

«**Food quality and food safety**» (FQFS) (Тамақ өнімдерінің сапасы мен қауіпсіздігі) Халықаралық ғылыми конференцияның материалдары 20-22 қыркүйек, 2023 = «**Food quality and food safety**» (FQFS)(Качество и безопасность продуктов питания) материалы международной научной конференции 20-22 сентября, 2023= «**Food quality and food safety**» (FQFS) materials of the international scientific conference 20-22 september,2023. – Астана: КАТИУ им. С. Сейфуллина, 2023. – С.35-38

УДК 579.262

БИОПЛЁНКООБРАЗОВАНИЕ, КАК ОСНОВНОЙ ФАКТОР УСТОЙЧИВОСТИ МИКРОФЛОРЫ ПИЩЕВЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ

*Грудистова М.А., научный сотрудник, к.т.н,
Насыров Н.А., младший научный сотрудник.*

ФГБНУ ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Россия

Циркуляция микроорганизмов на пищевых предприятиях способствует распространению заболеваний пищевого происхождения и значительно сокращает сроки годности продукции, нанося экономический урон. Особую опасность вызывает загрязнение продукции через поверхности объектов производственной среды, контаминированные биоплёнкообразующими микроорганизмами. Биоплёнки обеспечивают персистенцию и устойчивость бактерий к факторам внешней среды.

Микроорганизмы образуют биоплёнки как на биотических, так и на абиотических поверхностях [1]. Большинство основного и вспомогательного оборудования на предприятиях пищевой отрасли имеет абиотическую поверхность – шероховатую или пористую, со стыками, швами и прочими труднодоступными участками, обеспечивая хорошие условия для локализации биоплёнок. Тем не менее до сих пор применяемые на производстве планы гигиены позволяют биоплёнкам формироваться и созревать, не обеспечивая их полное удаление с поверхностей. Некоторые исследователи рассматривают биоплёнкообразование, как фактор патогенности бактерий [2].

Явление биоплёнкообразования было открыто в середине 1980-х годов [3]. Изначально биоплёнки считали механизмом выживания бактерий в сложных условиях. Однако, они являются естественной/предпочтительной формой существования микробов, в то время как планктонные формы представляют собой лишь промежуточную стадию развития. Состав экзополисахаридного матрикса биоплёнки не постоянен и может меняться в зависимости от вида бактерий, условий роста, доступа питательных веществ.

Кроме того, в состоянии биоплёнок бактерии начинают обмениваться между собой сигналами. Это свойство (Quorum sensing – «чувство кворума»), позволяет бактериям проявлять свойства многоклеточных организмов и создавать сообщества внутри одного каркаса [4].

Для мясной промышленности биоплёнки представляют колоссальную опасность в связи с тем, что мясо, мясной сок, белково-жировые эмульсии, белки начинают взаимодействовать друг с другом, частично коагулируя, высыхая, превращаясь в устойчивые загрязнения, которые удалить полностью достаточно сложно. Они содержат большое количество питательных веществ и являются идеальной средой для размножения большинства бактерий. В случаях, если биоплёнки образуются в труднодоступных местах производства, они могут стать постоянным источником контаминации.

Объекты производственной среды изготовлены из различных материалов с разной степенью адгезии, с чем связано микробное разнообразие и эффективность применяемых дезинфицирующих средств. Биоплёнки высокоустойчивы к физическому и химическому воздействию, они с трудом поддаются уничтожению с использованием стандартных методов дезинфекции [5]. Многие биоплёнки обладают комбинированной устойчивостью к дезинфицирующим средствам и антибактериальным химиотерапевтическим веществам.

Таким образом, биопленки представляют большую опасность, связанную с риском контаминации объектов производственной среды пищевых предприятий и готовой пищевой продукции.

Цель

Целью данного исследования было изучить способность образования биоплёнок микроорганизмами, выделенными из объектов производственной среды пищевых предприятий.

