



*Il primo ceppo appartenente alla specie *Lactobacillus helveticus* è stato isolato nel 1919 dall'Emmental, un formaggio svizzero da cui trae originariamente il nome*

## **LACTOBACILLUS HELVETICUS: UN PROBIOTICO EMERGENTE**

*Isolato per la prima volta dal formaggio svizzero Emmental, questo lattobacillo è una delle principali specie utilizzate in tecnologia casearia per la produzione di formaggi a pasta cotta e a lunga stagionatura, grazie alla sua capacità di rapida acidificazione, resistenza a bassi valori di pH e ai trattamenti di cottura della cagliata. Presenta ottime potenzialità probiotiche scientificamente dimostrate, anche se esistono diverse problematiche dal punto di vista della normativa per poter sostenere un claim salutistico relativo a questa attività.*

\***Flavio Tidona,**  
 \*\*\***Antonino Mazara**  
 \*\*, \*\*\***Francesco Saverio**  
**Robustelli Dalla Cuna**

Il primo ceppo appartenente alla specie *Lactobacillus helveticus* è stato isolato nel 1919 dall'Emmental, un formaggio svizzero da cui trae originariamente il nome. All'interno del vasto gruppo dei batteri lattici (LAB), si configura tra gli omofermentanti obbligati, con temperatura ottimale di crescita tra i 42-45 °C (Figura 1). Da un punto di vista metabolico, *L. helveticus* è una specie molto esigente relativamente al fabbisogno azotato, poiché risulta auxotrofa per ben 14 aminoacidi essenziali, ma questa mancanza anabolica è compensata dall'evoluzione di un sistema proteolitico molto sviluppato, trovando condizioni ideali di sviluppo nei prodotti caseari, ricchi di sostanze proteiche. Infatti *L. helveticus* rappresenta la popolazione dominante del siero-innesto, cioè il siero di fine lavorazione fermentato che viene impiegato in caseificio come coltura starter naturale per avviare la produzione dei formaggi del giorno successivo. Non sorprende dunque che diversi ceppi si siano particolarmente adattati a peculiari realtà produttive come quella casearia, frutto della pressione selettiva impartita dalla tecnologia di produzione nel corso dei decenni (Giraffa, 2015).

Attualmente *L. helveticus* è anco-

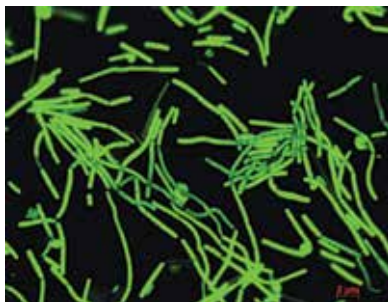


Fig. 1. Cellule vitali di *Lb. helveticus* viste mediante microscopio in fluorescenza

ra una delle principali specie utilizzate in tecnologia casearia per la produzione di formaggi a pasta cotta e a lunga stagionatura, come Emmental, Gruyère, Grana Padano, Parmigiano Reggiano e Provolone, grazie alla sua capacità di rapida acidificazione, resistenza a bassi valori di pH e ai trattamenti di cottura della cagliata (53-56 °C). Inoltre, i ceppi di *L. helveticus* spesso rilasciano una serie di enzimi quali proteinasi, peptidasi, esterasi e lipasi, che sono attivamente coinvolti nel processo di maturazione dei formaggi, contribuendo al sapore e allo sviluppo di composti aromatici. La capacità, ceppo-specifica, di produrre batteriocine rappresenta una strategia adottata dalla specie *L. helveticus* per competere con successo con la microflora residente.

Le batteriocine, come l'elveticina J prodotta dal ceppo *L. helveticus* 481, sono molecole proteiche che esibiscono attività battericida nei confronti di specie strettamente correlate a livello tassonomico (Joerger & Klaenhammer, 1986). Un aspetto problematico che minaccia il settore lattiero-caseario è anche la presenza ubiquitaria di batteriofagi virulenti, che causano infezioni allo starter con il rischio di ritardare o persino arrestare il processo fermentativo. Di conseguenza, per evitare antieconomici blocchi di produzione e alterazioni della qualità dei prodotti, le recenti scoperte sulle interazioni fago-ospite in *Lb. hel-*

*veticus* possono fornire un ausilio importante nel controllo dei batteriofagi (Zago *et al.*, 2008; Zago *et al.*, 2013).

