

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

**Linee guida
per affrontare e risolvere
le problematiche relative
alle contaminazioni
nell'ambito delle produzioni
alimentari**



1

Introduzione

Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

Chi sovrintende alla gestione tecnica di un impianto di distribuzione dell'acqua o di un impianto di imbottigliamento non può non aver avuto contatti,



direttamente o attraverso informazioni di colleghi, con questo particolare microorganismo il più frequentemente implicato in fenomeni di inquinamento biologico degli impianti e soprattutto il più difficile da affrontare e debellare. Cercheremo quindi di spiegare le difficoltà di eradicazione delle contaminazioni da



Pseudomonas Aeruginosa attraverso la ricostruzione, quanto più possibile accurata, dell'ecosistema specifico e l'esposizione delle peculiari caratteristiche metaboliche, nutrizionali e genetiche; tenendo conto di questi aspetti saranno proposti anche gli orientamenti più congrui per la prevenzione del fenomeno e le strategie più opportune per tentare l'eradicazione dell'infezione.

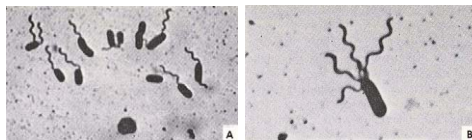


Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

2

Morfologia e distribuzione

Le pseudomonadacee sono microorganismi bastoncellari gram negativi mobili che possiedono flagelli polari; sono aerobi



Specie di Pseudomonas (A x 2000 e B x 4000) che presentano la caratteristica flagellazione polare

obbligati e metabolizzano gli zuccheri secondo il ciclo di Entner-doudoroff anziché per glicolisi; pur essendo la forma più frequente quella bastoncellare si possono anche avere forme più coccoidi, cioè simili a piccole sfere oppure forme ameboidi con contorno irregolare e addirittura forme curve, a forma di virgola, come i vibriani. Questi aspetti non sono peculiari di specie diverse ma possono appartenere a ceppi diversi della stessa specie o addirittura ad individui diversi dello stesso ceppo.

Anche la presenza di strutture accessorie della cellula appare variabile tra specie e specie: praticamente sono sempre presenti mesosomi, pili e flagelli; la loro numerosità varia però specificamente nelle diverse specie e permette di aiutare nella identificazione tassonomica.

Pseudomonas aeruginosa è una specie batterica appartenente al genere delle pseudomonadacee e tra queste ricopre senza dubbio il ruolo di specie più significativa, sia sotto il profilo clinico ed epidemiologico che sotto il profilo tecnologico e industriale.

Allo stesso genere appartengono anche altre specie, il più delle volte del tutto influenti sulla sfera umana (tecnologica e clinica) tranne qualche caso di rare malattie come la melioidosi e la morva.

Pseudomonas aeruginosa in particolare si trova quasi sempre associata ad ambienti umidi ma talvolta è anche presente nella microflora normale dell'intestino e della cute. In ospedale fonti importanti di infezione sono i lavandini, le apparecchiature per anestesia o rianimazione, gli umidificatori, ...



La capacità di utilizzare molecole organiche semplici come sorgente di carbonio e di energia favorisce la moltiplicazione di questi microorganismi anche in soluzioni che, altrimenti, sarebbero incapaci di sostenere una crescita batterica come per esempio i blandi antisettici, le soluzioni saline ed anche i saponi.



Linee guida per affrontare e risolvere le problematiche relative alle contaminazioni nell'ambito delle produzioni alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

3

Aspetti ecologici

Pseudomonas aeruginosa è il tipico microorganismo che si seleziona in ambienti umidi quali i circuiti idrici che partono dalle sorgenti o dai pozzi ed arrivano sino all'imbottigliamento delle acque minerali e comunque in tutti i circuiti idrici siano essi destinati alla potabilizzazione oppure ai processi industriali.

Il fatto ormai ampiamente dimostrato che

Pseudomonas aeruginosa sia capace di vivere e moltiplicarsi in soluzioni generalmente poco favorevoli

alla crescita ed allo sviluppo batterico come saponi e soluzioni igienizzanti dimostra che questo microorganismo vive e prolifica anche in habitat di per sé "sanitizzati".

E' del tutto probabile infatti trovare *Pseudomonas aeruginosa* all'interno dei circuiti di lubrificazione delle nastrovie nel settore dell'imbottigliamento anche se i principi attivi utilizzati per la lubrificazione contengono antisettici e spesso i fenomeni degradativi all'interno degli ugelli di distribuzione con conseguente occlusione dei medesimi è responsabilità del loro metabolismo.



Le *Pseudomonas* aerobie sono batteri di notevole significanza ecologica: infatti in natura contribuiscono in misura determinante al processo di mineralizzazione della matrice organica e questo ruolo è confermato



anche dalla estesissima diffusione sul suolo e nelle acque.

Il metabolismo strettamente ossidativo di tutte le specie rende conto della virtuale assenza del genere in ecosistemi dai quali risulta escluso l'ossigeno come ad esempio le acque profonde, la profondità del suolo, il tratto digerente degli animali.

Ciò significa che i batteri del genere *Pseudomonas* non possono moltiplicarsi in ambienti privi di

ossigeno ma nulla esclude che però possano sopravvivere anche a lungo in tali ambienti tenuto conto delle eccezionali caratteristiche di resistenza di talune specie.

In particolare la presenza di Pseudomonas aeruginosa nell'acqua di una sorgente, una volta esclusi fenomeni di inquinamento dovuti alla captazione, è da ritenere un fenomeno transitorio, legato alla sopravvivenza nell'ambiente di cellule finitevi occasionalmente in stazioni anche estremamente lontane.

