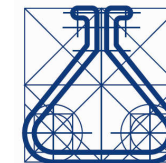
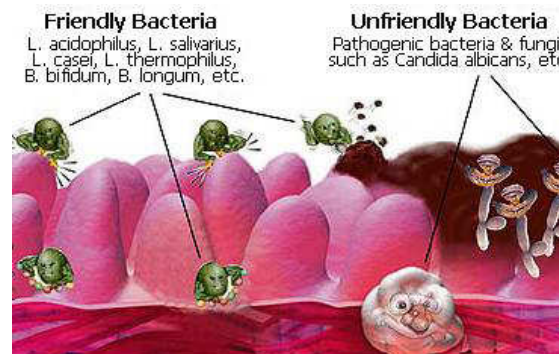




# Nuove frontiere dell'alimentazione



## ***INTEGRATORI ALIMENTARI E BATTERI PROBIOTICI***



**Patrizia Malfa**  
**Proge Farm S.r.l.**

Novara 26 Maggio 2015



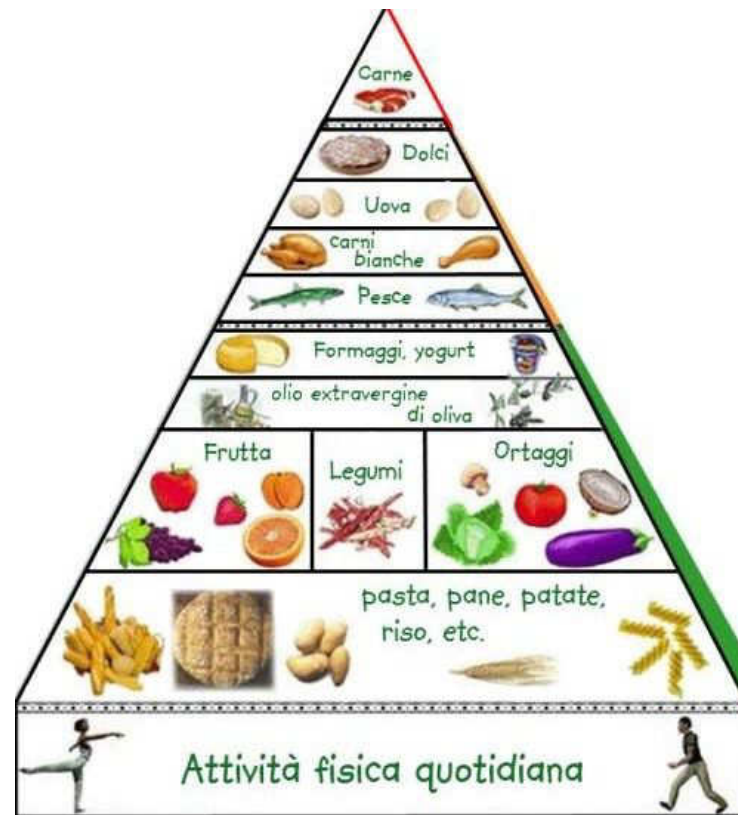
MILANO 2015

## *Nutrire il pianeta, energia per la vita*

*Diritto ad una alimentazione sana, sicura, sufficiente e sostenibile per tutto il pianeta*



# L'alimentazione è importante



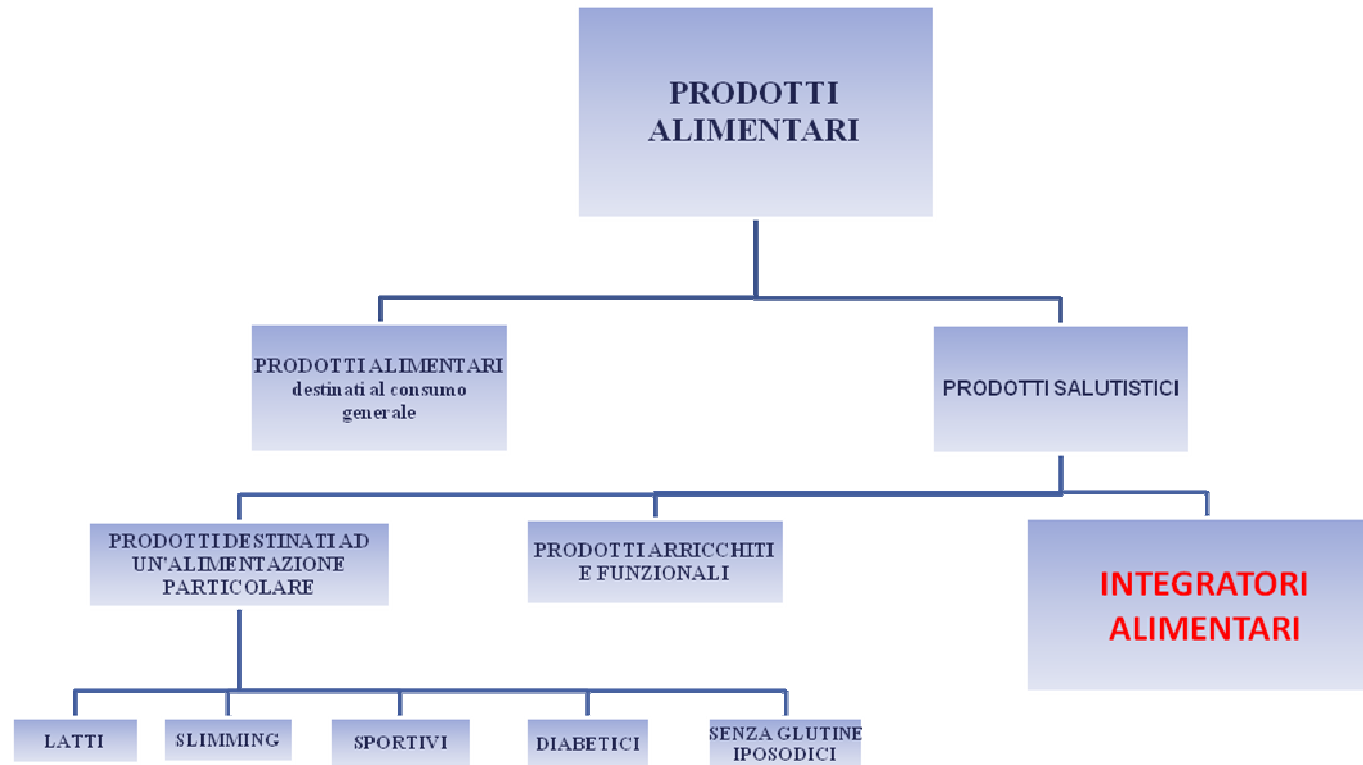
Una dieta adeguata ed equilibrata è in grado di fornire tutti gli elementi necessari al normale sviluppo e al mantenimento in buona salute dell'organismo.

