

Webinar Lallemand-Unitec

IL BIOFILM si combatte con il biofilm

Tutte le specie microbiche possono essere biofilmogene, in determinate condizioni di stress, concentrazione delle sostanze nutritive, dimensioni della colonia e grado di confinamento. Nel corso di un webinar¹ organizzato da Lallemand e Unitec, è stato presentato un metodo di lotta alla formazione del biofilm patogeno, sfruttando l'antagonismo fra batteri.

Il vuoto sanitario delle strutture di allevamento è un periodo in cui è possibile contrastare la formazione di biofilm da parte di batteri patogeni, ciò può avvenire sfruttando l'antagonismo fra batteri, che consente di "sostituire" i produttori di biofilm patogeni con probiotici tipizzati che creino un assemblamento positivo e quindi un biofilm apatogeno. Nel corso di un webinar centrato sul tema biofilm, Lallemand e Unitec hanno illustrato questa strategia di lotta e presentato LalFilmPRO, un biofilm positivo che colonizza le strutture dell'allevamento sostituendosi al biofilm patogeno. Moderatore dell'evento è stato Andrea Bazzoli, responsabile commerciale di Lallemand Animal Nutrition.

IDENTIKIT DEL BIOFILM

Mark Alistair Beghian, amministratore unico di Unitec, azienda che si

occupa dell'igiene in allevamento e che ha fatto della biosicurezza il suo DNA, ha spiegato le caratteristiche del biofilm prodotto dai batteri, partendo da una citazione di John Craig Venter, genetista, il quale ha affermato: "Se non accetti il fatto che questo mondo appartiene ai microbi, significa che probabilmente vivi su un altro pianeta". In effetti, se si riducesse il tempo in scala facendo in modo che l'intera durata della vita terrestre corrisponda a un anno, potremmo dire che l'uomo è comparso su questo pianeta mezz'ora prima della mezzanotte del 31 dicembre, i dinosauri sono scomparsi il giorno di Santo Stefano, mentre la comparsa del biofilm batterico è avvenuta intorno a Pasqua, ben prima che sulla Terra ci fosse l'ossigeno e obbligando i batteri ad attraversare ere geologiche cataclismatiche, alle quali non solo sopravvissero, ma riuscirono a evolversi.

BOVIGEN[®] SCOUR

One shot, one life

Vaccino per l'enterite neonatale
One Shot ad ampio spettro.

Virbac S.r.l.
Via E. Bugatti 15
20142 Milano
Tel. +39 02 4092471
it.virbac.com
virbac@virbac.it

Shaping the future of animal health



Mark Alistair Beghian.



Andrea Bazzoli.



Matteo Ligabue.

I batteri non sono semplici microrganismi unicellulari: in realtà, il loro stile di vita è complesso e interattivo, in funzione dell'ambiente-ospite. In particolare sono talmente "intelligenti" da capire che uniti riescono a sopravvivere a mutate condizioni ambientali. Il biofilm è una capsula di resilienza, in cui i batteri analizzano le situazioni che hanno intorno e stabiliscono una strategia di sopravvivenza, che consente loro di mantenere condizioni di temperatura, salinità e pH all'interno di determinati *ranges* e fornisce un effetto scudo ai raggi UV.

Conoscere le caratteristiche del biofilm è fondamentale, in quanto si può avere possibilità di vittoria solo se si conoscono le forze in campo e se si possiedono le capacità per analizzarle. Tutte le specie microbiche possono essere biofilmogene, in determinate condizioni di stress, concentrazione delle sostanze nutritive, dimensioni della colonia e grado di confinamento. I batteri formano biofilm come protezione, per garantirsi l'accessibilità alle sostanze nutritive, per ottenere vantaggi cooperativi a livello di comunità e per un meccanismo congenito di sviluppo.

Le variabili ambientali che ne influenzano la formazione sono, in un fluido: la velocità del flusso, il pH, la temperatura, la presenza di cationi, di antimicrobici o nutrienti; per le superfici vanno prese in considerazione il tipo e l'irregolarità delle stesse, l'idrofobicità, le proprietà chimiche, la polarità e la composizione.

Le variabili microbiche, invece, sono legate all'idrofobicità, alle fimbrie, alla sostanza polimerica cellulare, al *Quorum Sensing* (QS) e ai *trigger* molecolari.

Quando si trovano allo stato planctonico, le cellule microbiche hanno un fenotipo indipendente, libero e fluttuante, mentre all'interno del biofilm avviene un cambiamento fenotipico con il passaggio allo stato sessile, che permette di esprimere la capacità intrinseca di aggregazione tipica di ogni cellula microbica. I batteri, quindi, non sono eremiti vagabondi abbandonati a sé stessi allo stato planctonico, ma individualità in grado di comunicare mediante un linguaggio collettivo (*Quorum Sensing*), che risiedono in comunità molto popolose e gerarchicamente organizzate, condividendo tra loro un senso di utilità sociale che tutela la sopravvivenza *in toto* della comunità.