Condizione fondamentale per la sopravvivenza di *Pseudomonas aeruginosa* in ambienti anossici è la concomitante presenza di umidità; l'acqua è infatti il fattore fondamentale per il mantenimento dello stato di vitalità.

Studi recenti hanno dimostrato che, rispetto ad altri batteri, *Pseudomonas aeruginosa* mostra maggior sensibilità alla disidratazione, ma contemporaneamente hanno evidenziato che basta la presenza di tracce ridotte di umidità all'interno di aggregati di particelle di polvere per una sopravvivenza anche di mesi.

Tutto ciò dimostra che le vie di propagazione dell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa* corrono generalmente in parallelo con l'acqua, ma che non si può escludere la contaminazione di un impianto per via "aerogena".

Linee guida per affrontare e risolvere le problematiche relative alle contaminazioni nell'ambito delle produzioni alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

4 Natura della resistenza agli antibatterici

Non viene qui trattato, perché non pertinente, il problema della resistenza di *Pseudomonas aeruginosa* agli specifici antibiotici, problema riservato alla pratica biomedica. Le modalità secondo le quali tali resistenze si sviluppano ci aiutano comunque a capire meglio altri fenomeni importanti in microbiologia industriale. Esistono tre vie mediante le quali i batteri possono difendersi dall'attacco di molecole chimiche altrimenti battericide e, in ognuna di queste modalità, *Pseudomonas aeruginosa* mostra una eccezionale specializzazione.

ESCLUSIONE

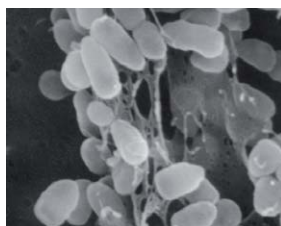
Si realizza praticamente mediante l'elaborazione da parte del batterio di una protezione fisica impenetrabile dalla molecola battericida.

Pseudomonas aeruginosa, insieme a poche altre specie batteriche, è geneticamente in grado di elaborare un tipo di difesa come questo tramite la fabbricazione di un glicocalice (biofilm). Molti bacilli sono circondati da uno strato mucoso di esopolisaccaride o glicocalice che favorisce

l'adesione fra le varie cellule formando microcolonie (biofilm) capaci di autoprotettersi

dai fagociti e comunque dall'azione degli anticorpi.

Questi biofilm possono formarsi anche sulle superfici interne/esterne delle lavabottiglie o sulle superfici interne di tanks e impianti di riempimento;



la presenza sporadica di cellule di *Pseudomonas aeruginosa* nelle acque potrebbe anche essere dovuta a parziali rotture del biofilm dovute all'utilizzo di detergenti e disinfettanti che liberano cellule singole.

Anche per questo l'aliquota di campione (acqua minerale) destinata all'analisi della *Pseudomonas* deve essere rigorosamente superiore alle aliquote previste per la carica batterica.

La rimozione dei biofilm dalle superfici richiede trattamenti chimici particolarmente spinti sia per l'eradicazione che per la successiva sanificazione; potete richiedere la monografia specifica

“Il biofilm nell'industria alimentare” se volete avere maggiori informazioni su come eradicare il fenomeno oppure leggere questa monografia sino alla fine.



DEGRADAZIONE

Attività metabolica specifica di taluni batteri in grado di elaborare enzimi o altri composti che vengono secreti nelle adiacenze della cellula o assumono all'interno del microorganismo una posizione di copertura chimica degli organi bersaglio; esempio classico è la produzione di blattamasi, enzima in grado di rompere l'anello blattamico caratteristico di antibiotici della classe delle cefalosporine e delle penicilline. Le *Pseudomonas aeruginose* produttrici di tale enzima risultano quindi resistenti all'azione di detti antibiotici.



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

4 Natura della resistenza agli antibatterici

VARIAZIONE STEREOCHIMICHE DEGLI ORGANI BERSAGLIO

E' una modalità efficace quando l'azione della molecola antibatterica si esplica in maniera ultraspecifica nei confronti di una sola struttura o substrato cellulare. Tale attività, caratteristica di certi antibiotici, viene vanificata appunto con la variazione o addirittura la sottrazione o copertura del bersaglio. Questa modalità di difesa può essere "acquisita" da un ceppo di batteri e l'apprendimento relativo, opportunamente codificato, può essere trasmesso per via genetica ad altri ceppi della stessa specie o addirittura a specie e generi diversi.

In microbiologia industriale gli ultimi due casi rivestono scarso significato, vista la possibilità di usare per gli impianti di distribuzione dell'acqua, disinfettanti

molto più potenti degli antibiotici e a concentrazioni anche



estremamente alte (differenti da quelle utilizzabili in vivo).

Infatti mentre le caratteristiche delle terapie in vivo devono sempre confrontarsi con la possibilità di effetti collaterali anche tossici, i trattamenti sugli impianti sono limitati solo "dalle caratteristiche fisiche dei materiali".

Le normali concentrazioni in uso dei sanificanti industriali posseggono generalmente una dirompente azione fisica sulle cellule batteriche, denaturandone le proteine o addirittura frantumandole fisicamente. Le conoscenze delle modalità di resistenza batterica servono a spiegare perché sia assolutamente da evitare l'uso di sanificanti a concentrazioni ridotte rispetto a quelle

consigliate: in tali condizioni l'effetto sulle cellule può risentire dell'insorgenza di resistenze batteriche, in particolare per i microrganismi che, come Pseudomonas aeruginosa, sono particolarmente versati in queste prestazioni.

