

# IL BIOFILM

**Il biofilm nell'Industria Alimentare:  
fattori d'insorgenza, gestione  
e prevenzione delle emergenze**



**JohnsonDiversey**  
Clean is just the beginning



## 1

## Introduzione

## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

*I batteri in natura e negli ospiti animali sono spesso attaccati a delle superfici; il microscopio elettronico ha rivelato che le superfici umide in natura sono quasi universalmente coperte da pellicole biologiche. Queste pellicole polimeriche e viscosi secrete dagli stessi batteri avvolgono le cellule medesime e poiché contengono spesso un polisaccaride sono state chiamate "glicocalice".*

*L'adesione batterica è stata riconosciuta come una componente importante di parecchi processi infettivi; alcune lesioni e/o infezioni sostenute da batteri sviluppano pellicole biologiche costituite da microrganismi che periodicamente si liberano in circolo fino ad avere il sopravvento sulle difese dell'ospite.*

*Il glicocalice di fatto rallenta la crescita batterica, protegge contro i fagociti, inibisce la penetrazione degli anticorpi e dei farmaci antimicrobici*

*Tutto ciò succede nell'organismo ma anche i biofilm che si sviluppano sulle superfici rappresentano una sicura protezione dei microrganismi verso i detergenti e i disinfettanti e comunque sono di ostacolo ai processi di sanificazione.*

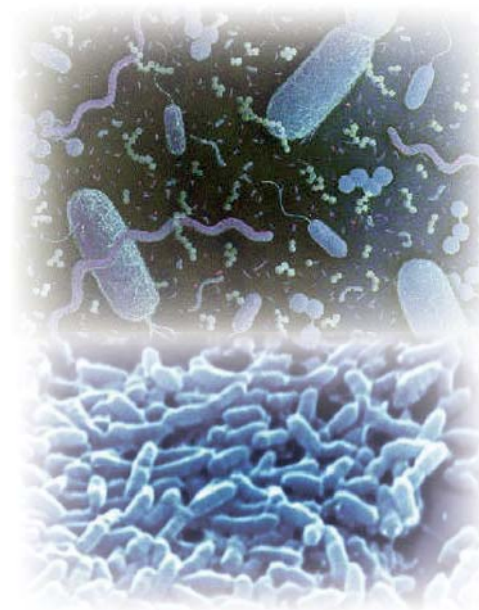
*Lo sviluppo di biofilm può avvenire su quasi tutti i tipi di superficie e la sua formazione è un processo che si verifica in tappe successive.*

*Aderire ad una superficie è, per i microrganismi, una situazione favorevole; infatti sulle superfici che sono state a contatto con gli alimenti, le molecole organiche e inorganiche si concentrano, formando un film con elevata presenza di nutrienti, che vengono rapidamente assimilati.*

*Una volta adese, le cellule microbiche iniziano a degradare i nutrienti ed a produrre strutture e molecole che favoriscono la loro moltiplicazione.*

*Il risultato è una rete tridimensionale, formata da materiali organici e non. Osservazioni al microscopio hanno permesso di definire un modello in cui da un "letto di polisaccaridi" aderente alla superficie, si sollevano delle colonie batteriche a loro volta immerse in strutture polimeriche a forma di cono o di fungo.*

*Nello spazio fra queste strutture (una sorta di canali) fluiscono i nutrienti, l'ossigeno e tutte le sostanze necessarie al metabolismo microbico.*



## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

# 2

## Biofilm microbici

Con il termine *biofilm* viene indicata una matrice biologicamente attiva, formata da cellule microbiche e da sostanze extracellulari che aderiscono ad una superficie solida. I microrganismi si depositano sulle superfici e, utilizzando i residui organici presenti, si sviluppano e si moltiplicano formando colonie.

L'adesione dei batteri causa numerosi problemi alle industrie alimentari e non, diminuendo l'efficienza operativa delle attrezzature.

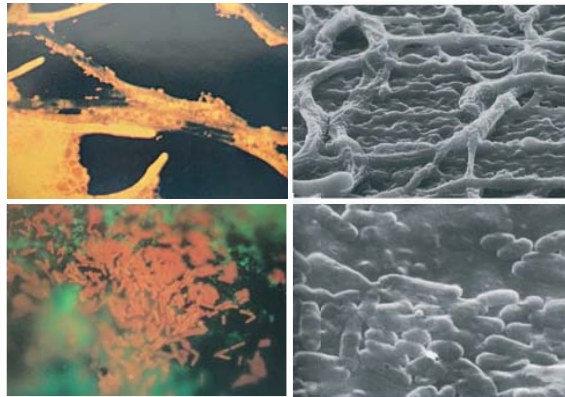
Oltre a danneggiare gli impianti, i biofilm possono costituire un pericolo per la salute, se i microrganismi coinvolti sono patogeni e vengono cedute cellule ai prodotti alimentari a contatto con le superfici contaminate.