Quando siamo debilitati o sotto stress il medico consiglia di assumere gli **integratori alimentari**.

**Ma cosa sono?**



# Quadro dei prodotti alimentari



# Integratori alimentari

Sono prodotti alimentari

Sono sviluppati per favorire l'assunzione di determinati principi nutritivi non presenti negli alimenti di una dieta non corretta.

Sono fonti concentrate di nutrienti o altre sostanze con qualità nutrizionali o fisiologiche.

Sono in forma pre-dosata (capsule, pastiglie, compresse, pillole, polveri in bustina, liquidi in fiale, flaconi a contagocce, chewing-gum, ecc.)

Si possono assumere in piccoli quantitativi unitari.



# Prodotti sicuri

Gli integratori alimentari sono fabbricati in stabilimenti specificatamente autorizzati dal Ministero della Salute.

Le etichette sono notificate al Ministero della Salute che ne valuta la conformità alla normativa vigente al fine di **garantire la sicurezza** dei prodotti e la **corretta informazione** ai consumatori.

L'etichetta deve riportare una serie di avvertenze tipo:

- **la dose giornaliera** raccomandata
- l'avvertenza a **non eccedere le dosi**
- la data di scadenza
- la dicitura che il prodotto deve essere tenuto fuori dalla portata dei bambini al di sotto dei 3 anni di età
- gli integratori non vanno intesi come sostituti **di dieta varia, equilibrata e uno stile di vita sano**
- persone che dovrebbero evitare di consumare il prodotto

# Corretta comunicazione

✓ gli integratori non devono vantare proprietà di prevenzione o cura di malattie (Art.6 della Direttiva 2002/46/CE)

✓ non devono riportare informazioni ingannevoli (art. 2 e 3 DL 74/1992), ribadito nella specifica materia alimentare (art. 2 del DL 109/1992)

✓ gli integratori, in base al regolamento Europeo 1924/2006, possono indicare i seguenti claims:

-**indicazioni nutrizionali** (apporta, non apporta o apporta in quantità ridotte)

-**effetti sulla salute**: ruolo nella crescita, sviluppo e funzioni dell'organismo, purché basati su prove scientifiche generalmente accettate e ben comprese dal consumatore medio.

-**effetti sulla riduzione del rischio di malattie e allo sviluppo e alla salute dei bambini**, preventivamente autorizzati a livello europeo caso per caso dopo valutazione dell'EFSA



## **L'uso delle indicazioni nutrizionali e sulla salute è permesso soltanto se:**

- E' stato **dimostrato scientificamente** l'effetto nutrizionale o **fisiologico** benefico del nutriente
- Il nutriente si trova in una **forma utilizzabile** dall'organismo
- La quantità che deve essere ragionevolmente consumata fornisce una **quantità significativa** del nutriente
- Le **indicazioni** sono **comprensibili** per l'utilizzatore

## **Regolamento CE n° 1924/2006 del Parlamento Europeo relativo alle indicazioni nutrizionali e sulla salute fornite sui prodotti alimentari (claims)**

Il regolamento ha lo scopo di armonizzare le disposizioni legislative degli Stati membri concernenti le indicazioni nutrizionali e sulla salute, al fine di garantire:

- un **efficace funzionamento** del mercato intracomunitario
- un elevato livello di **tutela dei consumatori**

## Componenti nutritivi degli integratori alimentari

Vitamine

Minerali

Aminoacidi

Acidi grassi essenziali

Fibre

**PROBIOTICI**

Estratti di origine vegetale

Ecc.

## Un po' di storia

L'impiego in Italia di fermenti lattici nel settore degli integratori risale a circa **20 anni fa** quando questo tipo di prodotti venivano inclusi tra i prodotti dietetici ed erano associati con nutrienti (in genere vitamine) che servivano a conferire loro una valenza nutrizionale.

Erano i cosiddetti “**Integratori Biologico-Vitaminici**”

In seguito il termine Biologico venne sostituito dall'attuale **Probiotico**.

**Dal 2002**, con l'avvento della Direttiva comunitaria 2002/46/CE che ha allargato il campo di applicazione anche alle **fonti concentrate di sostanze ad “Effetto fisiologico”**, sono stati legalmente ammessi come integratori alimentari prodotti a base di soli probiotici nelle alterazioni della microflora intestinale.

## Fattori che influiscono sull'equilibrio della microflora intestinale



## Cos' è la microflora intestinale?

Il termine **microflora intestinale**, utilizzato per definire l'intera popolazione dei microrganismi del tratto gastrointestinale (GI) dell'uomo, non è propriamente corretto ma ancora molto usato. L'insieme dei microrganismi simbiotici è più correttamente detto **microbiota umano**.

