

Interiorizzazione attiva e passiva

Simona Lauri OdG Milano



Intervista al Dott. Claudio Poli
biotecnologo, chimico industriale, ricercatore
e analista

Quando si parla di prodotti di I gamma, ci si riferisce ai vegetali freschi ossia a tutta quella vastità di **prodotti ortofrutticoli** che dal campo passano alle tavole senza aver subito nessun trattamento termico di sanificazione, di confezionamento, di disidratazione ecc.

Molti pensano che siano "sicuri" a prescindere. In realtà è così, ma questo non vuol dire che si debba escludere un'eventuale contaminazione da microrganismi *interiorizzati* oppure secondaria, durante e post raccolta. **Per dissipare ogni dubbio ho**

chiesto delucidazioni al Dott. Claudio Poli - Master in biotecnologie degli alimenti. Sapienza Università di Roma e Laurea in Chimica Industriale sempre presso Sapienza Università di Roma, ricercatore in biotecnologie degli impasti acidi e fermentazioni naturali, relatore tecnico scientifico su argomenti accademici (chimica, fisica, biologia, entomologia, ingegneria alimentare, igiene e prevenzione, bromatologia), analista chimico industriale e microbiologo degli alimenti - il quale, con la gentilezza, competenza e professionalità che lo distinguono, **ha accettato di rispondere** al mio quesito.



Pertanto, ringrazio infinitamente il Dott. Claudio Poli per la pazienza e la dovizia di particolari nella descrizione.

Quando andiamo a fere la spesa e vediamo esposti i vegetali freschi, pensiamo subito che siano sempre sicuri da un punto di vista igienico sanitario; qualche volta, però, si possono nascondere delle insidie. Cortesemente potrebbe chiarirci questo punto ed eventualmente spiegare come avviene la penetrazione, la contaminazione e lo sviluppo microbico dei prodotti di I gamma?

Le piante sono ricoperte da uno strato protettivo costituito da polimeri di cutina immersi in cera. Questo strato è **relativamente impermeabile** all'ingresso e alla fuoriuscita di acqua, agli scambi gassosi e alla penetrazione di particolato. **Varie strutture della superficie della pianta rendono possibile lo scambio di gas richiesto** per i processi vitali metabolici e fotosintetici che hanno luogo nelle cellule sottostanti.

In condizioni naturali, i microrganismi localizzati sulla superficie dei vegetali sono definiti "interiorizzati".

Tali microrganismi sono di difficile rimozione dei vegetali, sono protetti dagli stress ambientali e non possono essere inattivati mediante contatto con biocidi o altri disinfettanti superficiali.

Affinché possa essere "interiorizzato", un microrganismo deve penetrare direttamente nello strato superficiale oppure entrare attraverso un'apertura o una lesione della superficie. Una volta aderiti al substrato,





i batteri possono penetrare in frutta e vegetali tramite tagli o ammaccature: la linfa che fuoriesce delle piante ha un'azione di richiamo nei confronti dei comuni patogeni e rappresenta una buona fonte di nutrimento.

Alcuni agenti infettivi proprio delle piante, inoltre, possono richiamare microrganismi responsabili di tossinfezioni alimentari: un'infestazione della pianta da parte di funghi, per esempio, può determinare un incremento di pH e creare condizioni favorevoli per lo sviluppo di *Salmonella* o *E. coli* 0157:H7.

I patogeni alimentari possono colonizzare e proliferare sui vegetali grazie alla presenza di

diversi fattori:

- La mobilità del patogeno.
- La cuticola cerea dei vegetali.
- La percolazione dei nutrienti delle piante.
- L'interazione con l'organismo vegetale.
- Il pH del tessuto della pianta.
- L'interazione con l'organismo vegetale.
- Il pH del tessuto della pianta.

Il tempo impiegato per

l'attecchimento del patogeno al substrato è variabile (30-60min) ed è **dipendente dalla disponibilità di acqua e nutrienti**, dalla venatura e dalle radici da cui la pianta trae nutrienti e acqua, dalla presenza di tagli, rotture o ammaccature e dallo stoma.

Le condizioni ambientali (umidità, temperatura esterna) e **lo stato di ricettività della pianta** (età e vigore degli organi, contenuto idrico dei tessuti) sono cause che **influenzano gli attacchi batterici** e le loro manifestazioni.

All'interno delle piante **la maggior parte dei microrganismi è**

localizzata negli spazi intercellulari, mentre virus e altri patogeni hanno una localizzazione intracellulare.