La superficie di contatto è importante nel favorire la ritenzione dei batteri: i più comuni materiali utilizzati nell'impiantistica alimentare (vetro, acciaio inox, polipropilene,



gomma, alluminio, teflon, nylon,...)

possono comunque, nonostante le apparenze, presentare irregolarità che risultano protettive per le cellule e per lo stesso biofilm.



Numerosi microrganismi sono in grado di formare biofilm su tali materiali, in modo particolare quando sono presenti fessurazioni in cui le cellule

possono insinuarsi e sopravvivere alle operazioni di sanificazione.

Tali fessurazioni trattengono oltretutto anche piccoli residui di materiale organico che insieme all'acqua favorisce lo sviluppo microbico e contribuisce allo sviluppo del biofilm.

La formazione di un biofilm è un processo complesso che può iniziare con l'adesione anche di una singola cellula e ciò avviene anche in tempi brevi, a seconda dell'ambiente circostante, della superficie e della specie microbica.

L'adesione alle superfici si realizza fondamentalmente in due fasi: una reversibile seguita da una irreversibile. Lo stadio preliminare della formazione del biofilm è rappresentato dal contatto dei microrganismi con le superfici; è un processo fisico-chimico tra le molecole presenti sulle cellule microbiche e quelle del materiale che le circonda.

Una volta che le cellule sono a contatto, intervengono specifiche interazioni che provocano una adesione irreversibile, grazie anche alla produzione da parte del microrganismo di polimeri glicoproteici. Il materiale glico-proteico va considerato a tutti gli effetti una contaminazione organica da rimuovere e quindi il biofilm formato da microrganismi va 'trattato dal punto di vista della detergenza e non solo della disinfezione.



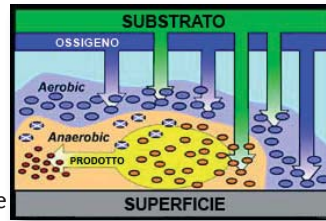


3

## Resistenza dei batteri nei biofilm

**Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze**

Le cellule batteriche che colonizzano una superficie all'interno di un biofilm mostrano una maggior resistenza a sostanze antimicrobiche rispetto alle cellule libere. Il fenomeno viene attribuito sia alla minor velocità di diffusione dei biocidi attraverso la matrice del biofilm, sia al fatto che le cellule ricevono meno ossigeno e nutrienti rispetto a quelle libere; ne deriva una minor velocità di crescita, ma anche minore sensibilità ad antibiotici e disinfettanti. Si deve inoltre considerare che la struttura



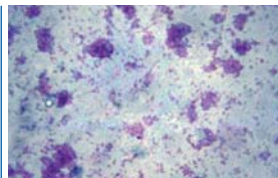
polimerica in cui si trovano immersi i batteri presenta particolari resistenze anche ai normali detergenti che spesso non riescono a penetrare all'interno del biofilm.

Questo spiega come è possibile in alcuni casi rilevare conte batteriche elevate anche in presenza di dosaggi importanti di disinfettante; il disinfettante potrebbe essere sufficiente ad eliminare le cellule in soluzione ma non quelle protette all'interno delle strutture glicoproteiche.

4

## Microrganismi produttori di biofilm

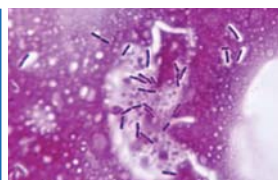
A tutt'oggi sono stati evidenziati biofilm appartenenti alle seguenti specie batteriche ed in particolare:



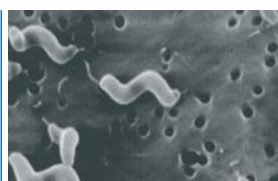
*Escherichia coli*



*Yersinia enterocolitica*



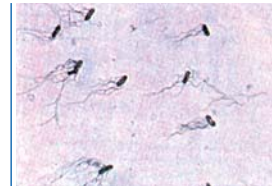
*Lactobacillus spp*



*Campylobacter jejuni*



*Pseudomonas spp*



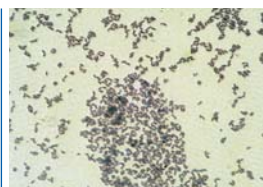
*Salmonella spp*



*Staphylococcus spp*



*Clostridium bacillus spp*



*Listeria monocytogenes*

Questi microrganismi, dotati di strutture specializzate per aderire alle superfici, possono, in condizioni favorevoli di pH, temperatura e umidità delle superfici medesime, legarsi alla superficie di contatto.