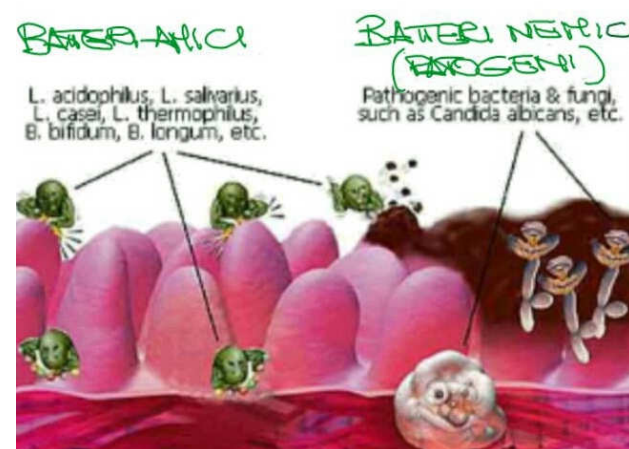
La composizione del microbiota determina **lo stato di salute**, la **funzionalità** del tratto GI, la **stimolazione immunitaria** e la **prevenzione delle infezioni** da microrganismi patogeni.

Non tutti i batteri della microflora hanno azioni benefiche, **alcuni batteri producono metaboliti tossici o cancerogeni**.

I batteri della microflora vengono suddivisi in:

Utili (batteri «amici»)

Dannosi (patogeni)



## Il Tratto Gastrointestinale nell'Uomo

- Superficie corporea umana: 2 m<sup>2</sup>
- Lunghezza tratto gastro intestinale : 7 m
- Superficie intestino: 300 m<sup>2</sup>



Circa 300 m<sup>2</sup>

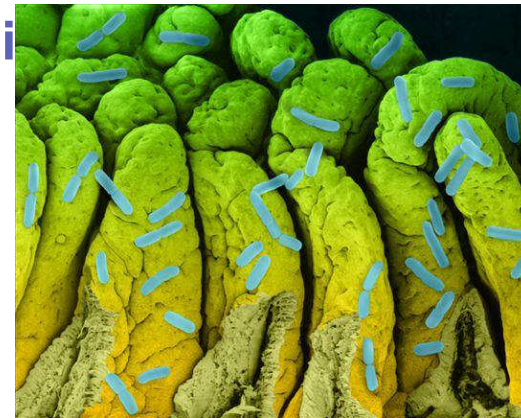
## Il Tratto Gastrointestinale

Il tratto GI è l'area più estesa dell'organismo (circa 300 m<sup>2</sup>).

E' sottoposto a costante stimolo antigenico (gli alimenti ingeriti) ed è il fronte immunitario più importante del corpo.

È rappresentato da **tre componenti maggiori**

- Cellule dell'ospite
- Microrganismi (microbiota)
- Nutrienti



Intestino tenue con le pareti tappezzate di *E. Coli*



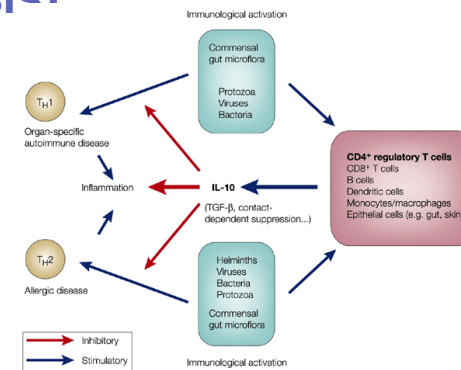
## Il tratto gastrointestinale alla nascita

In origine il nostro corpo è **sterile** ma già alla nascita i microrganismi iniziano la colonizzazione dando origine al microbiota intestinale attraverso il passaggio nel canale vaginale prima e l'allattamento al seno poi.

Dopo 4 settimane la flora batterica del bambino raggiunge una composizione più o meno stabile.



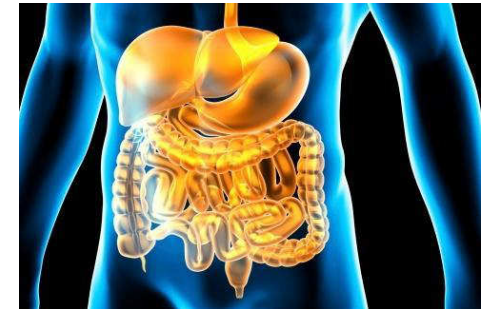
La colonizzazione microbica “**istruisce**” il **sistema immunitario innato** del bambino sviluppando tolleranza nei confronti di antigeni microbici. Questa esposizione costituisce un importante fattore di **protezione da malattie allergiche e autoimmuni (Hygiene hypothesis)**



## Un ecosistema dinamico

La popolazione microbica intestinale (MICROBIOTA) costituisce l'**ecosistema più concentrato e noto**.

Le **cellule batteriche** contenute nell'intestino di un individuo sono circa **10 volte il numero totale di cellule dell'individuo stesso**, (1-2 Kg del nostro peso).



Questa complessa popolazione, dell'ordine di grandezza di **100.000 miliardi di batteri totali ( $10^{14}$ )**, è riferibile ad un **numero elevato di specie (oltre 500)** e, se ben bilanciata, contribuisce in modo sostanziale allo stato di salute dell'ospite.

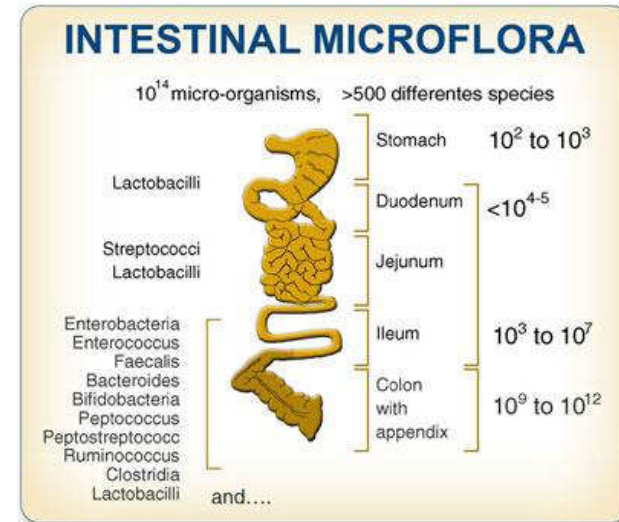
# La Composizione Batterica

Ogni porzione del tratto GI è colonizzata da una microflora specifica.