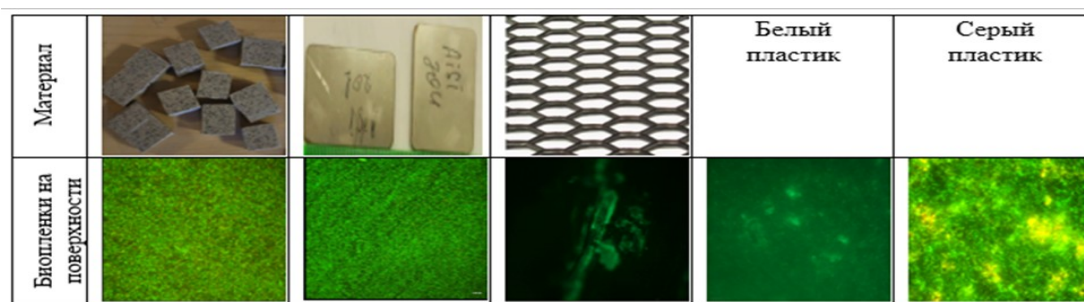
Объектами исследования являлись патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также бактерии порчи, выделенные из объектов производственной среды.

Объект и методы исследования

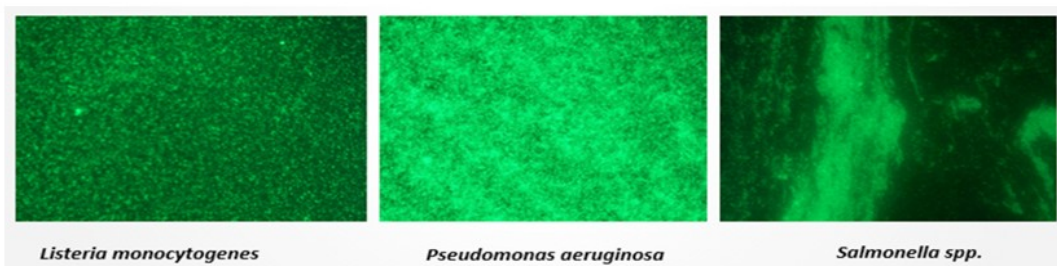
В работе использованы методы подготовки препаратов для проведения исследований при помощи флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии. Способность микроорганизмов формировать биопленки *in vitro* изучали в микротитровальных планшетах по методу O'Toole с применением фотометра, а также на твердых поверхностях (подложки различных материалов).

Результаты

Микрофотографии, сделанные с помощью флуоресцентного микроскопа (рис. 1), позволили визуализировать биоплёнки *L. monocytogenes*, выращенные на различных абиотических материалах. Отмечено, что биоплёнки хорошо формировались на всех типах покрытий.



а) Формирование биоплёнок бактериями *Listeria monocytogenes* на различных абиотических поверхностях за 24 часа



б) Формирование биоплёнок на поверхности пластика за 18 часов

Рис. 1 Биоплёнки бактерий, визуализированные при помощи флуоресцентного микроскопа

Хорошо заметна разница в формировании биоплёнки по интенсивности и морфологии между различными бактериями. *Ps. aeruginosa* и *Salmonella* формируют плотный слой биоплёнки, в отличие от *L. monocytogenes*. При этом *Salmonella* формирует биоплёнки отдельными плотными локусами.

Метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) позволяет визуализировать практически необработанный (нативный) материал без сложной подготовки препаратов, сохраняя всю структуру биопленки, не обезвоживая и не нарушая матрикс.

На рисунке 2 изображены 18-часовые биоплёнки. Результаты СЭМ полностью сопоставимы с ранее полученными результатами: *Ps. aeruginosa* и *Salmonella* образуют плотный слой биоплёнки в отличие от *L. monocytogenes*.

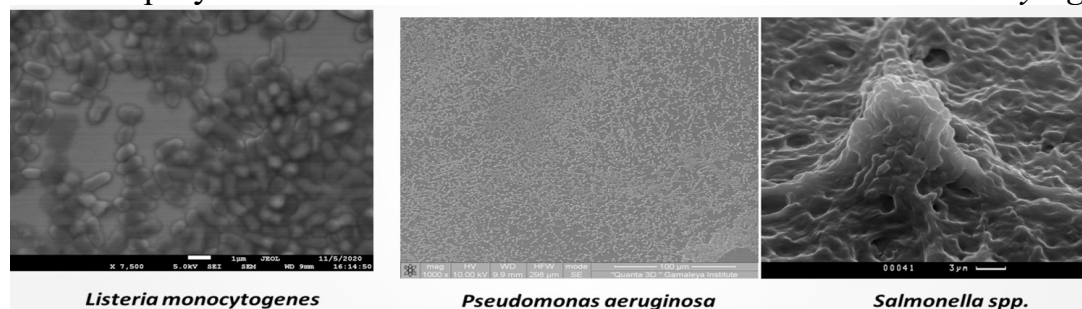


Рис. 2 Биоплёнки бактерий, визуализированные при помощи сканирующей электронной микроскопии

При изучении способности к формированию биоплёнок установлено, что бактерии рода *Pseudomonas* обладают высокой биоплёнкообразующей способностью (рис. 3) не только при оптимальной температуре роста, но и при низких положительных температурах.