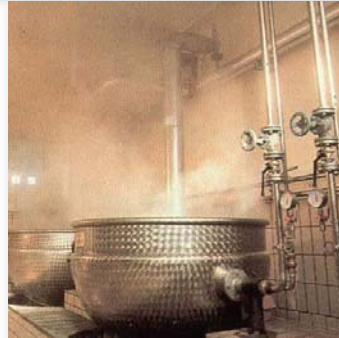
La composizione dei biofilm può essere eterogenea, in seguito alla colonizzazione da parte di differenti microrganismi con diverse esigenze nutrizionali. Le interazioni tra le varie popolazioni microbiche hanno poi notevole influenza sulla struttura successiva. I biofilm formati da microrganismi diversi sono più resistenti rispetto a quelli monospecie, poiché i polisaccaridi prodotti da batteri differenti conferiscono maggiore stabilità al biofilm medesimo.

## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

### 5 Fattori che favoriscono la formazione dei biofilm

I fattori che favoriscono la formazione dei biofilm sono sicuramente di natura differente e comunque sono molteplici; tra questi possiamo annoverare:

- *Natura, stato e finitura delle superfici*
- *Condizioni chimico-fisiche dell'ambiente e delle superfici (idoneità di pH, temperatura, umidità, ...)*
- *Presenza di sostanza organica*
- *Spiccata capacità adesive delle specie microbiche coinvolte*
- *Mancanza o carenza di sanificazioni e lavaggi nel tempo*
- *Difficile accessibilità delle superfici (zone d'ombra, superfici cave, zone di condensa, parti di impianti poco accessibili, ...)*
- *Assenza di lavaggi in alta temperatura*
- *Zone non bagnabili da soluzioni detergenti e disinfettanti*
- *Mancata rimozione di contaminazioni su superfici umide.*



Queste condizioni nel tempo favoriscono la formazione dei biofilm che in alcuni casi possono anche diventare macroscopici e, come tale, ben visibili. Se le condizioni sopradescritte persistono nel tempo è molto probabile che il biofilm in un ambiente che non sia asettico si formi.

Dobbiamo quindi pensare che in uno stabilimento di produzione degli alimenti in cui si possano manifestare le condizioni sopramenzionate sia verosimilmente possibile che il biofilm possa svilupparsi e contaminare le superfici ed i prodotti. Solo così si spiegano le analisi microbiche di prodotti e superfici che



## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

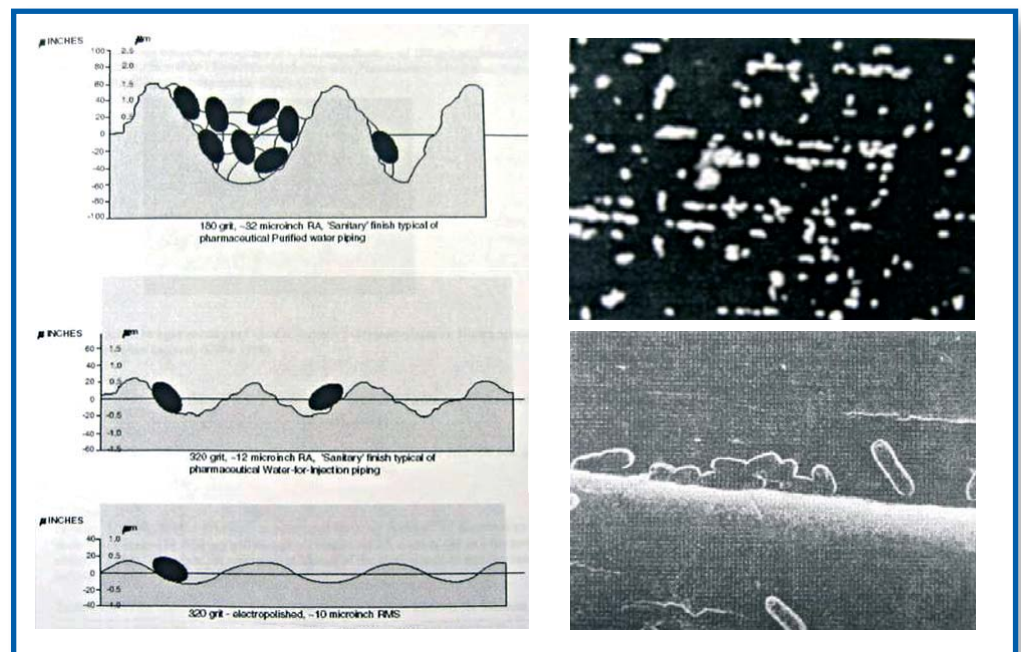
## 5 Fattori che favoriscono la formazione dei biofilm