La diversa composizione dipende sia dall'adattamento alle condizioni ambientali che dalle interazioni tra la comunità microbica stessa e l'organismo ospite.

## Fattori che modificano la composizione microbica:

- pH
- presenza di enzimi gastrici
- sali biliari
- la velocità del transito peristaltico
- il potenziale redox
- la tensione di ossigeno disciolto
- la concentrazione dei nutrienti

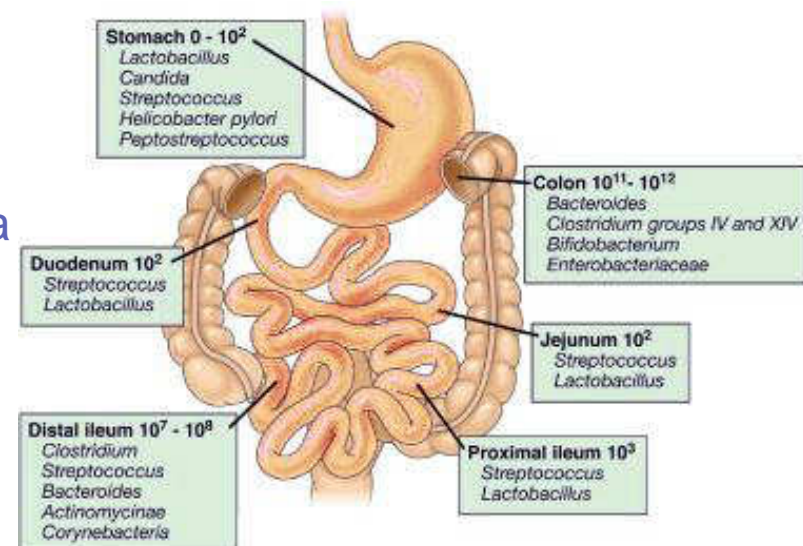


# La Concentrazione Batterica

La quantità e la complessità del microbiota aumentano progressivamente nella parte distale del piccolo intestino e nel colon.

Nel tenue la colonizzazione batterica limitata da:

- velocità del transito intestinale
- produzione e secrezione di peptidi antimicrobici
- enzimi e sali biliari



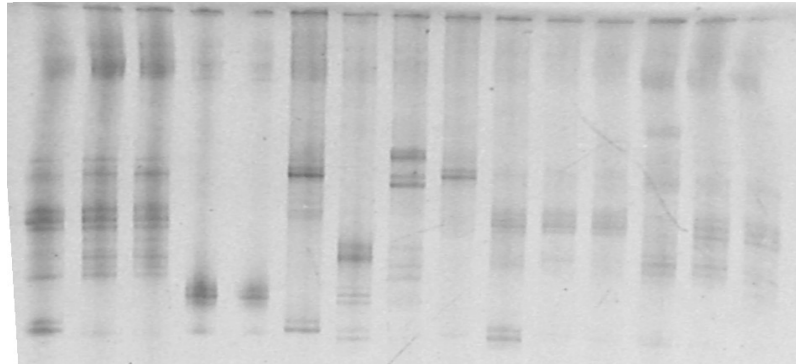
Nel colon vi è la maggiore concentrazione microbica, arrivando fino a  $10^{12}$  UFC/g di contenuto intestinale.

## La biodiversità microbica

La maggior parte delle specie del microbiota del colon è costituita da microrganismi non coltivabili in laboratorio.

La composizione del microbiota intestinale è definita grazie a innovative **tecniche di biologia molecolare** che si basano sullo studio del rRNA 16S. Mediante particolari metodi di PCR (Polymerase Chain Reaction) è quindi **possibile estrarre il DNA di tutti i batteri presenti in un campione fecale** o di contenuto intestinale ed amplificare tutti i geni presenti su 16S rRNA, delineando un profilo che è tipico dell'individuo.

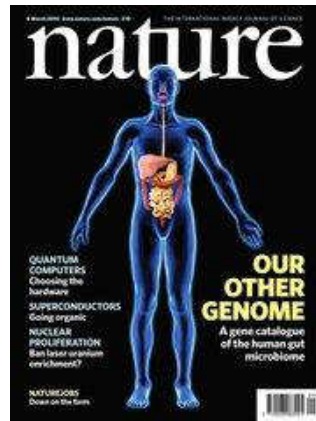
DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)



Dall'analisi di tutte le sequenze dei diversi geni codificanti il 16S rRNA è possibile risalire a tutte le specie presenti nel campione analizzato.

## Il microbioma... *Our alter genoma*

E' stato calcolato che il **microbioma intestinale** contiene un numero di geni enormemente più grande (circa 150 volte) di quelli della specie umana.



Il **microbiota** intestinale può essere considerato un **organo interno all'ospite** concorrendo al consumo, alla conservazione ed alla redistribuzione dell'energia, necessaria per le reazioni di trasformazione.

Alcune sue attività metaboliche ed enzimatiche compensano le **funzioni che l'uomo non è in grado di esplicare** (es. quali la degradazione e l'assimilazione di polisaccaridi) e per le quali non possiede un adeguata predisposizione genica.

## Il metabolismo intestinale

I microrganismi intestinali **ricavano energia dalla fermentazione** di:

- carboidrati (**metabolismo saccarolitico**)
- proteine (**metabolismo proteolitico**).

**La maggior parte dei batterici del colon** (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium*) **è saccarolitica**.

Gli zuccheri complessi (oligo- e polisaccaridi), carboidrati non-digeribili fermentescibili, raggiungono il colon dove sono **depolimerizzati e fermentati dalla microflora batterica** attraverso una grande varietà di reazioni e di pathway metabolici.