### Habitat e aspetti ecologici

I LAB occupano differenti nicchie ecologiche, dagli alimenti (prodotti lattiero-caseari, il vino e alcuni vegetali fermentati) ad ambienti molto eterogenei quali il terreno ed il tratto gastrointestinale (Slattery *et al.*, 2010). Specie microbiche come *L. plantarum* e *L. salivarius*, sono definite multi-nicchia in quanto vantano sistemi di regolazione e di trasporto piuttosto elaborati, tali da consentire loro una notevole capacità di adattamento a svariati ambienti. Alcuni LAB come *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus* e *L. delbrueckii bulgaricus* hanno trovato un perfetto habitat in latte e nei prodotti caseari, disponendo di tutti i nutrienti essenziali per soddisfare il loro metabolismo proteico, glucidico e vitaminico, mentre altre specie, come *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. johnsonii*, trovano nel tratto intestinale condizioni ideali di attecchimento. Tuttavia, *L. helveticus*, pur non essendo un batterio intestinale, condivide il 98,4% di identità genetica con la specie *L. acidophilus* (Figura 2), confermando anche la presenza di proprietà biochimiche di interesse probiotico-funzionale. L'analisi genomica di *L. helveticus* ha dimostrato la presenza di geni specifici per l'adattamento intestinale, sebbene siano risultati non funzionali a causa di mutazioni non-senso, delezioni e altre tipologie di mutazioni. Un esempio è rappresentato dal gene *bile salt hydrolase* (*bsh*) che, studiato nel genoma sequenziato del ceppo *Lb. helveticus* DPC4571, ha evidenziato una mutazione frame-shift, ren-

dendolo inattivo. L'attività *bsh* è un requisito necessario per un batterio probiotico, per garantire la sopravvivenza del ceppo nel tratto gastrointestinale e la presenza di questo gene ancestrale in *L. helveticus* DPC4571 supporta l'ipotesi che *L. helveticus* abbia perso solo recentemente questa funzione (O'Sullivan *et al.*, 2009). Nondimeno, la notevole biodiversità dimostrata (Gatti *et al.*, 2004) e il ritrovamento di diversi geni conservati, simili ad altri lattobacilli propriamente intestinali (Slattery *et al.*, 2010), lascia spazio per l'esplorazione di biotipi con potenzialità probiotiche.

A parte il tratto intestinale, è stata dimostrata la capacità di alcuni ceppi di aderire anche su altri tessuti epiteliali.

Per esempio, *L. helveticus* KS300 è in grado di colonizzare l'ipofaringe, andando a contrastare efficacemente l'adesione di *Streptococcus pyogenes* (agente eziologico di numerose infezioni dell'orofaringe) così come il tratto uro-genitale, inibendo l'adesione di patogeni tipo *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *E. coli* uropatogenico e *Salmonella*

*Typhimurium* (Taverniti e Guglielmetti, 2012).

### Proprietà funzionali

L'utilizzo sicuro nel settore alimentare di *L. helveticus* è consentito in virtù del riconoscimento dello status GRAS (Generally Recognized as Safe) e QPS (Qualified Presumption of Safety), rilasciato dall'EFSA (European Food Safety Authority), dal momento che presenta una lunga storia di utilizzo senza effetti collaterali, risulta sensibile alla maggior parte degli antibiotici e non possiede geni di resistenza acquisita.

Diversi studi hanno dimostrato la capacità di numerosi ceppi di *L. helveticus* di esercitare un effetto antagonistico nei confronti di patogeni, potendo talvolta rappresentare una valida alternativa all'uso di antibiotici in caso di determinate infezioni (Vinderola *et al.*, 2007).