Particolarmente interessante è la spiegazione di come certi ceppi di Pseudomonas aeruginosa abbiano sviluppato una specifica enorme resistenza ai composti di ammonio quaternario; questo fenomeno, oggi conosciuto diffusamente, è stato portato

anni fa alla ribalta da una serie di epidemie di infezioni in pazienti che avevano usato prodotti (colliri, creme, ...)

in quali era stato usato come conservante del benzalconio cloruro; si trovò addirittura che era inquinata pesantemente anche la soluzione madre concentrata dell'additivo antibatterico.

Ricerche al microscopio elettronico hanno dimostrato che in presenza di tale disinfettante le cellule di Pseudomonas aeruginosa mostrano un completo sovvertimento della natura, della disposizione e delle dimensioni relative di tutte le strutture cellulari, a cominciare dalla parete, per finire con i mitocondri, zolle di cromatina, membrana cellulare e citoplasma. Per spiegare questo fenomeno con una immagine intelleggibile anche a un profano, è come se un gatto, per proteggersi da sopravvenuti eventi esterni, potesse trasformarsi nelle generazioni successive in tartaruga.



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

5 Possibili interazioni microorganismi - sistema complesso

Ricordiamo brevemente le tre tipiche modalità di interazione tra microorganismo e organismo ospite sia esso costituito da un organismo vivente superiore come l'uomo oppure sia costituito da un sistema inanimato ma complesso come un impianto industriale.

CONTAMINAZIONE

I microorganismi entrano nell'impianto o tramite la sorgente o tramite qualsiasi soluzione di continuo, lo percorrono ma non contraggono alcun rapporto stabile con le superfici interne; arrestato l'ingresso dei batteri, l'impianto si autodepura mediante semplice risciacquo e asportazione meccanica.

Tipico esempio di questo possibile evento è l'ingresso di coliformi dalla sorgente: finché l'impianto viene alimentato con acqua inquinata avremo batteri anche nell'imbottigliato; venuto meno il fenomeno di inquinamento, dopo un periodo più o meno lungo di latenza, il prodotto finito risulterà puro, anche in assenza di particolari interventi sull'impianto (a livello umano eventi analoghi si verificano con l'ingestione di microorganismi con gli alimenti o l'inalazione con l'aria: nella stragrande maggioranza dei casi questi batteri vengono metabolizzati o eliminati senza possibilità che si instaurino rapporti duraturi con l'organismo).



INFEZIONE

I microorganismi entrati nell'impianto trovano in qualche stazione o qualche struttura le condizioni per instaurare un rapporto duraturo; si fermano, si ancorano, prendono a moltiplicarsi fino a formare colonizzazioni più o meno estese. L'impianto non è in grado di autodepurarsi: anche venendo meno "la fornitura" di batteri, non assistiamo alla loro scomparsa nel prodotto finito.

Le ragioni per cui si instaura una situazione di questo tipo possono essere molteplici; per semplicità ci limitiamo a segnalare le più importanti:



1 Fattori legati al microorganismo:

attitudine ad assumere forme sessili, oligotrofia, autotrofia, carica batterica, presenza di elementi di virulenza (spora, capsula, ...)

2 Fattori legati all'impianto:

sedimenti, concrezioni, scarsa pulizia, ristagni, frequenti soluzioni di continuo, eccessive variazioni di velocità e

pressione in parti diverse e adiacenti

3 Fattori legati all'acqua:

salinità, temperatura, pH, gas disciolti, tracce di sostanze organiche, ...

Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

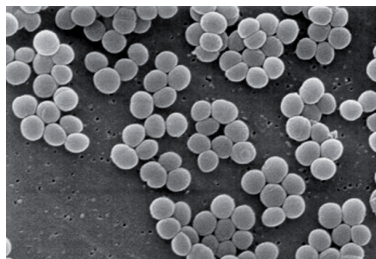
5

Possibili interazioni microorganismi - sistema complesso

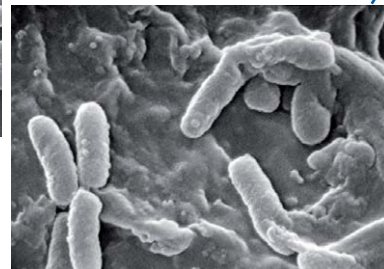
Esempio tipico per gli impianti di imbottigliamento è la infezione da *Stafylococcus aureus* e soprattutto da *Pseudomonas aeruginosa* specie

ambidue oligotrofe o addirittura autotrofe ed inoltre in grado di assumere forme sessili.

Da notare che l'infezione di un impianto non necessariamente determina un vero e proprio danno fisico, anche se evidentemente la presenza di batteri nell'imbottigliato costituisce un inconveniente serio (in umano possiamo fare paragoni con la condizione di portatore sano e con le infezioni saprofitiche di intestino, cute e mucosa nelle quali miliardi di batteri, pur moltiplicandosi attivamente a questi livelli, non provocano inconvenienti).



Stafylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa

ALTERAZIONE

I microrganismi entrati nell'impianto determinano la colonizzazione di alcuni distretti e da questo fenomeno deriva un qualche danneggiamento delle strutture; come esempio si può citare la infezione da ferrobatteri e conseguenti danneggiamenti di parti metalliche non inossidabili come calate in ferro, camiciature pure in ferro di pozzi, pompe e altre strutture (in umano l'esempio classico è la infezione da microrganismi patogeni cioè la malattia infettiva).