# I prodotti della fermentazione batterica

I principali prodotti della fermentazione dei carboidrati sono gli **acidi grassi a catena corta** (SCFA, Short Chain Fatty Acids) :

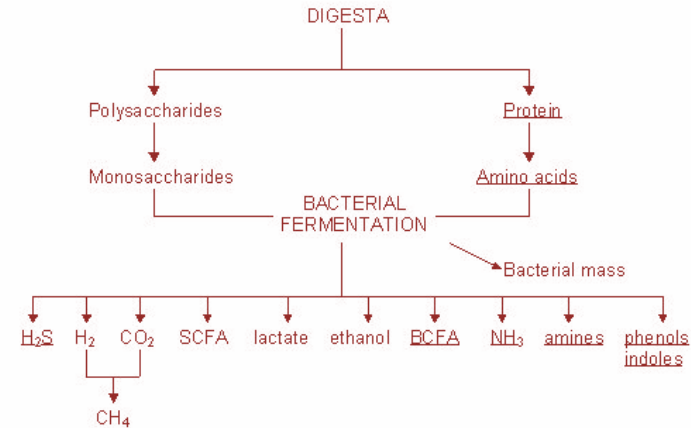
-acetato

-propionato

-butirrato

-lattato

più alcuni gas ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ) e calore



L'**acido lattico**, prodotto da bifidobatteri e lattobacilli, viene velocemente fermentato da altri batteri. Diversi cataboliti (es. acetato, lattato, succinato e acidi grassi ramificati) sono riutilizzati da altri microorganismi instaurando un **cross-feeding metabolico** tra diverse specie del microbiota.

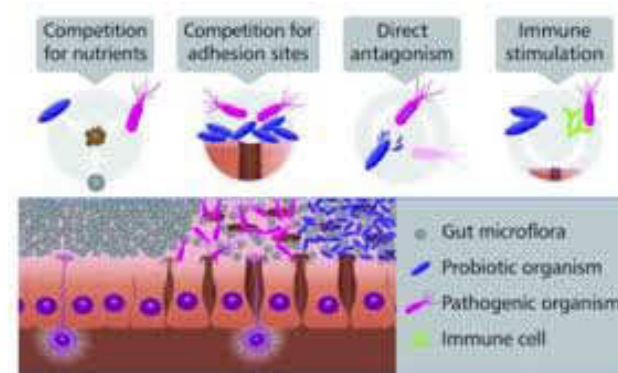
Inoltre la concentrazione dei **carboidrati fermentabili si riduce gradualmente** lungo il transito fino a che il metabolismo fermentativo lascia il posto a quello proteolitico dando luogo a metaboliti putrefattivi che aumentano il pH.



# Funzioni della Microbiota Intestinale

La microflora intestinale **impedisce ai batteri patogeni di colonizzare l'intestino** attraverso i seguenti meccanismi:

- competizione per i nutrienti
- competizione per i siti di ancoraggio
- antagonismo diretto (ingombro sterico)
- modulazione del sistema immunitario



## Alterata funzionalità: la disbiosi intestinale

E' una condizione caratterizzata da uno squilibrio della microflora batterica dovuto ad alterazioni dello stato nutrizionale o della risposta immune dell' organismo.

Porta a disturbi funzionali gastroenterici che possono evolvere in malattie che coinvolgono anche organi od apparati diversi dal colon:

- cattiva digestione
- gonfiore ed flatulenza
- **infiammazioni dell'apparato digerente** (gastro-entero-colite)
- **intolleranze alimentari**
- **sviluppo di *Candida*** o altri patogeni anche sulla cute e sulle mucose
- **cistiti ricorrenti**

## UN RIMEDIO ALLA DISBIOSI

Alcuni particolari microrganismi, i **probiotici** , possono essere utilizzati per reintegrare la microflora alterata.

Spesso i probiotici vengono identificati con il termine di “fermenti lattici”.

Questa definizione non è del tutto esatta poiché **non tutti i probiotici sono in grado di fermentare gli zuccheri e non tutti producono acido lattico.**

I probiotici possono agire a scopo:

- **preventivo** (per prevenire la disbiosi)
- **terapeutico** (per riequilibrare la disbiosi e risolvere i problemi che ne possono derivare).

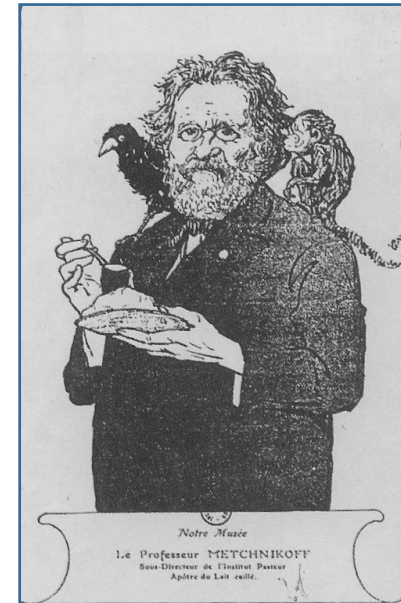
## Alimentazione e Microbiota

È stato rilevato che una **dieta ricca in fibre alimentari** facilita la presenza di **Bifidobatteri e Lattobacilli**, mentre un'alimentazione **ricca di grassi e carne** aumenta la presenza dei batteri putrefattori che possono portare alla formazione di sostanze cancerogene



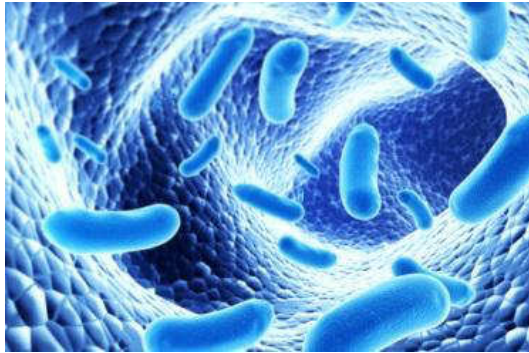
## L'ipotesi di Metchnikoff

La dipendenza esistente fra cibo e batteri dell'intestino rende possibile l'adozione di misure atte a modificare la flora intestinale e rimpiazzare germi nocivi con germi utili



Elie Metchnikoff  
The prolongation of life: optimistic studies  
(1907)

Da allora molte ricerche sono state condotte in questo campo portando a quello che oggi noi conosciamo come **“probiotica”**.



