



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

SYLLABUS DEL CORSO

Microrganismi Probiotici: Biologia e Applicazioni Industriali

2627-1-F0803Q085

Obiettivi

Conoscenza e capacità di comprensione

Le studentesse e gli studenti acquisiranno conoscenze riguardanti:

- il significato di probiotico, di colture starter, di live biotherapeutics, e degli altri prodotti "biotici";
- le metodologie adottate nella ricerca e nell'industria per l'identificazione, la tipizzazione e la caratterizzazione funzionale dei microrganismi probiotici;
- i principali microrganismi impiegati come probiotici;
- i principi della produzione industriale delle biomasse microbiche;
- gli aspetti principali legati alla sicurezza di impiego dei microrganismi, in accordo con le normative vigenti;
- le potenzialità di impiego dei microrganismi a supporto della salute umana al di fuori del concetto di probiotico.

Capacità di applicare conoscenza e comprensione

Le studentesse e gli studenti svilupperanno la competenza necessaria per interpretare le pubblicazioni scientifiche che coinvolgono l'impiego di microrganismi a supporto della salute umana e sapranno scegliere le metodologie scientifiche più adatte per la selezione e la caratterizzazione di un microrganismo probiotico. Inoltre, la conoscenza delle metodologie impiegate nella ricerca scientifica unitamente alla conoscenza delle pratiche industriali di produzione delle biomasse microbiche consentirà di applicare quanto appreso nell'ambito delle necessità dell'industria del settore.

Autonomia di giudizio

Le studentesse e gli studenti acquisiranno la capacità di esaminare in modo critico le caratteristiche dei prodotti probiotici in commercio, valutandone la composizione microbiologica, la coerenza tra formulazione e razionale scientifico, la plausibilità dei claim proposti e gli aspetti relativi alla qualità e alla stabilità del prodotto. Acquisiranno inoltre autonomia di giudizio in merito ai potenziali rischi associati all'assunzione di biomasse microbiche vive o inattivate e saranno in grado di distinguere i contesti nei quali il concetto di live biotherapeutics deve sostituire quello di probiotico.

Le abilità critiche e di giudizio saranno sviluppate attraverso attività di didattica interattiva (DI), che prevedono l'analisi guidata di casi industriali reali, pubblicazioni scientifiche controverse e dossier regolatori. In tali attività, le studentesse e gli studenti saranno invitati a discutere l'affidabilità sperimentale delle evidenze disponibili, la solidità del ragionamento biologico, la coerenza metodologica degli studi e le possibili implicazioni applicative, regolatorie e socio-economiche.

Potranno inoltre essere organizzate attività strutturate di discussione/dibattito guidato su questioni controverse relative ai microrganismi probiotici, quali ad esempio il rapporto tra efficacia clinica e marketing claims, le differenze tra approccio regolatorio europeo e statunitense, o la distinzione tra probiotici, postbiotici e live biotherapeutics. Tali attività avranno finalità formative e di autovalutazione e non contribuiranno direttamente alla determinazione del voto finale.

Abilità comunicative

Le studentesse e gli studenti saranno in grado di comunicare con un linguaggio appropriato le caratteristiche indispensabili di un buon prodotto probiotico, sia dal punto di vista microbiologico, sia dal punto di vista della formulazione e del packaging del prodotto. Inoltre, sapranno descrivere con chiarezza il potenziale rischio associato al consumo dei probiotici e sapranno tradurre i risultati delle ricerche scientifiche più recenti in conoscenze utili alla risoluzione delle problematiche industriali connesse alla produzione e alla commercializzazione dei probiotici.

Capacità di apprendimento

Al termine dell'insegnamento, le studentesse e gli studenti saranno in grado di proseguire l'apprendimento attraverso la consultazione della letteratura e delle normative più recenti nell'ambito dei probiotici e dei live biotherapeutics. La conoscenza dei principali aspetti industriali di produzione e commercializzazione dei probiotici indirizzerà le studentesse e gli studenti verso l'integrazione delle conoscenze sul tema in modo ampio e multidisciplinare.