Tuttavia i microrganismi che resistono alle operazioni di lavaggio, ai disinfettanti superficiali o agli stress ambientali non sono sempre "interiorizzati".

È stato evidenziato che il lavaggio delle foglie, con o senza trattamento di sonicazione (utilizzo di onde acustiche, in particolare ultrasoniche), **non è in grado di rimuovere tutti i batteri che vivono interamente sulla superficie della pianta**, forse perché, parte di essi, sono intrappolati in biofilm superficiali o in altre aggregati.





Inoltre sono stati anche osservati batteri parzialmente immersi nei rivestimenti di cera superficiali e nelle fessure della cuticola.

I microrganismi intrappolati in aggregati, biofilm, **rivestimenti di cera o fessure della cuticola sono in qualche modo protetti dagli stress ambientali** e dai trattamenti di superficie; **quelli realmente "interiorizzati"**, cioè che sono situati sotto gli strati delle cellule vegetali, **dovrebbero godere di una maggiore protezione. I microrganismi "interiorizzati" sono parte di un complesso ecosistema microbico associato**

alla pianta. I microrganismi **epifiti** (che vivono sulle piante) sopravvivono e **si moltiplicano in superficie**, mentre quelli endofiti colonizzano l'interno della pianta senza causare un danno evidente. **Quelli che crescono su/nelle piante e causano danni sono definiti patogeni della pianta.**

Gli epifiti, gli endofiti e i patogeni possono essere considerati **microrganismi residenti**, perché costituiscono l'ecosistema microbico associato alla pianta. **Le singole specie che non riescono a stabilirsi in questo ecosistema**, nonostante uno o più tentativi d'introduzione, **sono definiti microrganismi "occasionalisti"**.

Generalmente i microrganismi occasionali

mal si adattano a sopravvivere sulla superficie delle piante. **Una volta penetrati, però, gli occasionali possono sopravvivere per lunghi periodi.** Tuttavia, in alcune condizioni, i microrganismi occasionali "interiorizzati", sono in grado di moltiplicarsi.

Il rivestimento superficiale delle piante e le strutture a esso sottostanti sono classificati in *simplasto e apoplasto*. Il simplasto, o materia vivente, comprende il **citoplasma** delle cellule, mentre l'**apoplasto** comprende lo strato superficiale, **le pareti cellulari**, gli spazi d'aria tra le cellule e nella matrice della parete cellulare, e i principali tessuti

adibiti alla conduzione dell'acqua (xilema).

Il processo di "interiorizzazione" attraverso il quale i microrganismi entrano nell'apoplasto della pianta **può essere attivo o passivo.** Se l'**interiorizzazione è attiva**, i microrganismi si sviluppano attraverso la superficie della pianta, all'interno degli spazi intercellulari, e ciò è compatibile con l'attività di numerosi patogeni della pianta. Durante l'interiorizzazione attiva, **i patogeni della pianta penetrano direttamente attraverso la cuticola o indirettamente attraverso gli stomi**, le lenticelle, gli





idatodi o eventuali lesioni.

L'interiorizzazione passiva si realizza quando, tramite le aperture fisiologiche della pianta, **i microrganismi entrano nell'apoplasto grazie al contatto con un oggetto che causa lesioni** o attraverso il passaggio di acqua, aerosol o particolato contenente microbi. I virus della pianta possono essere "interiorizzati" dagli insetti nei tessuti vegetali di cui si stanno nutrendo. **L'aerosol può entrare attraverso gli stomi aperti** durante un trasferimento di gas nelle foglie. **Le sospensioni acquose di microrganismi possono infiltrarsi nelle aperture superficiali** o nelle lesioni sia spontaneamente, sia per gradienti di pressione esistenti **tra l'apoplasto e l'ambiente esterno.**

Molte delle aperture superficiali sono abbastanza grandi da consentire il passaggio, di batteri e piccole particelle, mentre **le spore fungine potrebbero essere bloccate.** La cicatrice staminale del pomodoro sembrerebbe favorire il passaggio delle spore del fungo *Geotrichum candidum* (marciume acido).

Lesioni provocate da *Rhizopus stolonifer* e *Geotrichum candidum* si sviluppano attorno e sotto la cicatrice staminale del pomodoro, quando favoriscono l'"interiorizzazione" delle corrispondenti spore fungine. **È stato osservato che pomodori raffreddati con acqua contaminata con spore di *Rhizopus stolonifer* generalmente marcivano** durante la conservazione. Tuttavia il meccanismo attraverso il quale le spore riuscissero in questi esempi a "interiorizzarsi" attraverso la cicatrice staminale non è ancora chiaro.