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

6

Interazioni specifiche tra *Pseudomonas aeruginosa* e uomo

Analizziamo di seguito le possibilità di interazione tra microrganismi del genere *Pseudomonas aeruginosa* e l'uomo (patogenicità).

CONTAMINAZIONE

La possibilità di contaminazione con batteri del genere *Pseudomonas* sono altissime, vista la capillare diffusione di tali microrganismi nell'ambiente. Sono quindi possibili "incontri" sia di tipo alimentare, per toccamento di superfici e perfino per via aerogena. Questa sostanziale immersione dell'uomo in un ambiente diffusamente "pseudomonizzato" è dimostrata tra l'altro dalla frequenza di possibili isolamenti da cute e mucose visibili; in pratica tutte le volte che tocchiamo un oggetto si realizza la concreta possibilità di trasferire su di esso uno o più microrganismi del genere *Pseudomonas* presenti sulle nostre mani.



INFEZIONE

Il fenomeno infezione senza malattia è abbastanza raro in umano per i batteri del genere *Pseudomonas*, mentre al contrario, assume notevole importanza se l'ospite è un impianto industriale. Ciononostante una ridotta percentuale di individui (0,8%) risultano portatori sani, a livello del digerente, di infezioni da *Pseudomonas* (è possibile però che non si tratti di una vera e propria infezione, vista la ridotta attitudine a moltiplicarsi in condizioni di anaerobiosi).

MALATTIE

Svariate forme morbose (infezioni accompagnate da alterazioni dell'omeostasi o danneggiamento fisico dei tessuti) possono essere fatte risalire a *Pseudomonas*. In primo luogo segnaliamo due entità nosologiche specifiche e specificamente associate a specie del genere *Pseudomonas*: tali malattie sono la melioidosi, dovuta a *Pseudomonas pseudomallei* e la morva, dovuta a *Pseudomonas mallei*.

La melioidosi è una malattia tipica delle popolazioni che abitano le zone tropicali (o le frequentano, ad esempio gli americani nel Vietnam) dovuta all'infezione di piccole ferite con acqua inquinata dal microrganismo.

Le manifestazioni cliniche possono avere carattere acuto, con setticemia e lesioni suppurative disseminate, cronico, con lesioni escavative polmonari e subacuto, caratterizzato da lesioni cavarie degli organi interni e con la specifica caratteristica di un esordio clinico soggettivo anche di molti anni successivo al contatto.

I reduci dal Vietnam sono tuttora categoria a rischio per questa forma morbosa.

La morva è una zoonosi abbastanza rara, ma presente anche alle nostre latitudini, tipica del cavallo ma che può agevolmente trasferirsi anche all'uomo, naturalmente in soggetti in qualche modo a contatto con i cavalli. La forma clinica più frequente è una infezione bronco polmonare

caratterizzata da infiltrati nodulari o forme asessuali.



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

6 Interazioni specifiche tra Pseudomonas aeruginosa e uomo

Le entità nosologiche sopradescritte sono comunque eventi improbabili; al contrario le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* risultano estremamente più frequenti anche se difficilmente individuabili in una precisa forma morbosa. Questo batterio infatti esplica la sua attività patogena infettando e alterando specificamente vari parenchimi e sistemi, come di seguito elencato:

1 Batteriemie e sepsi:

la frequenza di tali eventi è in aumento geometrico a causa dell'incremento numerico dei soggetti rischio (tossicodipendenza, deficit immunologici, terapie immunosoppressive,...).



Focolai di partenza possono essere nell'ordine: apparato urogenitale,



sostanze per via parenterale, vie respiratorie, dispositivi endovascolari terapeutici e diagnostici, protesi, infezioni cutanee. Le sepsi da *Pseudomonas aeruginosa* sono di regola forme molto gravi, spesso mortali sia per il difficile approccio terapeutico che per la generale compromissione dei pazienti.

2 Cellulite:

Infiammazione diffusiva di cute e tessuti molli che ha punto di partenza in lesioni, anche piccole, infettate primariamente o secondariamente da *Pseudomonas aeruginosa*. Esiste una forma specifica (Hot tub

fulliculitis) tipicamente associata all'uso ricreativo o terapeutico di idromassaggi o bagni caldi contaminati.

3 Otite esterna:

forma frequente nella forma lieve, più rara in quella maligna con possibilità di diffusione alle strutture adiacenti compresi osso ed encefalo.



4 Endocardite:

tipica dei tossicodipendenti ma anche associata a transitorie batteriemie, risulta difficilmente trattabile con terapie antimicrobiche; consigliata la terapia chirurgica (valvulectomia).

5 Ferite ed ustioni:



Pseudomonas aeruginosa è il più frequente contaminante di tali lesioni con problemi

terapeutici per antibioticoresistenza, difficoltà di raggiungimento del sito di infezione e condizioni spesso compromesse dei malati.

6 Sistema urogenitale:

frequentemente implicato nelle cistiti semplici e nelle infezioni croniche renali (pielonefrite con esiti in insufficienza renale).

7 Sistema respiratorio:

di regola *Pseudomonas aeruginosa* non è patogeno a questo livello per individui sani; ciò nonostante si dimostra un buon tropismo per il tessuto polmonare in individui compromessi.



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

6

Interazioni specifiche tra *Pseudomonas aeruginosa* e uomo

Sicuramente la stragrande maggioranza delle polmoniti terminali è dovuta a questo microrganismo e ciò vuol dire decine di migliaia di decessi all'anno in Italia.