Le proprietà di difesa offerte da *L. helveticus* riguardano non soltanto la produzione di acidi organici, di perossido di idrogeno e altre sostanze antimicrobiche, ma possono anche stimolare il sistema immunitario dell'ospite anche a

livello sistemico (Rogers, 2002). Peraltro, è stato osservato che se viene somministrato un prodotto contenente solo i metaboliti prodotti dalla fermentazione svolta dai probiotici, definito come "post-biotico", l'effetto terapeutico diventa più sicuro ed efficace, specialmente nei casi di soggetti in fase di infezione acuta (Martínez-Augustín *et al.*, 2014).

Dal punto di vista nutraceutico, l'elevata attività proteolitica di *L. helveticus* è responsabile della produzione di peptidi bioattivi, che sono oggetto di ricerca per lo sviluppo di alimenti funzionali al miglioramento della salute umana. Infatti, bevande fermentate da *Lactobacillus helveticus* CP790 a base di latte, come lo scandinavo Evolus (prodotto dall'azienda finlandese Valio Ltd.) e il giapponese Calpis (prodotto da Calpis Co. Ltd., Tokyo), sono due esempi di alimenti funzionali contenenti tri-peptidi bioattivi (Val-Val-Pro e Ile-Pro-Pro) con effetti ACE-inibitori, capaci di contenere in modo significativo l'ipertensione arteriosa (Tidona *et al.*, 2009).

La somministrazione di latte fermentato da *L. helveticus* CM4 ha provato miglioramenti osservabili su dermatiti indotte in modelli murini (Baba *et al.*, 2010) mentre l'impiego di *L. helveticus* R0052 in associazione con *Bifidobacterium longum* R0175 ha consentito di ridurre i sintomi depressivi e un miglior recupero delle funzioni intestinali in topi a cui era stato indotto infarto al miocardio (Arseneault-Bréard *et al.*, 2012). Ceppi di *L. helveticus* hanno anche mostrato di ridurre la tossicità di molecole presenti in prodotti di origine animale, quali le ammine aromatiche eterocicliche (Stidl *et al.*, 2008) e di degradare la presenza di allergeni nella propoli, come per esempio gli esteri dell'acido caffeico e cinnamico (Gardana *et al.*, 2012).

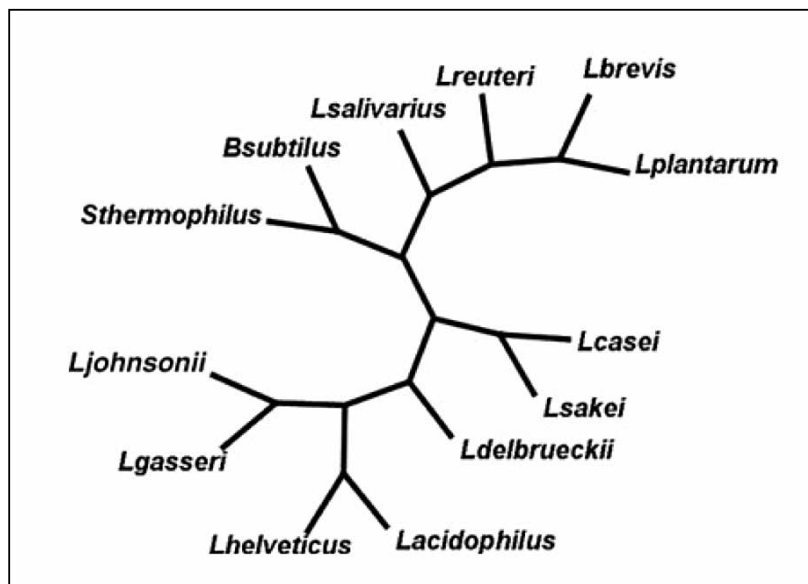


Fig. 2. Albero filogenetico di 10 specie di batteri lattici dei generi *Lactobacillus* (L), *Streptococcus* (S) e *Bacillus* (B), sulla base dell'analisi di 47 proteine ribosomiali. Fonte da: O'Sullivan *et al.*, 2009.