periodicamente attestano gravi ma sporadiche contaminazioni; i biofilm infatti liberano, in funzione degli stress che subiscono, cellule anche patogene in gran numero che difficilmente possono essere controllate dai normali processi di sanificazione.

Per quanto attiene alle caratteristiche superficiali dobbiamo ricordare che una superficie liscia rispetto ad una rugosa

può comunque solo rallentare lo sviluppo della fase iniziale del biofilm; una volta sviluppato il primo "germe" la velocità di crescita delle colonie non evidenzia differenze significative.

La rappresentazione schematica di quanto succede sulle superfici a differente rugosità è riportata nel diagramma di seguito riportato.



Le condizioni ambientali in cui può svilupparsi un biofilm sono differenti; biofilm sono riscontrabili in condizioni statiche (ad esempio in un tank di stoccaggio) ma anche in condizioni dinamiche come all'interno di una tubazione in cui passa acqua ad elevata velocità. E' evidente che in questo caso la turbolenza in alcune zone può essere anche molto bassa (stato laminare) e, non essere sufficiente ad evitare che i microrganismi si attacchino alla parete dando così il via al processo di formazione del biofilm.



## 6

## La sanificazione e i biofilm

## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

La vera concausa che determina lo sviluppo dei biofilm sulle superfici aperte è la non corretta sanificazione; residui alimentari non rimossi correttamente in ambienti sufficientemente umidi rappresentano il miglior habitat possibile per i microrganismi.

Se questa condizione si verifica su superfici particolarmente favorevoli in ambienti produttivi che selezionano specie già predisposte il "gioco è fatto". Anche all'interno di impianti (tanks e tubazioni) la non corretta sanificazione può determinare quelle condizioni che favoriscono lo sviluppo dei biofilm;

spesso le soluzioni nei lavaggi C.I.P. non raggiungono tutti i punti e tutta la superficie (spray ball intasate, dislocate male, ...) con la medesima pressione e, come tale, queste zone ben si prestano a fungere da "germe" per l'instaurarsi del biofilm.

L'altra condizione che favorisce lo sviluppo è sicuramente il tempo. Possiamo quindi affermare che una non corretta sanificazione di impianti, ambienti e attrezzature nel tempo favorisce in condizioni particolari di umidità lo sviluppo dei biofilm.

### 6.1 I SETTORI E GLI AMBIENTI PIU' INTERESSATI

Se la mancanza di acqua e in generale di umidità può essere considerato il fattore limitante allo sviluppo del biofilm sulle superfici è evidente che gli ambienti ad elevata umidità e gli alimenti con elevato tenore di acqua libera sono invece fattori favorevoli; per questo i settori produttivi più a rischio sono i seguenti:

- **Imbottigliamento di acque minerali (opere di captazione, serbatoi di stoccaggio, tubazioni, lavabottiglie, impianti di lubrificazione, ...)**
- **Imbottigliamento di soft drink, latte, altri liquidi alimentari**
- **Macellazione e lavorazione delle carni (superfici di teflon, zone di condensa, zone d'ombra, ...)**
- **Lavorazione del pesce**
- **Gastronomie industriali**
- **Pasta all'uovo e ripiena**
- **Lavorazione di vegetali freschi e conservati**
- **Produzione formaggi freschi e stagionati**
- **Cucine e ambienti adiacenti alle lavorazioni di alimenti**



Sono invece praticamente quasi immuni dal problema i settori privi di umidità ambientale dove si producono alimenti praticamente privi di acqua libera quali i prodotti da forno, prodotti da ricorrenza, dolciario, panificazione, ....