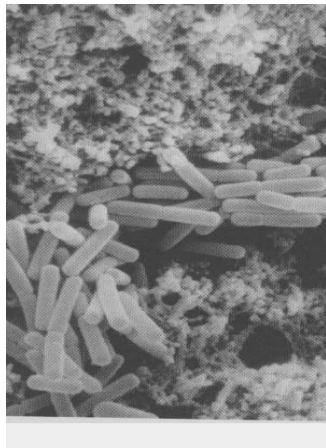
Secondo la definizione ufficiale di FAO e OMS i **probiotici** sono “**microrganismi vivi e vitali che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite**”.

Dal punto di vista etimologico, il termine “probiotico” deriva dall'unione della preposizione latina **pro** (“a favore di”) e dell'aggettivo greco βιωτικός (biotico), derivante a sua volta dal sostantivo βίος (bios, “vita”).

# I PROBIOTICI PIU' COMUNEMENTE IMPIEGATI

## BATTERI LATTICI

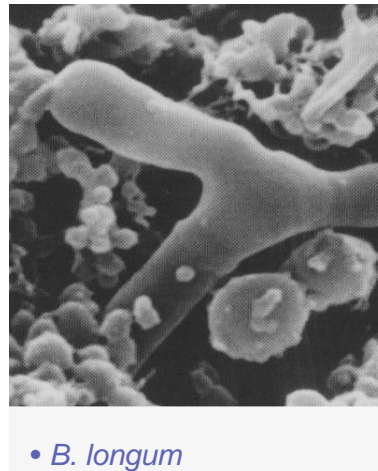
- ✓ *Lactobacillus*
- ✓ *Streptococcus*



- *L. acidophilus*
- *L. reuteri*
- *L. rhamnosus*
- *L. paracasei*
- *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *L. salivarius*
- *L. casei*
- *L. plantarum*
- *S. thermophilus*

## BATTERI non LATTICI

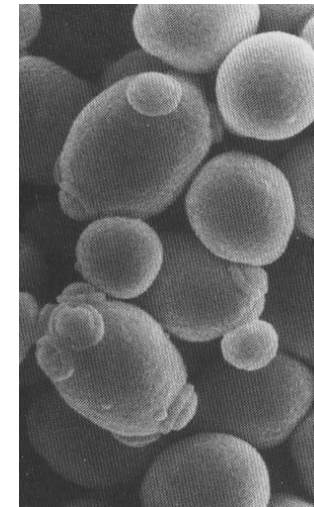
- ✓ *Bacillus* (spore)
- ✓ *Bifidobacterium*



- *B. longum*
- *B. bifidum*
- *B. breve*
- *B. infantis*
- *B. animalis*
- *B. lactis*

## LIEVITI

- ✓ *Saccharomyces*



*S. boulardii*

## Effetti Benefici dei Batteri Probiotici (1)

I batteri probiotici svolgono un **gran numero di azioni benefiche per l'organismo ospite:**

- **Neutralizzano sostanze tossiche** o cancerogene (ad esempio nitriti e nitrati)
- **Sintetizzano vitamine** K, B2, B12, ac. pantotenico, ac. folico e biotina
- **Sintetizzano** gli acidi grassi a catena corta (**SCFA**: ac. acetico, propionico e butirrico)
- **Riducono il riassorbimento degli ac. biliari** con conseguente **calo del colesterolo**



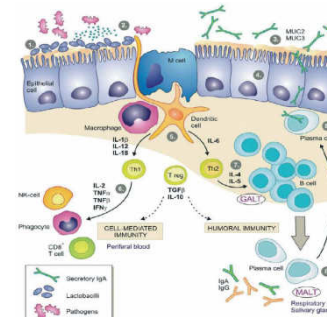
## Effetti Benefici dei Batteri Probiotici (2)

- **Proteggono la mucosa** intestinale ostacolando l'**attecchimento di specie patogene** (altri batteri, funghi o virus)
- **Stimolano l'immunità** umorale e cellulo-mediata a livello intestinale
- Aumentano la **digeribilità del lattosio nei soggetti intolleranti**
- Aumentano la **digeribilità dei lipidi** (idrolisi dei trigliceridi alimentari in ac. grassi e glicerolo)
- Aumentano la **digeribilità delle proteine** (proteolisi delle proteine alimentari)
- **Migliorano le malattie respiratorie di natura allergica e infettiva**
- Migliorano le **allergie alimentari** in generale

# I probiotici come coadiuvanti in molte patologie

Essi si sono dimostrati utili nella cura di:

- Tutti i tipi di **diarree** (del viaggiatore, antibiotici, rotavirus, etc)
- **stipsi**
- **gastroenteriti** infettive
- **enterocoliti** infantili
- **sindrome del colon irritabile**
- **colite** ulcerosa
- **infezione da *Helicobacter pylori*, *Clostridium difficile***
- **allergie e malattie autoimmuni**
- **infezioni dell'apparato vaginale**
- **candidosi orale**



# **Linee Guida su Probiotici e Prebiotici**

del Ministero della Salute - Rev. Maggio 2013

Definisce le indicazioni per l'uso negli alimenti e negli integratori alimentari di microorganismi probiotici (batteri e/o lieviti) tradizionalmente usati per l'equilibrio della flora intestinale.

I probiotici devono però avere particolari requisiti.