Al contrario, le lesioni a carico di tessuti con larghi spazi intercellulari sembrano chiaramente interiorizzare le spore fungine. **Sono note diverse modalità di "interiorizzazione" microbica.**

Un flusso di aria attraverso gli stomi aperti sulle foglie potrebbe "interiorizzare" le particelle disperse nell'aerosol, compresi batteri e virus.

L'acqua libera presente nelle aperture superficiali (come gli stomi) **costituisce un canale di acqua** che connette l'apoplasto di una pianta con il suo ambiente esterno. **Le lesioni fresche sono**

caratterizzate da un immediato rilascio di fluido dai vacuoli rotti e dal plasmalemma. Questa "linfa cellulare" crea dei canali d'acqua istantanei che, entro pochi secondi di contatto, sia particolari sia soluzioni acquose possono penetrare fino a 1 cm di profondità dal punto della lesione.

Questo concetto di rapida "interiorizzazione" attraverso le lesioni è supportato da test di disinfezione su pomodori lesionati. L'acqua o le sospensioni cellulari di batteri possono infiltrarsi nelle aperture così come nella lesione di frutta e vegetali freschi durante le fasi di raccolta e di processo.

Nel campo, gli apparati radicali





e gli idatodi (stomi acquiferi deputati all'eliminazione di acqua) **sembrano maggiormente in grado di "interiorizzare" i microrganismi.** Molto probabilmente gli apparati radicali "interiorizzano" i microrganismi del terreno a causa delle lesioni che si formano durante lo sviluppo della radice.

Lo sviluppo delle radici laterali nelle piante ha origine generalmente in corrispondenza del periciclo, che è alla base dell'endoderma. **L'endoderma è una struttura di cellule strettamente impacchettate,** localizzata parecchi strati cellulari sotto la superficie della radice. **Non appena la punta della**

radice si forma ed emerge, essa attraversa l'endoderma e la corteccia, **creando una lesione aperta** che rappresenta il **sito per la colonizzazione da parte di batteri** del terreno. Anche i batteri occasionali possono crescere nelle lesioni create dalla formazione delle radici laterali. ***E. coli* O157:H7 riesce a interiorizzarsi nella lattuga,** probabilmente attraverso l'apparato radicale, **quando le piante sono utilizzate con letame contaminato** o irrigate con acqua contaminata. L'ingresso dei batteri nei vasi dello *xilema* sembra aver luogo **quando l'endoderma non è**

completamente sviluppato o come conseguenza di una ipertrofia delle cellule dello *xilema parenchimale*, che sembra distruggere i vasi dello xilema appena sviluppato.

Le crepe sulla superficie della pianta, dovute alla crescita durante i processi di maturazione, potrebbero, almeno temporaneamente, **fornire siti per l'interiorizzazione microbica.**

In ogni frutto o vegetale fresco la formazione di spaccature o lesioni

superficiali, prima o post raccolta, potrebbe consentire ai vari meccanismi di "interiorizzare" e portare a un prodotto contaminato.

Grazie alle loro caratteristiche nutrizionali, i vegetali sono in grado di supportare lo sviluppo di muffe, lieviti e batteri e sono, pertanto, oggetti all'azione alterante da parte di tutti questi microrganismi.

L'elevata percentuale di acqua, presente per lo più in forma disponibile, il pH situato nell'intervallo





favorevole allo sviluppo di numerosi batteri, il potenziale di ossidoriduzione (Eh) relativamente elevato e la scarsa stabilità suggeriscono una **possibile prevalenza di aerobi e anaerobi facoltativi rispetto agli anaerobi**. Batteri lattici di forma coccica (Leuconostoc e streptococchi), insieme a corinebatteri possono costituire la microflora batterica dominante di alcune specie vegetali come piselli e mais. **Anche stafilococchi coagulasi positivi** insieme a microrganismi di origine fecale **potrebbero essere**

presenti sui prodotti vegetali.

Generalmente non rappresentano un rischio per il consumatore, in quanto, a meno di circostanze particolari (per es. Irrigazione con acque molto contaminate), **la concentrazione cellulare iniziale è bassa ed essi non sono in grado di moltiplicarsi rapidamente** per le condizioni ambientali avverse (per es. basse temperature di conservazione) e **per la competizione esercitata da altri gruppi microbici presenti.**