Il cambiamento della forma di aggregazione è una strategia di sopravvivenza, così come lo è il cambiamento in generale. Infatti, citando Charles Darwin "*Gli organismi viventi sono in equilibrio con il loro ambiente. Siccome l'ambiente cambia,*

devono cambiare anch'essi, altrimenti sono condannati a scomparire." La formazione del biofilm segue delle regole costanti nel tempo. Quando le cellule microbiche allo stato planctonico, dotate sia di mobilità (per mezzo di movimenti flagellari e striscianti), sia della possibilità di compiere una traslocazione rapida e coordinata (grazie alla sciamatura dendritica) compiono l'adesione a un substrato, si produce un attecchimento su monostrato e riduzione della mobilità.

Si ha perdita dei movimenti flagellari, che vengono sostituiti da organi di fissazione che consentono al biofilm di svilupparsi su di una superficie. A questo punto si creano microcolonie, che vanno aggregandosi per formare il biofilm, con attecchimento chimico, produzione di matrice di sostanza polimerica e *Quorum Sensing*. Le caratteristiche di composizione e omogeneità del biofilm dipendono dalla sciamatura dendritica. Una volta che il biofilm diventa maturo, si ha la lisi della matrice con rottura e distacco microbico e avviene la dispersione delle cellule batteriche che ritornano allo stato planctonico.

L'interesse della ricerca su questo argomento è cambiato nel corso degli ultimi 50 anni: il primo lavoro scientifico sul biofilm risale al 1975 ed è rimasto un evento a lungo isolato. Oggi, invece, si contano oltre 6.000 pubblicazioni sulla produzione batterica di biofilm solo nel corso del 2019. In particolare, l'attenzione dei ricercatori si è focalizzata sui meccanismi di formazione, sviluppo di modelli predittivi e applicazioni intelligenti del biofilm. Si è così scoperto il *Quorum Sensing*, una vera e propria cabina di regia che coordina la colonia in funzione della densità di popolazione microbica, dettando i tempi di passaggio tra stato planctonico e sessile, opera un controllo dinamico dell'espressione genica e compie un monitoraggio modulato del fabbisogno energetico.

Le capacità intrinseche del biofilm sono l'autodeterminismo, la coevoluzione, l'interconnettività e la differenziazione.

Gli scambi di informazioni ed espressioni geniche che caratterizzano il biofilm lo rendono un nemico da combattere come parte della lotta all'antibiotico-resistenza.

È da sottolineare il fatto che i protocolli di igiene riducono il numero di batteri, ma ovviamente non si riesce a raggiungere la sterilità totale, i batteri rimasti vengono così favoriti fornendo loro lo spazio necessario alla colonizzazione. Ciò si può risolvere pilotando questa colonizzazione secondaria mediante l'utilizzo di un biofilm apatogeno positivo che compete con i batteri patogeni.

IL BIOFILM COME OPPORTUNITÀ

Matteo Ligabue, responsabile tecnico avicoli di Lallemand Animal Nutrition, ha spiegato quali possano essere le opportunità di utilizzo di un biofilm positivo in allevamento.

L'evoluzione dell'ambiente microbico nelle strutture in cui avvengono le produzioni animali si compone di tre fasi.

Nella prima fase, si attua un protocollo d'igiene che mira all'ottenimento di un ambiente pulito e disinfettato.

La seconda fase vede l'ingresso degli animali nella struttura, con conseguente elevata concentrazione di differenti microrganismi in forma di biofilm su tutte le superfici.

La terza fase è rappresentata dalla fine del ciclo, momento in cui vi è la massima pressione microbica, e l'ambiente è saturo di microrganismi. Ciò di cui non si tiene conto generalmente è che nella prima fase, in realtà, col processo di disinfezione si sta creando uno spazio colonizzabile da nuovi biofilm batterici, ed è su questo punto che è possibile agire per migliorare l'igiene degli allevamenti.

I fattori che possono amplificare l'impatto di un biofilm batterico sono le carenze nella biosicurezza, le variazioni di temperatura e umidità, l'ingresso degli animali, con il conseguente aumento della microflora presente e della capacità di generare biofilm, la scarsa gestione dell'allevamento, la presenza di numerose attrezzature, con aumento delle superfici colonizzabili dai batteri, la disseminazione batterica sulle superfici tramite aerosol. La stabulazione degli animali rappresenta un complesso ambiente microbico con un elevato potenziale patogeno.