Anche se poi le aziende appartenenti a tali settori hanno locali di lavaggio che possono comunque favorire lo sviluppo di biofilm perché ricchi di umidità.



## 6

## La sanificazione e i biofilm

## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

### 6.2 GESTIONE DELLE EMERGENZE

Qualora si sospetti una contaminazione da biofilm su superfici e ambienti produttivi occorre gestire la sanificazione come una vera e propria emergenza; ciò significa che non è sufficiente ripristinare e verificare le corrette procedure e la loro attuazione bensì occorre rimuovere il biofilm tramite l'utilizzo di specifici prodotti a forte alcalinità (che non sempre sono compatibili con la natura delle superfici) o altre specialità detergenti ad elevato contatto con le contaminazioni e conseguentemente disinfettare utilizzando elevate concentrazioni di attivo igienizzante.

Tutto ciò si rende indispensabile perché la rimozione del biofilm comporta sostanzialmente l'asportazione di sostanza organica particolarmente adesa a delle superfici e, oltre a ciò, determina la "liberazione" di elevate cariche microbiche spesso patogene che devono necessariamente essere distrutte.

Tali procedure devono essere attuate sia che si operi su superfici aperte sia che si operi su superfici chiuse quali tubazioni, serbatoi, impianti chiusi, ...

L'utilizzo di elevate temperature di lavaggio e risciacquo aiuta a contenere

le concentrazioni di prodotti chimici così come la forza meccanica impressa alle lance o la velocità dei flussi e la loro portata favorisce l'asportazione del materiale organico.

Anche l'utilizzo di energetici ossidanti quali il cloro ed il perossido nel processo di detergenza sono di valido ausilio per la rimozione ed il distacco dei biofilm sia che siano installati su superfici aperte che siano presenti su superfici chiuse.

**ENDURO  
POWER**  
*The Power of Performance and Efficiency*

Le schiume a strato sottile (Linea Enduro) sono i detergenti più indicati per la rimozione dei biofilm sulle superfici in quanto consentono tempi di contatto che favoriscono la penetrazione dei principi attivi sui biofilm o sulle contaminazioni più di qualsiasi altra soluzione detergente. Anche per le superfici chiuse occorre utilizzare prodotti fortemente alcalini ad azione detergente e sequestrante che favoriscano l'asportazione del biofilm.







## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

# 6

## La sanificazione e i biofilm

Le procedure sottoriportate si riferiscono sia a superfici aperte che a superfici chiuse ed in particolare:

Applicazione	Prodotto	Metodologia	Conc. d'uso	Note
<b>SUPERFICI APERTE (detersione)</b> 	<b>Enduro Chlor VE5</b> <b>Enduro Super VE3</b> additivato con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rimuovere perfettamente i residui con lancia</li> <li>• Erogare la soluzione detergente</li> <li>• Se necessario frizionare sui punti più delicati</li> <li>• Attendere almeno 20 minuti</li> <li>• Risciacquare correttamente</li> </ul>	5%	I prodotti della Linea Enduro garantiscono tempi di contatto più elevati e di conseguenza performance superiori rispetto a qualsiasi schiuma
<b>SUPERFICI APERTE (disinfezione)</b>	<b>Tegodor</b> (Reg. Min. San. n. 12525) Miscela di aldeidi glutariche e quaternari d'ammonio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nebulizzare sulle superfici facendo attenzione a coprirle interamente di soluzione</li> </ul>	2 - 3%	Non rimuovere il disinfettante per l'intera nottata. Tegodor presenta attività virucida, sporicida oltreché naturalmente battericida
<b>SUPERFICI CHIUSE (detersione per circolazione)</b> 	<b>Britestar VC12</b> <b>Quattro Plus VC74</b> o altro detergente fortemente alcalino, tensiattivato e sequestrato da additivare con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <b>Voldar VC98</b> <b>DivoPerox VB70</b> additivato con NaOH	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Effettuare un prerisciacquo abbondante</li> <li>• Eseguire un passaggio con soluzione alcalina ad alta concentrazione (se possibile in alta temperatura)</li> <li>• Risciacquo finale</li> </ul>	2 - 3%	Prodotti ad alta causticità che, se associati ad acqua ossigenata, favoriscono la rimozione dei biofilm. Voldar VC98 è un prodotto completo in polvere (perborato). DivoPerox VB70 è un additivo alla soda con attività ossidante, sequestrante ed antischiumogena
<b>SUPERFICI CHIUSE (disinfezione)</b>	<b>Divosan Plus VT53</b> (Reg. Min. San. n. 19001)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Circolare soluzioni o meglio riempire ed effettuare la disinfezione per invasamento (tempi di almeno 30 minuti)</li> </ul>	0,8 - 1%	Non rimuovere il disinfettante per l'intera nottata. Tegodor presenta attività virucida, sporicida oltreché naturalmente battericida