## Un microrganismo probiotico deve:

- essere sicuro per l'impiego nell'uomo; inoltre i microrganismi probiotici non devono essere portatori di antibiotico-resistenze acquisite e/o trasmissibili;
- essere in grado di resistere al pH acido ed ai sali di biliari in modo da arrivare, a livello intestinale, attivi e vitali e in quantità tale da giustificare gli eventuali effetti benefici osservati in studi di efficacia;
- aderire alle cellule epiteliali e colonizzare la mucosa intestinale, moltiplicandosi;
- conferire un beneficio fisiologico, dimostrato secondo specifici criteri.

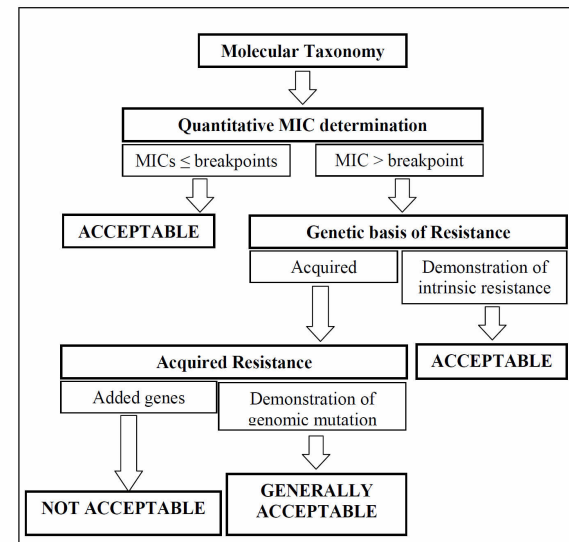
# Sicurezza dei probiotici

L'impiego è subordinato al rispetto di criteri quali:

- rispettare i Qualified Presumption of Safety (QPS stabiliti dall'EFSA) in base ai quali un microrganismo o un suo componente può essere utilizzato negli alimenti

- essere privi di geni portatori di antic  
e/o  
trasmissibile

Figure 2. Proposed scheme for the antimicrobial resistance assessment of a bacterial strain used as feed additive



## Identificazione tassonomica

Il Ministero della Salute raccomanda che i microrganismi probiotici devono essere identificati tassonomicamente impiegando le **tecniche molecolari** fino a livello di ceppo. Questo concetto è fondamentale perché è stato dimostrato che le **caratteristiche probiotiche sono ceppo-specifiche**.

*L. plantarum*  
genere



*plantarum*  
specie



P 17630  
ceppo



Identificazione a livello di specie:

- sequenziamento del DNA codificante per 16S rRNA
- ibridazione degli acidi nucleici

Identificazione a livello di ceppo

- PFGE (Pulse Field Gel Electrophoresis)
- RAPD-PCR

Infine il **deposito dei ceppi presso Collezioni Internazionali** è raccomandato.

## Quantità consigliata

Per ottenere la temporanea colonizzazione dell'intestino, sulla base di evidenze scientifiche, la quantità minima giornaliera deve essere non meno di **10<sup>9</sup> (1 miliardo)** di cellule vive per almeno uno dei ceppi presenti.

La quantità di cellule vive presenti nel prodotto:

- deve essere riportata in etichetta **per ogni ceppo**
- deve **essere garantita**, alle modalità di conservazione suggerite, **fino al termine della shelf-life**.

L'uso di quantità diverse può essere consentito solo se il rationale per tale scelta è supportato da adeguati **studi scientifici**.

## Indicazione d'uso



L'unica indicazione ammessa in Italia è:

**Favorisce l'equilibrio della flora intestinale**



## Utilizzo denominazione «Probiotico»

Sulla base del consolidato uso, Il Ministero della Salute Italiano ha fatto espressa richiesta ad EFSA di riconoscimento del termine Probiotico quale «Descrittore Generico».

Al momento EFSA non si è ancora espressa, bocciando tutti i claims sui probiotici.

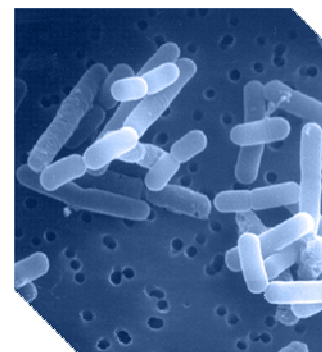
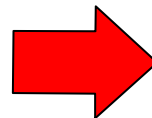
# Ricerca di nuovi ceppi probiotici

## L'ISOLAMENTO

UOMO

ALIMENTI

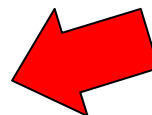
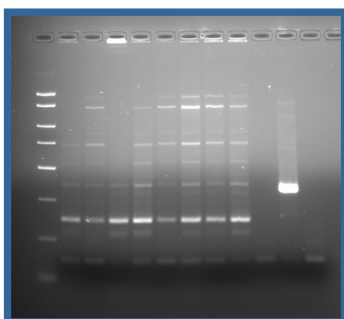
AMBIENTE