Contenuti sintetici

- Le origini del concetto di probiotico
 - Gli starter microbici
 - Tassonomia e tipizzazione genetica dei probiotici
 - La caratterizzazione funzionale dei probiotici
 - La sicurezza di impiego dei probiotici
 - I next generation probiotics, i live biotherapeutics e gli altri "biotici"
 - I principali aspetti industriali dei prodotti probiotici
 - I probiotici e la sperimentazione su uomo
 - I probiotici e la legislazione
 - L'uso dei microrganismi a beneficio della salute umana al di fuori del concetto di probiotico
-
- Verrà organizzata una visita presso un'azienda produttrice di biomasse microbiche impiegate come starter alimentari e come probiotici, durante la quale sarà visitato uno degli impianti produttivi.
 - Sono previsti seminari da parte di esperti provenienti da industrie del settore.

Programma esteso

- Le origini del concetto di probiotico

Le interazioni tra i microrganismi e l'organismo umano (cenni sui concetti di olobionte, microbiota e microbioma). Le definizioni di probiotico (FAO/WHO e Ministero della Salute italiano). Le linee guida della FAO/WHO:

descrizione dell'iter necessario per la valutazione di un probiotico secondo la FAO/WHO. I microrganismi presenti negli alimenti come potenziali probiotici: lo yogurt e i prodotti tradizionali fermentati. Il consensus statement dell'ISAPP.

- Gli starter microbici

Le diverse definizioni di starter microbico. Differenze tra starter microbici e microrganismi probiotici.

La classificazione delle colture starter. Gli starter microbici e le problematiche di sicurezza. I processi industriali di produzione delle colture starter. Le modalità di conservazione e distribuzione degli starter microbici. Gli starter microbici e le produzioni tradizionali e artigianali (gli starter autoctoni).

- Tassonomia e tipizzazione genetica dei probiotici

L'identificazione tassonomica di genere e specie. I microrganismi impiegati come probiotici: batteri lattici, bifidobatteri e gli altri microrganismi impiegati come probiotici (*Saccharomyces*, *Escherichia coli* and *Heyndrickxia coagulans*). La caratterizzazione a livello di ceppo: le collezioni internazionali di ceppi microbici; tecniche molecolari di fingerprinting per la caratterizzazione del ceppo. I ceppi microbici più impiegati come probiotici dall'industria. La ceppo-specificità secondo il consensus statement dell'ISAPP.

- La caratterizzazione funzionale dei probiotici

Valutazione della resistenza al transito gastro-intestinale. Le strategie di incremento della sopravvivenza al transito gastro-intestinale: la microincapsulazione. L'adesione batterica all'epitelio intestinale e i metodi per lo studio dell'adesione batterica. La misurazione della resistenza elettrica trans-epiteliale (TEER). I saggi di immunomodulazione (per es., il sistema reporter per lo studio dell'attivazione dell'NF-kappaB nella linea cellulare Caco-2). Antagonismo e attività antimicrobica dei probiotici verso patogeni (saggio di valutazione dell'attività antagonistica, le batteriocine, la reuterina).

- La sicurezza di impiego dei probiotici

Prove per la valutazione della sicurezza di un probiotico: la deconiugazione dei sali biliari; la produzione di acido D-lattico da parte dei probiotici e l'acidosi da acido D-lattico; l'emolisi indotta dai batteri; determinazione dell'infettività dei probiotici in modelli animali. La valutazione della sicurezza di un probiotico: la resistenza antibiotica nei probiotici (resistenza antibiotica intrinseca vs resistenza acquisita; meccanismi di resistenza; i breakpoint dell'EFSA). I rischi per la salute umana dell'assunzione di probiotici: discussione di alcuni casi clinici. L'uso dei probiotici per la gestione degli effetti avversi legati al consumo di antibiotici: discussione della recente letteratura scientifica.