## Potenzialità e vincoli normativi

In passato, molti ceppi di batteri lattici sono stati definiti come probiotici, potendo esercitare il loro effetto benefico a favore di un maggior equilibrio della flora microbica intestinale, potenziando la popolazione di batteri considerati utili all'organismo (rilascio di enzimi coadiuvanti la digestione) o prevenendo l'adesione e la moltiplicazione di patogeni nella mucosa intestinale. In secondo luogo, il beneficio può essere indiretto, mediante l'arricchimento nel lume intestinale di metaboliti secondari aventi attività antimicrobica, immuno-modulatoria, antinfiammatoria o antipertensiva, derivanti sia da cellule vive che inattivate.

Se da un punto di vista farmaceutico i fermenti lattici a carattere probiotico continuano a essere un prodotto integrativo globalmente accettato, una inversione di tendenza ha invece colpito i prodotti alimentari contenenti probiotici, a seguito delle restrizioni imposte dalla Comunità Europea relativamente alle indicazioni nutrizionali e salutistiche poste in etichetta (Regolamento CE 1924/2006). Infatti, sull'uso del termine "probiotico" nei prodotti alimentari, l'EFSA si è recentemente espressa ritenendo che l'azione di un probiotico debba avere una concomitante diminuzione dei microrganismi potenzialmente patogeni (EFSA, 2009), oltre al soddisfacimento di tutti gli altri prerequisiti e la documentazione circa la capacità di colonizzazione a livello intestinale (Ministero della Salute, 2013). Inoltre, l'impiego di un nuovo ceppo microbico, sia pure appartenente a una specie già nota, richiede una nuova valutazione della sicurezza e dell'efficacia di colonizzare e, ai fini dell'accertamento della sicurezza, si ribadisce la necessità di escludere la presenza di resistenze acquisite o solo potenzialmente trasmissibili (Ministero della Salute, revisione marzo 2018). Dunque l'indicazione tradizionale di "prodotto probiotico" come riequilibrante della flora intestinale non viene più autorizzata nell'ambito del mercato europeo, a meno che il nesso tra il consumo del prodotto e i rivendicati benefici probiotici sia dimostrato su un numero elevato di volontari umani statisticamente significativo, secondo un approccio sperimentale rigoroso. Lo stesso dicasi per la possibilità di un prodotto alimentare di fregiarsi di una qualsiasi indicazione sulla salute, che deve soddisfare l'opinione di un gruppo di esperti dell'EFSA chiamati a valutare, caso per caso, tutti i requisiti scientifici e la documentazione necessaria a sostenere il "claim salutistico".

Tali sono le difficoltà con le quali oggi giorno le aziende alimentari si stanno scontrando. Nel tentativo di fare maggiore luce, vengono pubblicati sull'EFSA Journal esempi di aziende richiedenti l'approvazione in etichetta di un determinato beneficio per il proprio

prodotto che vengono valutati favorevolmente dal gruppo di esperti. L'articolo è utile per fornire una guida ad altri richiedenti interessati, mettendo in evidenza la fondatezza della relazione tra consumo del prodotto ed effetto esercitato. Allo stesso modo, vengono anche pubblicati esempi valutati negativamente per illustrare le carenze che hanno impedito di accettarne le richieste, sulla base delle dimostrazioni e dei documenti forniti (EFSA Panel 2014, 2015, 2016).

Inoltre, con il recepimento del Regolamento (UE) 2015/2283 si stabiliscono per esempio le norme per l'immissione di nuovi alimenti, assicurando la tutela della salute umana e riferimenti attendibili, aggiornati dai risultati della ricerca.



**SARANDREA**  
ORTO DEL CENTAURO  
*Colleparado dal 1918*

**INTEGRATORI ERBORISTICI  
e ALIMENTARI**

Piante officinali e fitoderivati - Antica Liquoreria

**GEMMOTERAPIA**  
(Meristemoterapia)

Il nuovo panorama  
nella tradizione italiana.