Gli individui a rischio sono i malati di tumore, i cardiopatici scompensati gravi, i comi, i leucemici, tutti i pazienti in rianimazione, gli immunodepressi gravi compresi gli AIDS.

8 *Infezioni oculari:*

può essere causa di congiuntivite necrotizzante, soprattutto come superinfezione di lesioni o di forme già presenti di natura virale. N.B. Frequente l'infezione da uso di lenti a contatto o soluzione salina contaminate.



9 *Osteomieliti:*

generalmente secondaria a traumi aperti o transitorie batteriemie.

10 *Sistema nervoso centrale:*

rari casi di meningiti dovute a traumi o a errori in procedimenti diagnostici (cateterismi, ...); più frequenti forme ascessuali soprattutto della base (per contiguità o per diffusione ematogena).

Spesso comunque e fortunatamente l'isolamento di Pseudomonas non è legato allo sviluppo di alcuna malattia; lo stato clinico del paziente è fondamentale per valutare il significato clinico di un isolamento. Pseudomonas aeruginosa comunque è tuttavia responsabile (come abbiamo visto) di alcune fra le più gravi infezioni che possono colpire individui immunocompromessi. Questo bacillo presenta una resistenza eccezionalmente elevata a molti antibiotici e per questo nella terapia occorre prevedere

l'uso di prodotti ad ampio spettro d'azione in grado di sopprimere la concorrenza della restante popolazione batterica.

Anche per questo si considera Pseudomonas aeruginosa uno dei

principali agenti delle infezioni ospedaliere. Pseudomonas aeruginosa causa solo raramente malattie in soggetti sani ma può comportarsi da patogeno grave in pazienti affetti da deficienze immunitarie o da neoplasie. Il bacillo "piociano" è considerato un patogeno opportunisto particolarmente nelle strutture ospedaliere: sono soggetti a rischio



di infezione i malati affetti da tumori, ustioni gravi, immunodepressione (AIDS), oppure sottoposti a pratiche diagnostiche favorevoli all'infezione come cateterismi o intubazioni. Su questi e altri pazienti Pseudomonas aeruginosa provoca frequentemente infezioni dal caratteristico pus verde delle ferite del tratto urinario, delle prime vie respiratorie, setticemie, meningiti. Queste ferite sono difficilmente trattabili con una terapia antibiotica data la straordinaria immunoresistenza dimostrata dal bacillo piociano.

Sono attualmente efficaci solo alcuni antibiotici come la gentamicina, tobramicina e l'amikacina. Un ruolo importante per l'adesione e la colonizzazione lo esercitano le "fimbrie" organi presenti nella maggior parte delle Pseudomonas.

Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

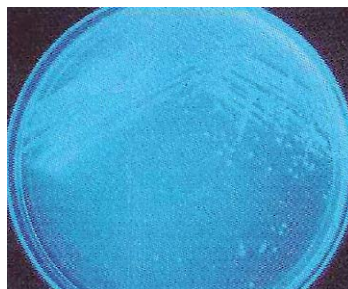
PSEUDOMONAS AERUGINOSA

7

Identificazione

Pseudomonas aeruginosa si moltiplica facilmente sulla maggior parte dei terreni arricchiti impiegati per l'isolamento primario dei batteri aerobi ove forma colonie lisce, a margini irregolari, che si diffondono nel terreno.

Come altri membri del sottogruppo dei batteri fluorescenti produce un pigmento di colore giallo verdastro



Colonie di Pseudomonas aeruginosa

detto fluorescina oltre ad un secondo pigmento non fluorescente di colore blu detto piocianina. Questi pigmenti contribuiscono alla identificazione del microrganismo.

La capacità di svilupparsi a 42°C permette di

distinguere la *Pseudomonas aeruginosa* dagli altri *Pseudomonas* fluorescenti.

8

Rapporti specifici microorganismo-impianto

CONTAMINAZIONE

Tale evento caratterizzato, come già detto, dalla transitoria presenza nell'impianto di Pseudomonas aeruginosa, che peraltro non arriva a contrarre stabili rapporti, è un evento probabilmente poco frequente, ma che certamente si è realizzato o si realizzerà nell'arco della vita di un sistema di distribuzione/riempimento di acqua.



Le ragioni per cui dimostriamo tanta profetica sicurezza sono svariate: in primo luogo la già accennata estrema diffusione del microrganismo nell'ambiente e soprattutto nell'ambiente umido, come è in effetti da considerare uno stabilimento di acque minerali; in secondo luogo perché ogni accesso di operatori che determini contatto fisico con superfici

interne (per manutenzione, riparazioni, sanificazioni, ispezioni,...) è da considerare a rischio per la frequenza di portatori sani cutanei e/o mucosi; in terzo luogo infine per la dimostrata possibilità che il microrganismo arrivi proprio dalla sorgente, in dipendenza di fenomeni occasionali o eccezionali sempre però a concentrazioni estremamente basse cioè 1 o 2 U.F.C. per metro cubo o anche meno (le ragioni e le modalità con cui questa specifica ipotesi si realizza sono spiegate in altra parte della trattazione). Dato per scontato che prima o poi avvenga l'ingresso del microrganismo nell'impianto, conviene elaborare una strategia di base per ottenere che almeno si realizzi l'ipotesi di una semplice contaminazione, senza lo stabilirsi di rapporti duraturi che potrebbero aggravare la situazione; una vera e propria infezione dell'impianto infatti determinerebbe la fissazione di organismi coloniali complessi dai quali poi verrebbero eluite, in misura più o meno evidente, cellule in forma planctonica.