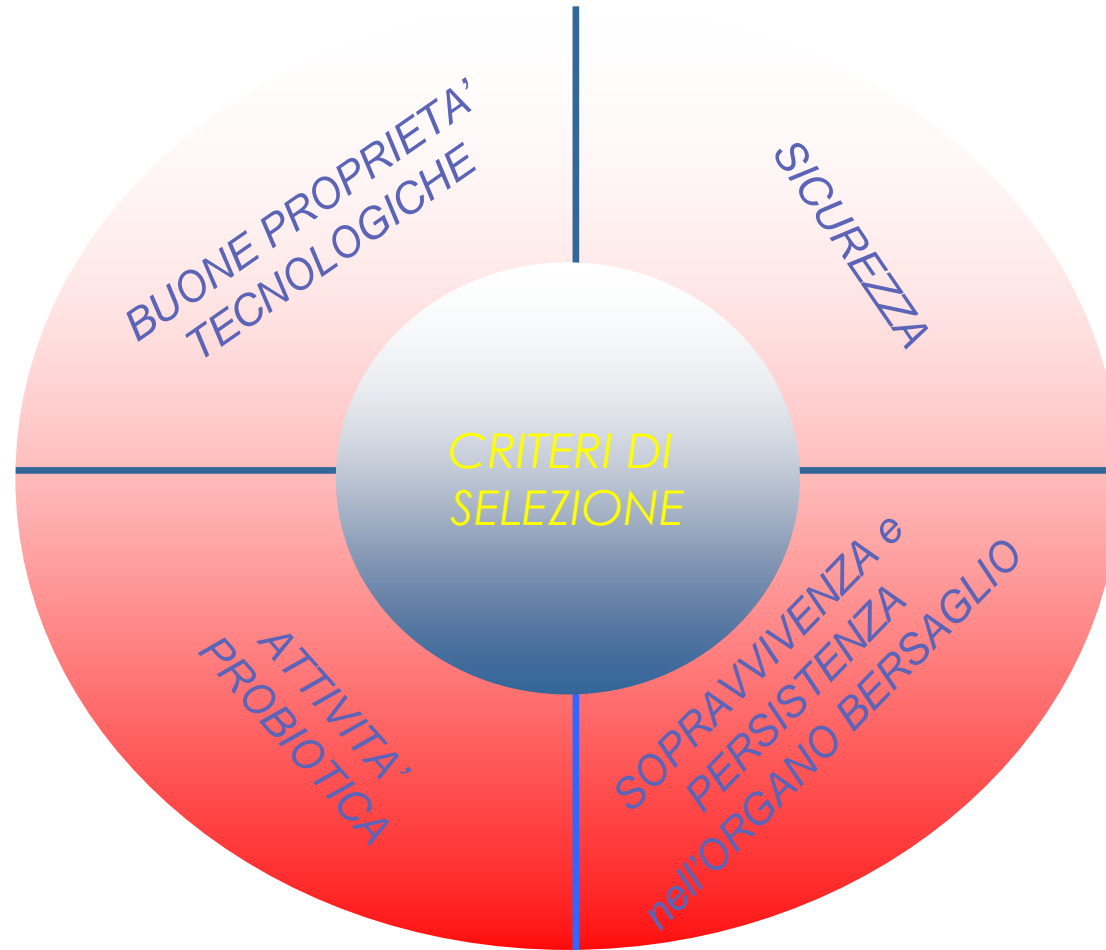


## L'IDENTIFICAZIONE

INDAGINI  
FENOTIPICHE

INDAGINI  
GENOTIPICHE





## **Fasi di studio**

- caratterizzazione funzionale in vitro
- caratterizzazione funzionale in vivo
- caratterizzazione tecnologica

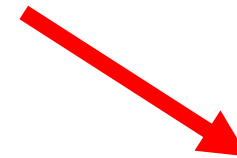
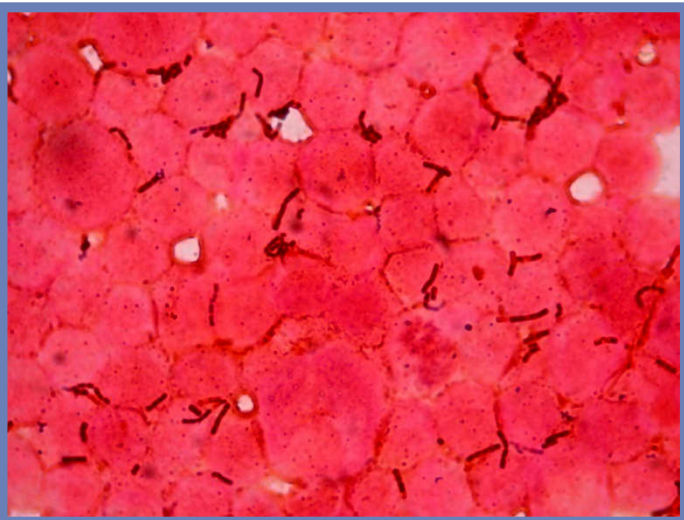
# Caratterizzazione funzionale in vitro

RESISTENZA AL TRANSITO GASTRO-INTESTINALE

STIMOLAZIONE DEL SISTEMA IMMUNITARIO

CAPACITA' DI ADESIONE

ATTIVITA' ANTIMICROBICA



## Caratterizzazione funzionale in vivo

Valutazioni cliniche:

- **nel ripristino dell'ecosistema gastro-intestinale**
  - dopo trattamento antibiotico
  - infezioni virali (rotavirus) o patologie
  - nelle diarree
  - infiammazioni croniche da H. pylori e morbo di Chron
- **nella modulazione del sistema immunitario**
  - intervenire nelle fasi di maturazione delle cellule immunitarie
  - modulare la produzione di citochine specifiche
  - intervenire sulla produzione di immunoglobuline quali le IgA e IgE
- **nel metabolismo di alcune molecole** (es. lattosio)

## Caratterizzazione tecnologica

La preferenza è quella di isolare ceppi capaci di:

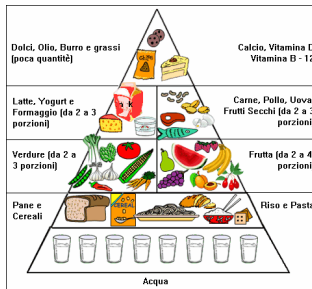
- resistere agli stress di processo mantenendo la funzionalità inalterata
- ottenere ottime rese produttive con una buona stabilità (shelf-life) anche sul prodotto finito



# Considerazioni Conclusive

L'idea che i microrganismi sono da combattere perché dannosi è errata!  
La maggior parte di loro svolge "attività" di grande utilità per l'uomo e per l'ambiente.

**Si a una corretta alimentazione**



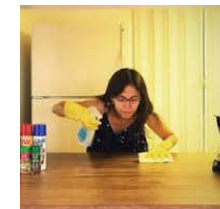
**No ad abuso di antibiotici**



**Si all'uso di integratori probiotici ma solo se di buona qualità**



**No ad eccessiva sterilizzazione**







*GRAZIE  
PER  
L'ATTENZIONE!*