- I next generation probiotics, i live biotherapeutics e gli altri "biotici"

Definizioni e regolamenti (FDA e Farmacopea). L'uso di microrganismi geneticamente modificati per la salute umana: potenzialità (drug delivery system) e applicazioni industriali. Il protocollo di Cartagena sulla Biosicurezza. Il caso di *Akkermansia muciniphila*. I prodotti contenenti microrganismi probiotici inattivati (paraprobiotici o postbiotici?). La definizione di sinbiotici, bifidogenici e metabiotici.

- I principali aspetti industriali dei prodotti probiotici

La produzione industriale delle biomasse microbiche. L'importanza del packaging per i prodotti probiotici. L'etichettatura dei prodotti probiotici. Gli elementi microbici trascurati nelle formulazioni commerciali probiotiche. Valutazione vita/morte delle cellule batteriche con colorazioni ioduro di propidio/SYTO e citometria a flusso. I principali tipi di problemi riscontrati a livello microbiologico nei prodotti probiotici.

- I probiotici e la sperimentazione su uomo

I marcatori di tipo a, b e c. Esempio di studio di marcatore di tipo a: gli studi di recovery. Le difficoltà associate allo studio dell'efficacia dei probiotici. Gli effetti benefici sulla salute umana attribuiti ai probiotici (valutazione delle metanalisi disponibili). Breve descrizione dei possibili meccanismi di azione dei probiotici.

- I probiotici e la legislazione

La legislazione europea in materia di probiotici (regolamento 258/97/EC sui novel food, il concetto di presunzione qualificata di sicurezza; QPS, la legislazione 1924/2006 sugli health claims, le conseguenze del regolamento EC 1924/2006). I probiotici in zootecnia: il regolamento (CE) N. 1831/2003. Le linee guida del Ministero della Salute

Italiano. La legislazione sui probiotici al di fuori dell'Europa. Il protocollo di Nagoya.

- *L'uso dei microrganismi a beneficio della salute umana al di fuori del concetto di probiotico*

(ii) L'impiego al di fuori del tratto gastrointestinale: i prodotti in commercio destinati per la cavità orale, la mucosa vaginale e la pelle;

(iii) La phage therapy;

(iv) Il trapianto di microbiota fecale.

- Verrà organizzata una visita presso un'azienda produttrice di biomasse microbiche impiegate come starter alimentari e come probiotici, durante la quale sarà visitato uno degli impianti produttivi.
- Sono previsti seminari da parte di esperti provenienti da industrie del settore.

Prerequisiti

Sono richieste le conoscenze acquisite nei corsi di Microbiologia e Biochimica.

È necessaria una conoscenza di base di Immunologia e Genetica.

Sono richieste competenze di base nelle tecnologie di biologia molecolare (PCR, analisi dell'espressione genica, elettroforesi, clonaggio).

Modalità didattica

L'insegnamento prevede complessivamente 45 ore, tutte svolte in presenza.

Le attività didattiche comprendono 35 ore di didattica erogativa (DE), dedicate alla presentazione sistematica dei contenuti scientifici, tecnici, industriali e regolatori del corso. Nell'ambito della didattica erogativa potranno essere incluse 2–4 ore di seminari tenuti da esperti provenienti da aziende del settore, finalizzati ad approfondire aspetti applicativi relativi alla produzione industriale, al controllo qualità, alla formulazione, alla stabilità e agli aspetti normativi dei prodotti contenenti microrganismi probiotici o altre biomasse microbiche di interesse per la salute umana.

Sono inoltre previste 10 ore di didattica interattiva (DI), dedicate all'applicazione delle conoscenze acquisite a problemi concreti. Le attività interattive includeranno quiz, attività di problem-solving, discussione guidata di casi studio, analisi critica di pubblicazioni scientifiche e dossier regolatori, nonché attività strutturate di discussione/dibattito guidato su questioni controverse relative ai microrganismi probiotici. Tali attività avranno finalità formative e di autovalutazione e non contribuiranno direttamente alla determinazione del voto finale.

L'insegnamento è inoltre collegato all'"Attività mondo del lavoro", che prevede una giornata di immersione in un contesto industriale reale, con seminari tecnico-scientifici, visita agli impianti produttivi e confronto diretto con professionisti del settore della produzione di biomasse microbiche destinate a prodotti probiotici o ad altre applicazioni biotecnologiche.