*La Meristemoterapia efficace, sicura di qualità;  
da generazioni all'avanguardia nella raccolta  
e lavorazione delle piante spontanee fresche.*

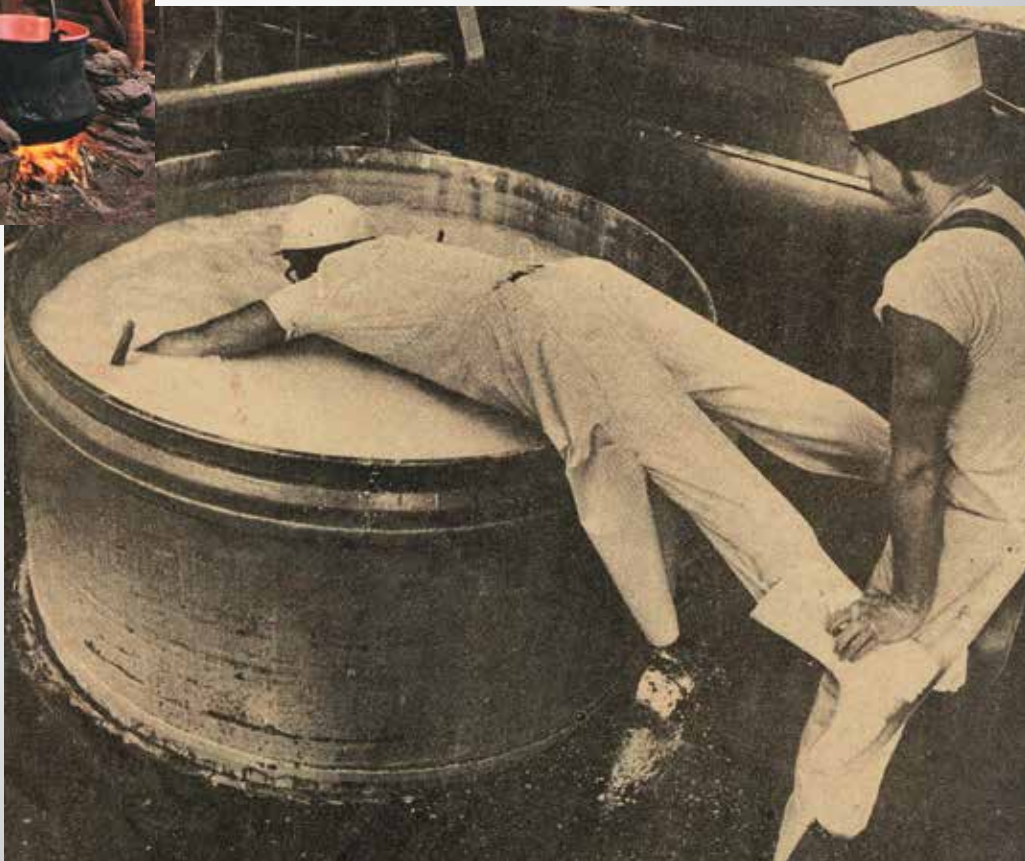
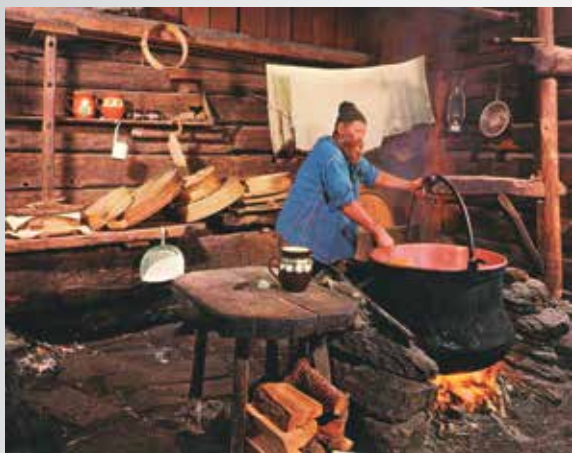
**100**  
1918  
2018

COLLEPARDO (FR) Via D'Alatri, 3/b  
Tel. 0775.47012 Fax 0775.47351  
farma@sarandrea.it www.sarandrea.it

**Hortus Hemicus**

Da 100 anni  
una storia naturale.