L'unico provvedimento strategico, per fortuna notevolmente efficace, per debellare il fenomeno nella sua forma lieve è

Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

8

Rapporti specifici microorganismo-impianto

la programmazione e la realizzazione di sanificazioni specificamente destinate allo scopo; tali trattamenti dovrebbero essere progettati in modo da entrare nei programmi di normale routine circa gli accorgimenti di prevenzione igienica.



quindi anche di efficacia nelle caratteristiche di resistenza) in relazione alla specifica composizione in subunità.

Lo slime risulta infatti costituito da due zone:

- la prima costituita da “envelopes” glicoproteici disposti a strati come foglie di cipolla sulle

superfici delle cellule

- la seconda è costituita da capsule di natura fibrosa e spessore variabile.

Lo spessore totale dello slime di una sola cellula può raggiungere anche i 5-10 micron; si immagini quindi il livello di protezione fisico di una colonia anche solo costituita da 100 strati di batteri.

Non tutti i ceppi delle specie batteriche incriminate effettivamente posseggono questa caratteristica, anzi sono piuttosto rari almeno nell'ambiente naturale cioè in mancanza di stimoli selettivi come la diffusa presenza di antibiotici o disinfettanti. La protezione offerta dallo slime oltre ad essere di natura fisica risulta anche essere di natura chemioelettrica vista la forte componente anionica superficiale che tende ad allontanare le sostanze idrosolubili come quasi tutti i disinfettanti.

Si comprende quindi come alla base di tutti i tentativi terapeutici (sia in vivo che anche su struttura inanimata) ci siano in primo luogo provvedimenti atti ad attaccare e smontare il glicocalice e solo in una seconda istanza trattamenti a base di antibiotici o disinfettanti. Se in vivo si opera con difficoltà le possibilità di intervento su un impianto inanimato sono senza dubbio dotate di maggior possibilità di successo. E' sempre difficile stabilire con certezza se la presenza di *Pseudomonas aeruginosa* nel prodotto finito sia da attribuire davvero ad una infezione dell'impianto da forme sessili o debba essere fatta risalire ad altre cause; oltre a questo è difficile individuare con precisione la sede o le sedi del fenomeno, essendo questo spesso incostante e caratterizzato da cariche microbiche bassissime.

INFEZIONE

Tale evento, caratterizzato dall'insorgenza di stabili rapporti di interazione tra microrganismi del genere Pseudomonas e superfici interne dell'impianto è il naturale sfocio del già descritto fenomeno di contaminazione qualora questo fenomeno non sia stato prontamente affrontato oppure nel caso che particolari caratteristiche costruttive o strutturali dell'impianto ne abbiano favorito l'insorgenza.

Nel determinismo di questo fenomeno risultano fondamentali due punti fermi: il primo è la presenza, all'interno dell'impianto, di cellule viventi di Pseudomonas aeruginosa, a sua volta dovuta alle ragioni sopraesposte, il secondo è la formazione di colonizzazioni sessili, cioè strutture “abitative” di microrganismi fortemente adese alle superfici e in grado di aggredirle: tali strutture sono chiamate “slime” o “glicocalice” o più genericamente “biofilm”.

Non tutti i microrganismi sono capaci di creare tali strutture con capacità straordinarie di sopravvivenza; fra questi sicuramente *Pseudomonas* e *Stafilococchi* sono sicuramente i più significativi in ambiente industriale.

Chimicamente lo slime è una matrice glicopeptidica extracellulare; questa matrice altamente viscosa, può assumere gradi diversi di consistenza e di spessore (e



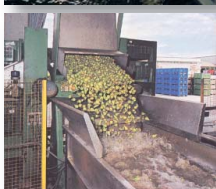
Linee guida per affrontare e risolvere le problematiche relative alle contaminazioni nell'ambito delle produzioni alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

9

Modalità di controllo di *Pseudomonas aeruginosa*

Il controllo di questo microrganismo viene effettuato obbligatoriamente nell'imbottigliamento delle acque minerali, nelle acque destinate a terapie termali, nelle acque destinate alla potabilizzazione, nel lavaggio di alimenti o comunque in processi che possono contaminare direttamente o indirettamente alimenti o farmaci. Le possibilità di eradicare lo slime dalle superfici e conseguentemente le *Pseudomonas aeruginosa* dal prodotto finale sono le seguenti:



1 - CALORE

Sono evidenti le potenzialità di questo mezzo fisico; infatti il calore può propagarsi per contiguità anche a strutture non interessate direttamente dal flusso di scorrimento del C.I.P. Anche lo spessore dello slime può agevolmente essere superato e l'attività antibatterica potrà esercitarsi sulle zone e sulle cellule che in altre condizioni risultano protette.

Difficilmente però le aziende coinvolte nella problematica possono utilizzare il calore dalla captazione all'imbottigliamento e come tale il problema, se non si è più che sicuri di aver scoperto le zone di insorgenza dello slime, non può generalmente essere risolto solo con il calore. Oltre a ciò



si deve tener presente che il calore può provocare possibili alterazioni di elementi dell'impianto termosensibili quali gli organi cavi come i silos ed i serbatoi durante il raffreddamento (depressione con possibile implosione dei serbatoi).

