

<https://doi.org/10.47470/dez008-52>

EDN: <https://elibrary.ru/FJTYQR>

Устойчивость биоплёнок пищевых патогенов к дезинфекции: риски для безопасности готовой продукции

Юшина Ю.К., Махова А.А., Дёмкина Е.В., Зайко Е.В., Батаева Д.С., Грудистова М.А.

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН», Москва, Россия

Ключевые слова: дезинфекция; готовая продукция; безопасность; пищевые патогены; пищевая промышленность; биопленка; устойчивость; эффективность

Resistance of food pathogen biofilms to disinfection: risks to the safety of finished products

Yushina Y.K., Makhova A.A., Demkina E.V., Zaiko E.V., Bataeva D.S., Grudistova M.A.

Federal Scientific Center of Food Systems named after V.M. Gorbatov of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Keywords: disinfection; finished goods; safety; food pathogens; food industry; biofilm; sustainability; efficiency

Образование биоплёнок патогенными микроорганизмами – серьёзная проблема для пищевой промышленности, так как они способствуют длительному сохранению бактерий и повторному загрязнению продуктов. Среди ключевых возбудителей пищевых инфекций выделяют *Salmonella spp.* и *Listeria monocytogenes* [1, 2]. В частности, биоплёнки *L. monocytogenes* на поверхностях, контактирующих с пищей, служат источником персистенции патогена и заражения продукции [3]. Процесс формирования биоплёнки зависит от свойств поверхности, к которой прикрепляются бактерии. На начальном этапе (первичная адгезия) решающую роль играют характеристики материала. В зависимости от условий среды биоплёнки делят на сухие и влажные. Сухие образуются при низкой влажности (на стенах, потолках, оборудовании или в сухой почве), где микроорганизмы вырабатывают защитные механизмы для выживания [4].

Целью работы было изучение эффективности различных моющих и дезинфицирующих средств (в том числе при комбинированной обработке) против бинарных «сухих» биоплёнок, образованных *Listeria monocytogenes* и *Salmonella spp.*, для определения оптимального способа их удаления на объектах пищевой промышленности.

Биоплёнки данного типа получали с использованием в качестве подложек фильтров из стекловолокнистых материалов, которые помещали на поверхность агаризованной среды LB (Becton Dickinson, США) в чашках Петри. Бактериальные культуры отдельно выращивали в LB-бульоне до стационарной фазы роста. Затем полученные бактериальные культуры наносили

по 40 мкл на заранее подготовленные стерильные стекловолокнистые фильтры в стерильных чашках Петри с агаризованной средой LB в двух повторностях и выращивали в термостате в течение 48 ч и 168 ч при температуре плюс 37 °С. Сухие биоплёнки выбраны как наиболее устойчивая форма, представляющая практическую проблему на производствах с низкой влажностью. На сформированные биоплёнки воздействовали отдельно нейтральным (НМС, 3%) и ферментным (ФМС, 0,5%) моющими средствами, дезинфицирующими средствами на основе ЧАС (0,5% и 1%), а также их комбинациями с последовательной обработкой: НМС (3%) → ДС ЧАС (0,5% или 1%) и ФМС (0,5%) → ДС ЧАС (0,5% или 1%). После обработки определяли количество жизнеспособных клеток и сравнивали эффективность средств в отношении биоплёнок. Оценку эффективности рассчитывали согласно Р 4.2.3676–20 [5].

Результаты исследования представлены в таблице.

Зрелые биоплёнки (168 ч) показали сниженную жизнеспособность клеток по сравнению с молодыми (48 ч) даже в контроле ($5,9 \times 10^8$ КОЕ/мл против $3,2 \times 10^9$ КОЕ/мл), что может быть связано с естественным отмиранием части клеток в условиях ограниченного питания. В отличие от молодых биоплёнок «старые» (168 ч) были чувствительны к последовательной обработке сначала моющими, а затем дезинфицирующими средствами на основе ЧАС в концентрации 1%; был достигнут дезинфицирующий эффект на уровне 99,99%. Эффективность средств зависит не только от возраста, но и от видового состава биоплёнки. Для разработки

Таблица. Эффективность воздействия моющих и дезинфицирующих средств на бинарные «сухие» биоплёнки *Salmonella spp. 32 / Listeria monocytogenes 149*

Средство воздействия на бинарные биоплёнки	Жизнеспособность клеток бинарной биоплёнки <i>Salmonella spp. 32 / Listeria monocytogenes 149</i> , КОЕ/мл	
	возраст биоплёнки 48 ч	возраст биоплёнки 168 ч
Контроль	$3,2 \times 10^9$	$5,9 \times 10^8$
НМС (3%)	$1,9 \times 10^9$	$2,8 \times 10^7$
ФМС (0,5%)	$2,3 \times 10^9$	$2,9 \times 10^8$
ДС на основе ЧАС (0,5%)	$3,7 \times 10^8$	$5,4 \times 10^6$
ДС на основе ЧАС (1%)	$2,9 \times 10^8$	$6,0 \times 10^3$
НМС (3%) + ДС на основе ЧАС (0,5%)	$3,9 \times 10^8$	$1,2 \times 10^6$
НМС (3%) + ДС на основе ЧАС (1%)	$1,7 \times 10^8$	$2,0 \times 10^2$
ФМС (0,5%) + ДС на основе ЧАС (0,5%)	$1,3 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$
ФМС (0,5%) + ДС на основе ЧАС (1%)	$4,3 \times 10^8$	$2,0 \times 10^2$

Примечание. НМС — нейтральное моющее средство; ФМС — ферментное моющее средство; ДС на основе ЧАС — дезинфицирующее средство на основе четвертичных аммониевых соединений; НМС + ДС на основе ЧАС — последовательная обработка нейтральным моющим средством, затем дезинфицирующим средством на основе ЧАС; ФМС + ДС на основе ЧАС — последовательная обработка ферментным моющим средством, затем дезинфицирующим на основе ЧАС.

оптимальных протоколов необходимо проводить индивидуальный подбор средств с учётом конкретных штаммов и условий формирования биоплёнки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alonso V.P.P., Harada A.M.M., Kabuki D.Y. Competitive and/or cooperative interactions of *Listeria monocytogenes* with *Bacillus cereus* in dual-species biofilm formation // *Front. Microbiol.* 2020. Vol. 11, Article № 177.
2. Bonsaglia E.C.R., Silva N.C.C., Fernades Júnior A. et al. Production of biofilm by *Listeria monocytogenes* in different materials and temperatures // *Food Control.* 2014. Vol. 35, N 1. P. 386–391.
3. Jahid I.K., Ha S.-D. A review of microbial biofilms of produce: future challenge to food safety // *Food Sci. Biotechnol.* 2012. Vol. 21, N 2. P. 299–316.
4. Burmølle M., Ren D., Bjarnsholt T., Sørensen S.J. Interactions in multispecies biofilms: do they actually matter? // *Trends Microbiol.* 2014. Vol. 22, № 2. P. 84–91.
5. Руководство Р 4.2.3676–20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» (введено в действие 01.09.2021). М.; 2020. 490 с.