## 6

## La sanificazione e i biofilm

## Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze

In alcuni casi, se la durezza dell'acqua lo richiede, è opportuno rimuovere le incrostazioni inorganiche con specifiche soluzioni acide dopo il passaggio alcalino; tutto ciò viene effettuato per limitare la possibilità ai microrganismi di "ancorarsi" utilizzando i cristalli dei sali precipitati. La disinfezione ha il ruolo fondamentale di eliminare tutti i microrganismi presenti compresi quelli liberati dalla rimozione/distruzione del biofilm. Generalmente i principi disinfettanti utilizzabili all'occorrenza si dividono in due grandi categorie:

- *quelli a risciacquabilità completa quali gli ossidanti (alogeni, perossidi, aldeidi, ...)*
- *quelli ad effetto residuale quali i derivati con carica azotata (quaternari, poliammine, anfoteri, ...)*

Il primo gruppo oltre ad avere uno spettro d'azione completo è sicuramente in grado di aiutare in modo diretto la detergenza per quanto concerne la rimozione dei biofilm e, come tale, è stato inserito nelle procedure per la gestione delle emergenze.

Il secondo gruppo è invece adatto per la gestione della sanificazione delle superfici aperte in condizioni di normalità operativa.

### 6.3 SISTEMI DI PREVENZIONE

La miglior prevenzione possibile si esegue verificando le procedure di sanificazione con particolare attenzione alle frequenze che condizionano pesantemente la possibile formazione di biofilm; è importante inoltre verificare l'attuazione della fase relativa alla disinfezione che spesso, perché poco visibile, è trascurata o effettuata velocemente.

Di fondamentale importanza è la verifica delle zone d'ombra cioè quelle zone non immediatamente sotto il controllo dei nostri occhi; ciò può riguardare

parti di impianto C.I.P o superfici aperte banalmente nascoste o poco accessibili. Negli impianti chiusi occorre verificare che la soluzione lavante "bagni" completamente ogni superficie e che i flussi siano corretti sia come turbolenza che come velocità; per i serbatoi è necessario che le spray-ball siano posizionate correttamente e "coprano" l'intera superficie interna.

Per quanto attiene alle superfici aperte è necessario che gli operatori siano "correttamente sensibilizzati" circa la pulizia, il lavaggio e la disinfezione delle superfici non immediatamente sotto il controllo dei propri occhi (sotto i tavoli ed i macchinari, negli interstizi, dietro alle superfici fisse, ...).

Occorre inoltre eliminare qualsiasi ristagno di acqua su superfici non autodrenanti.

In alcuni casi l'utilizzo di specifici prodotti ad azione antibatterica (quali i lubrificanti specifici come il Dicolube MBK) evitano l'instaurarsi di biofilm all'interno di aree o zone altrimenti predisposte (ugelli degli impianti di lubrificazione).

E' evidente quindi che la qualità e la consapevolezza delle persone predisposte al lavoro di sanificazione insieme all'utilizzo di prodotti idonei rappresentano i fattori principali per prevenire l'insorgenza dei biofilm e garantire la sicurezza dei prodotti alimentari.





## 7

## Conclusione

**Il biofilm nell'Industria Alimentare: fattori d'insorgenza, gestione e prevenzione delle emergenze**

In sostanza quanto sopradescritto può così sintetizzarsi:

- *il miglior modo di “curare” l'insorgenza dei biofilm è la prevenzione che va attuata mediante corrette e regolari procedure di sanificazione;*
- *la rimozione dei biofilm non può essere attuata solo con la disinfezione bensì con una vera e propria azione detergente volta ad asportare e distruggere la struttura glicoproteica e, solo successivamente, completata*

*attraverso una forte azione disinfettante. Tale procedura non deve necessariamente essere effettuata allo scopo di eliminare il biofilm ma può anche essere effettuata periodicamente (1 o 2 volte all'anno) allo scopo di prevenirne l'insorgenza;*

- *la procedura non è standardizzabile ma va adattata alle “condizioni” locali e impiantistiche (parametri di lavaggio, prodotti, condizioni operative, tipologia di superficie, ...).*