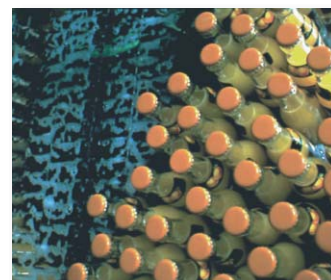
2 - DETERSIONE

Questo è il trattamento di elezione per eradicare lo slime visto che occorre in primis rimuovere il materiale organico di cui è costituito lo slime e solo dopo effettuare una vera e propria disinfezione; come già detto le cellule batteriche sono protette dal glicocalice che offre una copertura sia fisica che elettrochimica e, come tale, in qualche caso anche concentrazioni elevatissime di cloro libero (1200 ppm) non sono in grado di eradicare il fenomeno.

Occorre quindi aggredire e "smontare lo slime" con adeguati

detergenti a forte alcalinità, forte attività sequestrante e forte azione tensioattiva al fine di liberare le singole cellule che saranno poi disattivate dal disinfettante.

Eventuali fallimenti possono essere imputabili alla presenza di slime in zone al di fuori della portata e del flusso del C.I.P. o a lavaggi in alcune zone senza la necessaria portata o velocità di flusso soprattutto in strutture terminali raggiunte dal trattamento in maniera insoddisfacente. Altri problemi possono nascere da valvole, saracinesche, by-pass, parti della riempitrice che possono assumere posizioni diverse e quindi essere interessate dal flusso dell'acqua e non dal C.I.P. o viceversa. Infine occorre accertare che il lavaggio C.I.P. venga fatto nelle stesse condizioni di portata, velocità di flusso e pressione rispetto al normale flusso di acqua; le variazioni di pressione possono deformare



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

9

Modalità di controllo di *Pseudomonas aeruginosa*

le guarnizioni e determinare la copertura/scopertura di alcune parti che possono essere infettate da batteri in seguito esposte all'acqua ma non al flusso del C.I.P.

Quando l'acqua è particolarmente dura, tendendo a rilasciare incrostazioni o sedimenti inorganici, è opportuno utilizzare prodotti disincrostanti acidi dopo il passaggio alcalino.

Comunque durante i trattamenti di deterzione è opportuno escludere eventuali trattamenti di filtrazione al fine di prevenire eventuali intasamenti. Qualora si sospetti la presenza di biofilm ed anche per prevenirne la formazione su superfici aperte o su parti relativamente esterne della lavabottiglie occorre favorire la loro rimozione con interventi giornalieri a base di detergenti alcalini a lungo contatto (schiume a strato sottile) meglio se additivati a perossido d'idrogeno.

La disinfezione successiva verrà effettuata mediante prodotti a largo spettro d'azione e con concentrazioni almeno doppie rispetto alle condizioni di normalità.

Nei circuiti di lubrificazione dei nastri di trasporto invece le *Pseudomonas* se presenti si selezionano e sono responsabili, con il loro metabolismo, dell'occlusione degli ugelli di distribuzione del lubrificante.

A questo proposito JohnsonDiversey dispone di un prodotto lubrificante "brevettato" che,

essendo fortemente attivo su tali tipologie di microrganismi, evita l'intasamento degli ugelli garantendo di fatto la sanificabilità della linea (Dicolube MBK VL78).

Altri prodotti a base di ammine, a differenza di quest'ultimo, consentono al microrganismo di adattarsi e conseguentemente vivere all'interno di queste soluzioni anche se "sanificanti"; il prodotto di questo metabolismo all'interno degli ugelli è quella "pappetta" che impedisce la normale fuoriuscita della soluzione lubrificante e che costringe la manutenzione a intervenire di frequente con la smontaggio e la pulizia degli ugelli.

3 - DISINFEZIONE CHIMICA

Soltanto dopo essersi accertati di aver deterso in modo adeguato e rimosso la parte organica dello slime mediante risciacquo accurato è possibile eseguire l'operazione di disinfezione finale del circuito idrico. Generalmente si consiglia l'utilizzo di concentrazioni adeguate di ossidanti (prodotti a base di acido peracetico o percritrico, clorattivi ad alta concentrazione,...) perché gli altri principi disinfettanti non danno le necessarie garanzie di attività su questo microrganismo; ovviamente occorre accertarsi che i materiali di cui sono costituiti gli impianti siano resistenti e compatibili con i prodotti ossidanti consigliati.



Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari



9

Modalità di controllo di Pseudomonas aeruginosa

4 - DISINFEZIONE ATTRAVERSO

LAMPADE U.V.

Un aiuto importante nel controllo della Pseudomonas aeruginosa soprattutto durante la fase di possibile contaminazione (passaggio di cellule nell'impianto senza instaurare relazioni durature con esso) può essere ricercato attraverso l'installazione di apposite lampade U.V. sulle tubazioni delle acque tecnologiche (imbottigliamento acque minerali) e più in generale sulle tubazioni delle acque destinate ai vari processi all'interno delle industrie alimentari.

La disinfezione/debatterizzazione attraverso gli impianti U.V. viene spesso effettuata quando, anche a valle di altri trattamenti, si desidera ottenere un'acqua perfettamente sterile, dal gusto inalterato o comunque priva di sottoprodotti nocivi (alogenoderivati); è ovviamente vietato trattare l'acqua destinata all'imbottigliamento, ma è possibile ed auspicabile trattare tutte le altre acque di natura tecnologica che possono andare in contatto diretto (acqua di diluizione) o indiretto (lavaggio, ...) con il prodotto alimentare preparato.

E ormai ampiamente dimostrato che la frazione UV-C (200-280 nm) della radiazione ultravioletta ha elevato potere germicida; tale frazione viene usata nei processi di trattamento e debatterizzazione delle acque destinate ai processi tecnologici ed alla potabilizzazione.

