare" i biofilm per produrre più nutrienti possibile per l'ospite. Il nutrizionista dei ruminanti dovrà acquisire un livello adeguato di conoscenze di microbiologia della fermentazione per capire come uscire dalla semplificazione che una razione alimentare e tanto più "buona" più energia riesce a calcolare un'equazione residente su un software di razionamento. ■