Una fase della lavorazione artigianale del formaggio svizzero



Una curiosa immagine della procedura di "immersione del formaggio", scattata a fine '800 in un'azienda di Green County, Wisconsin

## Considerazioni finali

Nel complesso panorama dei prodotti che, oltre a svolgere un ruolo nutrizionale, hanno anche un impatto salutistico, trovano largo spazio quelli caratterizzati da fermenti lattici virtuosi. *Lactobacillus helveticus* è una delle specie che sta maggiormente attirando l'attenzione di ricercatori e produttori, in virtù delle numerose potenzialità terapeutiche riportate in letteratura. Le evidenze scientifiche, però, dovranno sempre più documentare i reali benefici ottenibili da questa specie, soprattutto ampliando gli studi effettuati *in vivo*. Successivamente, se si intende veicolare un poten-

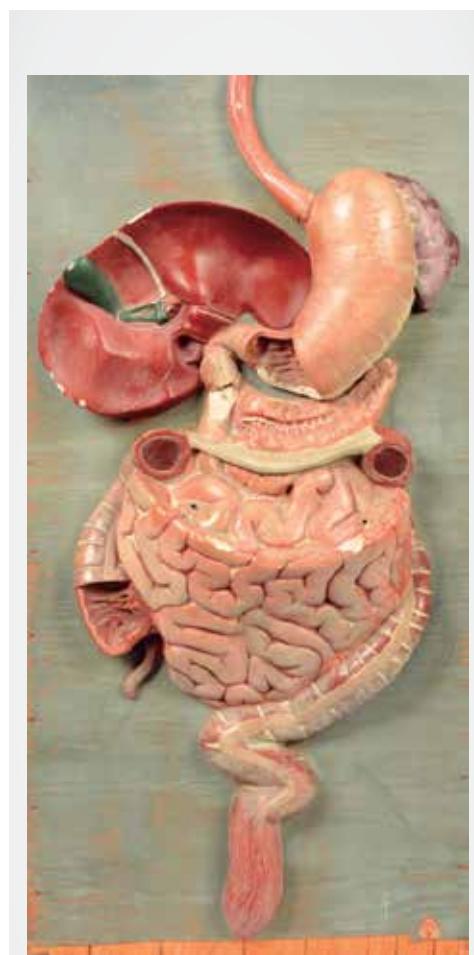
ziale beneficio di determinati ceppi di *L. helveticus* attraverso un prodotto alimentare, sarà necessario dimostrare l'effetto positivo anche dal consumo del prodotto "funzionalizzato". La tendenza restrizionista adottata dall'EFSA va nella direzione di offrire maggiori garanzie ai consumatori verso una scelta trasparente dei prodotti e con informazioni oggettive. Ciò va a limitare l'uso (talvolta abuso) di effetti benefici, terapeutici o preventivi promossi in etichetta da una miriade di prodotti esplosi nel mercato nel recente passato. D'altra parte, vi è ancora la necessità di conoscere le potenzialità offerte da determinati batteri lattici tra i

quali *L. helveticus*, che vanta una lunga storia in tecnologia casearia e sempre più evidenze di tratti a carattere probiotico. Le potenzialità che stanno emergendo, se dimostrate, meritano di offrire una valida alternativa nel mercato, con l'esigenza di colmare eventuali vuoti normativi.

**\*Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria  
Centro di ricerca Zootecnia  
e Acquacoltura (CREA-ZA) di Lodi**  
**\*\* UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PAVIA  
Dipartimento di Scienze del Farmaco**  
**\*\*\* UNIVERSITÀ DI MILANO-BICOCCA  
Dipartimento di Biotecnologie  
e Bioscienze**