La maggior parte dei batteri è in grado di generare biofilm. Solo per fare qualche esempio, il *Campylobacter* è recentemente divenuto, nell'Unione Europea, il patogeno batterico gastrointestinale isolato con maggior frequenza nell'uomo: nel 2018 nell'Unione Europea sono stati registrati quasi 250 mila casi. Tra gli animali i più colpiti sono i tacchini, le cui percentuali di positività superano il 70%. *Salmonella*, invece, viene trasmessa in maggior misura dai polli da carne e causa enormi perdite nel valore del prodotto, con un forte impatto sulla catena di produzione.

La ricolonizzazione microbica delle superfici prima dell'ingresso degli animali rappresenta un rischio per l'innalzamento della pressione infettiva all'inizio del nuovo ciclo di produzione, e tanto più prolungato è il vuoto sanitario, tanto più tempo a disposizione hanno i batteri per sviluppare biofilm. Ligabue ha quindi illustrato le caratteristiche di

Lincovex 400mg/g

POLVERE SOLUBILE PER SUINI E POLLI

LINCOMICINA 40%

LalFilmPRO, il biofilm apatogeno di Lallemand, con il quale si può compiere un'inversione del paradigma, usando le stesse armi dei batteri per estendere il protocollo di igiene. La tecnologia esclusiva si basa sull'utilizzo di ceppi batterici specifici, con efficacia antagonista ed elevato potere aderente.

Facendo un paragone con i fattori chiave di espansione nel processo di colonizzazione della Repubblica e dell'Impero Romano, LalFilmPRO è basato su un esercito coeso e organizzato, rappresentato dalla capacità di *Bacillus* spp. di formare un biofilm, su guerrieri valorosi come i batteri lattici e *Pediococcus* spp., che prevengono la crescita di batteri indesiderabili, e sull'impiego della tecnologia, che evita il percolamento dalle superfici verticali, grazie all'elevato potere adesivo.

Sono stati selezionati ceppi batterici in grado di colonizzare un ambiente in tempi rapidi e in maniera uniforme, che possono inibire e antagonizzare la crescita di altre specie. L'azione tridimensionale risulta infatti immediata e uniforme e nell'arco di 12 ore risultano coperti quasi tutti gli spazi nell'ambiente, il biofilm protettivo è maturo ed è pronto per l'ingresso degli animali nell'edificio.

Ovviamente l'azione di questo prodotto può portare a risultati ottimali solo se preceduto da un buon protocollo di igiene e detersione, in quanto vanno eliminate le capsule di sopravvivenza dei batteri nelle matrici organiche.

Per selezionare i migliori produttori di biofilm è stata utilizzato il *Biofilm Ring Test*, uno strumento in grado di testare 96 ceppi batterici contemporaneamente per stabilire qual è il ceppo a crescita più veloce. Inoltre, per mezzo di esperimenti *in vitro* sono stati misurati gli effetti di prevenzione dei vari ceppi testati, e selezionati quelli in grado di prevenire la crescita di una vasta gamma di batteri patogeni grazie alla creazione di un ambiente sfavorevole.

Per quanto riguarda i protocolli di applicazione in Italia, il prodotto è stato testato nei capannoni di broiler, nelle sale parto dei suini e nelle sale di ingrasso dei conigli, applicandolo circa 24 ore prima dell'ingresso degli animali. È in fase di sviluppo un'ipotesi di protocollo d'impiego anche negli incubatoi e sale di schiusa, mediante distribuzione di LalFilmPRO su tutte le attrezzature critiche, in maniera da alzare ancor di più il già alto livello di igiene di queste strutture.

Il biofilm positivo LalFilmPRO ovviamente non deve essere considerato alternativo al protocollo d'igiene, bensì complementare ad esso. Il suo impiego garantisce maggiore salute degli animali, soprattutto all'avvio del ciclo di produzione. La protezione fornita dal biofilm è di 7-10 giorni, sufficiente per coprire la fase d'ingresso e assestamento degli animali. Superato questo periodo, la pressione microbica dovuta alla presenza degli animali comincia ad essere troppo elevata per venire contrastata efficacemente. |

Tatiana Lo Valvo

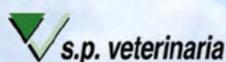


Tempi di attesa **0,0**



**L'UNICA LINCOMICINA AL 40%
CON PERIODO DI VALIDITA':
3 ANNI**

Produttore autorizzato:

 s.p. veterinaria

Distributore esclusivo per l'Italia:

 Unione
Commerciale
Lombarda

via Giuseppe Di Vittorio, 36 - 25125 Brescia (Italy)
Tel: +39.030.3581297 - Fax: +39.030.2681315
www.uclspa.it info@uclspa.it