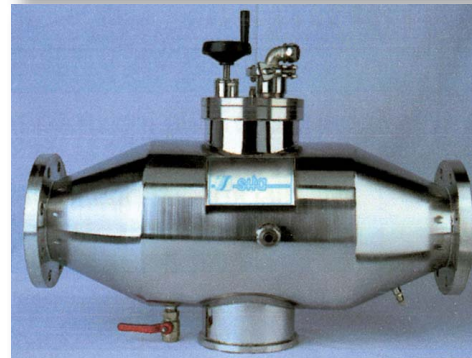
La radiazione U.V. induce danni agli acidi nucleici (DNA o RNA) dei microrganismi; tale alterazione impedisce la replicazione degli agenti patogeni (batteri e virus).

Ogni microrganismo viene inattivato con la giusta dose di esposizione agli U.V.

La assorbanza del DNA della carica batterica ha un massimo picco in prossimità di 254 nm; artificialmente i raggi U.V. si producono con l'ausilio di speciali lampade a fluorescenza contenenti vapori di mercurio.

L'attività fotochimica non si limita alla sola attività germicida bensì alla totale demolizione della frazione organica contenuta nell'acqua (ovviamente per poter esplicare questa funzione occorrono

lampade adeguatamente dimensionate in funzione della frazione organica contenuta nell'acqua da trattare).



I vantaggi nell'utilizzo degli U.V. si possono riassumere nei seguenti:

- assenza di problemi sul prodotto (acqua/alimento trattato con acqua)
- assenza di sottoprodotti di disinfezione (allo scarico/nel prodotto)
- gusto inalterato (acqua/ prodotto alimentare trattato)
- assenza di rischi dovuti al sovradosaggio
- facilità e semplicità di installazione con ridotte manutenzioni
- azione veloce (bassissimi tempi di esposizione)
- compatibilità con altre tecnologie (filtrazione, addolcimento, clorazione, ...)
- economicità (basso consumo di energia elettrica).

Per dimensionare correttamente un trattamento di debatterizzazione U.V. occorre prendere in considerazione i seguenti parametri ed in particolare:

1 - portata del fluido

2 - temperatura del fluido

3 - trasmittanza del fluido



4 - presenza di solidi sospesi.

Linee guida
per affrontare
e risolvere le
problematiche
relative alle
contaminazioni
nell'ambito
delle
produzioni
alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

9 Modalità di controllo di Pseudomonas aeruginosa

Le procedure descritte in precedenza possono così essere riassunte:

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

Linee guida per affrontare e risolvere le problematiche relative alle contaminazioni nell'ambito delle produzioni alimentari

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

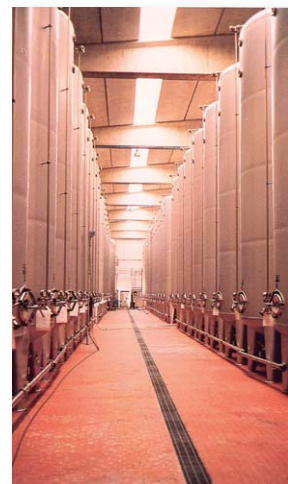
10 Sistemi di prevenzione e consigli pratici

Il miglior metodo per evitare spiacevoli infezioni, tenendo conto che è virtualmente impossibile evitare il contatto o l'entrata della *Pseudomonas Aeruginosa* all'interno degli impianti di imbottigliamento o comunque nei circuiti di acqua tecnologica anche di altre produzioni alimentari è sicuramente quello di prevenire l'attecchimento e agire anche sui tempi di questa possibile eventualità; per questo è opportuno:

- *sanificare frequentemente alle giuste concentrazioni e con i giusti principi attivi non rinunciando periodicamente a detergere energicamente tutti gli impianti (serbatoi, riempitrice, ...)*
- *sanificare anche le parti che non sono sotto il controllo diretto del C.I.P. o che il C.I.P. potrebbe sanificare solo parzialmente (valvole, saracinesche, zone terminali, ...)*
- *sanificare anche le superfici aperte che potrebbero per sgocciolamento o altra causa contaminare le bottiglie e di conseguenza l'acqua imbottigliata (uscita della lava-bottiglie, ...)*
- *sanificare comunque con frequenza giornaliera anche i nastri e le linee di imbottigliamento*
- *proteggere la zona/e in cui il prodotto potrebbe contaminarsi perché la bottiglia è ancora aperta (condensa, sgocciolamento, ...)*
- *pulire e sanificare gli ugelli di distribuzione del lubrificante o utilizzare prodotti specifici che impediscono la proliferazione batterica e le conseguenti precipitazioni (Dicolube MBK VL78)*



- *sanificare frequentemente le zone di captazione e proteggerle adeguatamente per evitare la formazione dello slime in tali zone*
- *pulire, svuotare e sanificare con frequenza il più possibile elevata il tanks di stoccaggio delle acque destinate ad essere imbottigliate*
- *verificare la possibilità di installare un trattamento U.V. sulle acque tecnologiche/di lavaggio per scongiurare un possibile inquinamento proveniente da queste utenze*
- *cambiare progressivamente quelle parti/materiali d'impianto dalla captazione all'imbottigliamento che potrebbero favorire l'insediamento dello slime (biofilm)*
- *formare e sensibilizzare il personale di sanificazione sulla pericolosità dell'eradicazione della Pseudomonas aeruginosa*



- *memorizzare gli episodi negativi relativi ad infezioni impiantistiche e farne tesoro sia per prevenire gli episodi che per risolvere le situazioni critiche.*