## Bibliografia

- Arseneault-Bréard J., Rondeau I., Gilbert K., Girard S.A., Tompkins T.A., Godbout R., et al. (2012). Combination of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 reduces post-myocardial infarction depression symptoms and restores intestinal permeability in a rat model. *British Journal of Nutrition*, 107, 1793–1799.
- Baba H., Masuyama A., Yoshimura C., Aoyama Y., Takano T., Ohki K. (2010). Oral intake of *Lactobacillus helveticus* fermented milk whey decreased transepidermal water loss and prevented the onset of sodium dodecylsulfate induced dermatitis in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74, 18–23.
- EFSA Panel 2014. Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to “*Lactobacillus plantarum* TENSIA® in the semi-hard Edam-type “heart cheese” of Harmony™” and maintenance of normal blood pressure pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 12(10):3842
- EFSA Panel 2015. Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to SYN BIO®, a combination of *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501® and *Lactobacillus paracasei* IMC 502®, and maintenance of normal defecation pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 13(5):4095
- EFSA Panel (2016). Low-fat fermented milk with a combination of fructooligosaccharides and live *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *Streptococcus thermophilus* (Z57) and *Lactobacillus bulgaricus* (LB2), and defence against reactivation of *Herpes simplex* virus in the orolabial epithelia: evaluation of a health claim pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. doi: 10.2903/j.efs.2016.4538
- EFSA J. (2009), 7(9): 1232
- Gardana C., Barbieri A., Simonetti P., Guglielmetti S. (2012). Bio-transformation strategy to reduce allergens in propolis. *Applied Environmental Microbiology*, 78, 4654–4658
- Gatti M., Trivisano C., Fabrizi E., Neviani E., Gardini F. (2004). Biodiversity among *Lactobacillus helveticus* strains isolated from different natural whey starter cultures as revealed by classification trees. *Applied Environmental Microbiology*, 70(1): 182–190.
- Giraffa G., (2015). *Lactobacillus helveticus*: ruolo e applicazioni nel settore lattiero-caseario. *Il Latte - Tecniche Nuove*, 40(10): 36-39.
- Joerger M.C., Klaenhammer T. R. (1986). Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481, *Journal of Bacteriology*, 167 (2): 439-446.
- Martínez-Augustín O., Rivero-Gutiérrez B., Mascaraque C., Sánchez de Medina F., (2014). Food derived bioactive peptides and intestinal barrier function. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12): 22857–22873.
- Ministero della Salute, Linee guida su probiotici e prebiotici (Revisione maggio 2013)
- Ministero della Salute, Linee guida su probiotici e prebiotici (Revisione marzo 2018)
- Moineau S, Levesque C. (2005). Control of bacteriophages in industrial fermentations, p 285–296 In Kutter E, Sulakvelidze A, editors. (ed), *Bacteriophages: biology and applications*. CRC Press, Boca Raton, FL
- O’Sullivan O., O’Callaghan J., Sangrador-Vegas A., McAuliffe O., Slattery L., Kaleta P., Callanan M., Fitzgerald G. F., Ross R. P., Beresford T. (2009). Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a niche-specific gene set. *BMC Microbiology*, 9: 50
- Rogers T.R. (2002). Antifungal drug resistance: does it matter? *International Journal of Infect Diseases*, 6: 47–53.
- Slattery L., O’Callaghan J., Fitzgerald G.F., Beresford T., Ross R.P. (2010). Invited review: *Lactobacillus helveticus* - a thermophilic dairy starter related to gut bacteria. *Journal of Dairy Science* 93(10):4435-4454
- Taverniti V., Guglielmetti S., (2012). Review article: Health-promoting properties of *Lactobacillus helveticus*. *Frontiers in Microbiology* 3(392): 1-13
- Tidona F., Criscione A., Guastella A.M., Zuccaro A., Bordonaro S., Marletta D., (2009). Bioactive peptides in dairy products. *Italian Journal of Animal Science*, 8, 315-340.
- Vinderola G., Matar C., Perdígón, G. (2007). Milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 and its non-bacterial fraction confer enhanced protection against *Salmonella enteritidis* serovar Typhimurium infection in mice. *Immunobiology* 212, 107–118
- Zago M., Rossetti L., Reinheimer J., Carminati D., Giraffa G. (2008). Detection and identification of *Lactobacillus helveticus* bacteriophages by PCR. *Journal of Dairy Research*, 75:196–201
- Zago M., Scaltriti E., Rossetti L., Guffanti A., Armiento A., Fornasari M.E., Grolli S., Carminati D., Brini E., Pavan P., Felsani A., D’Urzo A., Moles A., Claude J.B., Grandori R., Ramoni R., Giraffa G. (2013). Characterization of the Genome of the Dairy *Lactobacillus helveticus* Bacteriophage ΦAQ113. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(15): 4712–4718



**Pannello didattico raffigurante il sistema digestivo realizzato in gesso e cartapesta policromi e montato su pannello di legno verticale grigio. Manifattura tedesca della fine del XIX secolo.**