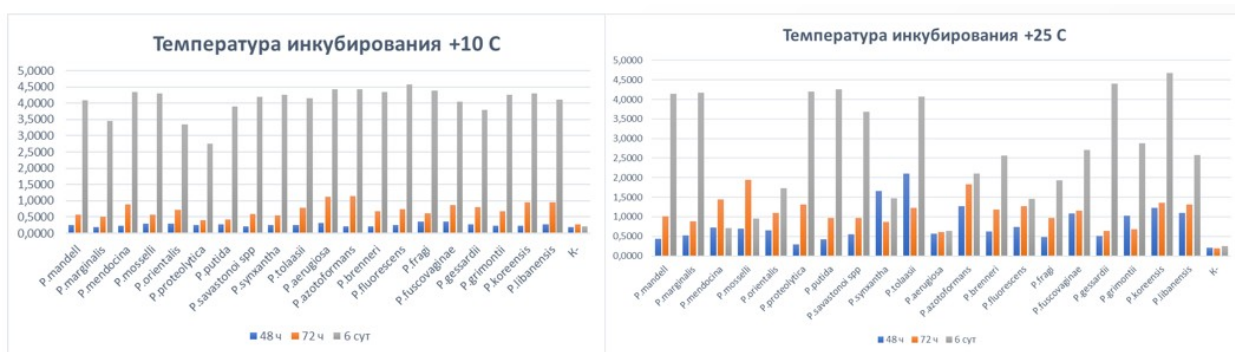


Рис. 3 Формирование биопленок бактериями *Pseudomonas spp.* в динамике при температурах +10° и +25° С.

Обсуждения

При помощи флуоресцентной микроскопии установлено, что биоплёнки хорошо формировались на всех типах покрытий. Сканирующей электронной микроскопией установлены наличие и структурный вид биопленок. Штаммы, выделенные при низких положительных температурах, проявляли биопленкообразование в наибольшей степени, что подтверждает данные о психротрофности бактерий и способности к активной выработке биопленкообразующего матрикса при низких положительных температурах в качестве защиты от неблагоприятного внешнего воздействия.

Выводы

В связи с вышеизложенным исследования распространенности бактерий, выявление критических точек и изучение особенностей формирования микроорганизмами биопленок в условиях пищевых предприятий, а также изучение механизмов индикации, подбора и действия эффективных дезинфицирующих средств необходимы для снижения рисков, связанных с производством небезопасных или низкокачественных пищевых продуктов.

Список использованной литературы

- 1 Silva, V.O., Biofilm formation on biotic and abiotic surfaces in the presence of antimicrobials by *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis [Text]/ V.O. Silva, L.O. Soares, J.A. Silva, H.C. Mantovani, Y.F. Chang, M.A. Moreira// *Appl. Environ. Microbiol.* – 2014. – Vol. 80. – N 19. – P. 6136–6145.
- 2 Lin, S. Pathogenic features and characteristics of food borne pathogens biofilm: biomass, viability and matrix [Text]/ S. Lin, L. Yang, G. Chen, B. Li, Z. Xu// *Microb. Pathog.* – 2017. – Vol. 111. – P. 285–291.
- 3 Bryers, J.D. Biofilms and the technological implications of microbial cell adhesion [Text]/ J.D. Bryers// *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 1994. – Vol. 2. – N 1–3. – P. 9–23.
- 4 de Almeida, F.A. Virtual screening of plant compounds and nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of quorum sensing and biofilm formation in *Salmonella* [Text]/ F.A. de Almeida, E.L.G. Vargas, D.G.

Carneiro, U.M. Pinto, M.C.D. Vanetti// Microb. Pathog. – 2018. – Vol. 121.
– P. 369–388.

Wang, H. Biofilm formation by meat-borne *Pseudomonas fluorescens* on stainless steel and its resistance to disinfectants [Text]/ H. Wang, L. Cai, Y. Li, X.Xu, G. Zho