Non sono previste attività didattiche da remoto, salvo eventuali esigenze straordinarie.

L'insegnamento è erogato in lingua italiana. I materiali didattici e di approfondimento sono prevalentemente forniti in lingua inglese.

Materiale didattico

Il materiale didattico (slide) e di approfondimento (pubblicazioni scientifiche, video e testi divulgativi) è disponibile alla pagina e-learning dell'insegnamento.

La videoregistrazione delle lezioni, per la parte svolta in modalità erogativa, sarà resa disponibile al termine di ciascuna lezione.

Periodo di erogazione dell'insegnamento

Secondo semestre.

Modalità di verifica del profitto e valutazione

L'esame consiste in una prova scritta individuale, della durata di circa 60–90 minuti, finalizzata a verificare il raggiungimento dei risultati di apprendimento attesi.

La prova scritta è articolata in 6–10 quesiti a risposta aperta, relativi agli argomenti trattati durante l'insegnamento. I quesiti possono richiedere la descrizione di concetti teorici, l'interpretazione critica di pubblicazioni scientifiche, l'applicazione dei principi di selezione, caratterizzazione, produzione e controllo qualità dei microrganismi probiotici a casi concreti, l'analisi di problematiche relative alla sicurezza d'impiego delle biomasse microbiche, e la discussione degli aspetti regolatori, industriali e applicativi connessi ai prodotti probiotici, ai live biotherapeutics e agli altri prodotti "biotici".

A ciascun quesito viene attribuito un punteggio compreso indicativamente tra 2 e 6 punti, in funzione della complessità della domanda. La somma dei punteggi ottenuti determina il voto finale espresso in trentesimi. L'esame si considera superato con una votazione minima di 18/30.

La valutazione tiene conto dei seguenti criteri:

- accuratezza, completezza e aggiornamento dei contenuti;
- corretto utilizzo della terminologia specialistica;
- capacità di applicare le conoscenze teoriche a problemi concreti relativi alla selezione, caratterizzazione, produzione e controllo qualità dei microrganismi probiotici;
- capacità di interpretare criticamente pubblicazioni scientifiche, dossier regolatori e casi industriali;
- capacità di valutare la sicurezza, la plausibilità funzionale e il razionale scientifico dei prodotti contenenti microrganismi vivi o inattivati;
- capacità di collegare i diversi argomenti del corso, inclusi aspetti microbiologici, biotecnologici, industriali, regolatori e applicativi;
- pertinenza, rigore metodologico e coerenza logica dell'argomentazione;
- chiarezza espositiva e proprietà di linguaggio tecnico.

La prova scritta verifica quindi la conoscenza e la capacità di comprensione dei contenuti del corso, la capacità di applicare tali conoscenze a casi specifici, l'autonomia di giudizio nell'interpretazione di problematiche scientifiche, industriali e regolatorie, e le abilità comunicative attraverso la formulazione di risposte scritte strutturate e tecnicamente corrette.

È prevista una prova orale facoltativa, su richiesta della studentessa, dello studente o del docente. Il colloquio orale consiste nella discussione degli argomenti del corso e/o della prova scritta e consente di completare la valutazione complessiva, con particolare riferimento alla capacità di argomentare criticamente, collegare i diversi temi

dell'insegnamento e utilizzare un linguaggio tecnico appropriato. Il colloquio orale può modificare il voto della prova scritta, in aumento o in diminuzione, sulla base dell'esito della discussione.

Non sono previste prove in itinere valutative. Eventuali esempi di domande o fac-simile di prova potranno essere resi disponibili durante le lezioni e/o sulla pagina e-learning dell'insegnamento.

Orario di ricevimento

Su appuntamento (in ufficio o in video chat), previa richiesta per e-mail (simone.guglielmetti@unimib.it) o in aula.

Sustainable Development Goals

SALUTE E BENESSERE | ISTRUZIONE DI QUALITÀ | IMPRESE, INNOVAZIONE E INFRASTRUTTURE
