



mgr inż.

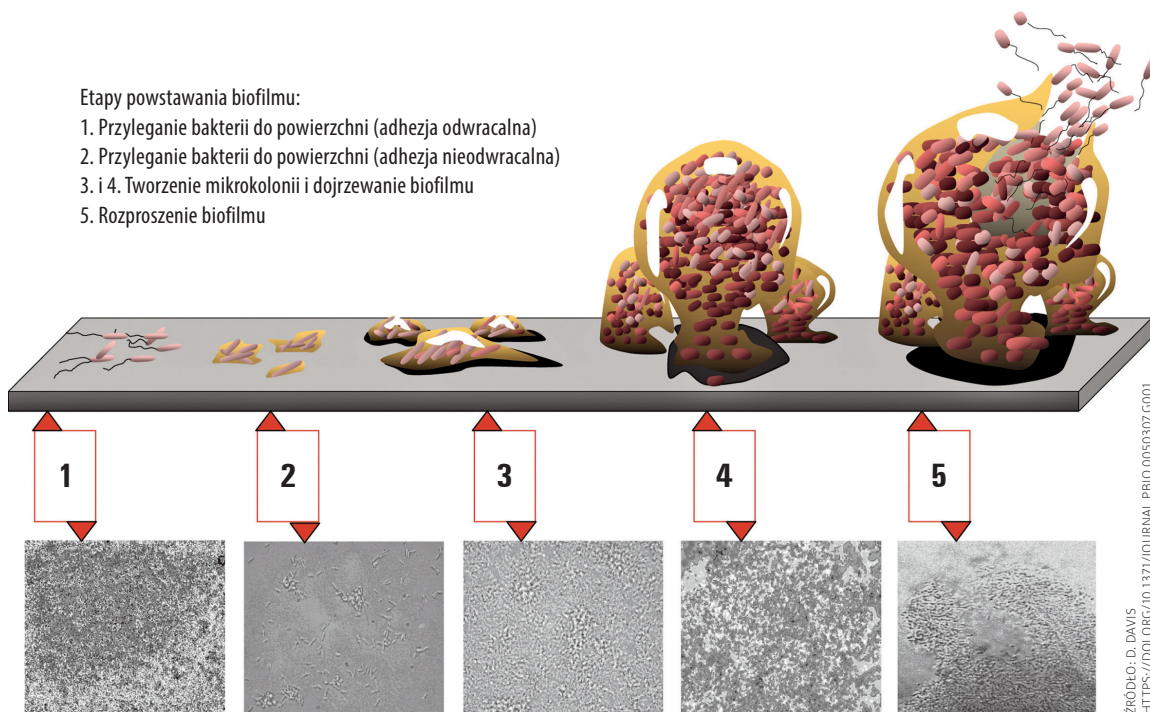
Mateusz Gemba

Specjalista ds. żywienia człowieka i oceny żywności, doktorant w Instytucie Nauk o Żywieniu Człowieka SGGW w Warszawie, wykładowca w Wyższej Szkole Inżynierii i Zdrowia w Warszawie, nauczyciel w Powiatowym Zespole Szkół Ponadpodstawowych im. Jerzego Siwińskiego w Legionowie.

mateusz.gemba@wsiz.pl

Etapy powstawania biofilmu:

1. Przyleganie bakterii do powierzchni (adhezja odwracalna)
2. Przyleganie bakterii do powierzchni (adhezja nieodwracalna)
3. i 4. Tworzenie mikrokolonii i dojrzewanie biofilmu
5. Rozproszenie biofilmu


 ŹRÓDŁO: D. DAVIS
[HTTPS://DOI.ORG/10.1371/JOURNAL.PBIO.0050307.G001](https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.0050307.G001)

BAKTERYJNE MIASTA ŚLUZU

Choroby przenoszone przez żywność stanowią poważny problem dla zdrowia publicznego zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się. Bakterie tworzące biofilmy są szczególnie trudne do zwalczenia i wymagają starannych środków zaradczych.

Mateusz Gemba

Wyższa Szkoła Inżynierii i Zdrowia w Warszawie

Bakterie potrafią przystosować się do zmiennych warunków otoczenia, co umożliwia im osiedlanie się w prawie całej biosferze. Żeby przetrwać w zmiennych i zróżnicowanych warunkach środowiskowych, bakterie wytwarzają mechanizmy obronne,

tw. biofilm. Zdefiniowano go jako zbiór mikroorganizmów, które przylegają do siebie oraz do powierzchni stałej. Drobnoustroje, tworzące biofilm, potrafią zaadaptować się do warunków otoczenia. Często są osadzone w wytworzonej przez siebie substancji polimerycznej (*extracellular polymeric substances* – EPS), nazywanej śluzem lub glikokaliksem. EPS sprawia, że biofilm jest układem nieruchomym, który ma również zdolność dostosowywania się do warunków środowiska. Biofilm zapewnia fizyczną i strukturalną barierę przed bodźcami mechanicznymi i fizycznymi oraz sprzyja ochronie genotypu. EPS powoduje unie-

ruchomienie biofilmu na powierzchni, jednocześnie umożliwiając mu dostosowanie się do zmieniających się warunków środowiskowych. Ponieważ bakterie żyjące w złożonym trójwymiarowym biofilmie są liczne i tworzą swego rodzaju społeczność, biofilmy można traktować jako małe bakterijne „miasta śluzu”. Biofilmy powstające m.in. w środowiskach, gdzie przetwarza się żywność, mają szczególne znaczenie, ponieważ mogą działać jako trwałe źródło skażenia mikrobiologicznego, co może prowadzić do psucia się żywności lub przenoszenia chorób.

Biofilm

Większość bakterii żyje w biofilmie, by przystosować się do trudnych warunków środowiskowych. Biofilmy najczęściej występują na wilgotnych powierzchniach, takich jak żywność, sprzęt do przetwórstwa żywności, rurociągi wodne i przemysłowe, urządzenia medyczne, wentylacja, tkanki i narządy ludzkie. Tworzenie biofilmu przez bakterie jest procesem uwarunkowanym wieloma czynnikami, począwszy od cech mikroorganizmów, właściwości podłoża, na którym powstaje biofilm, a na warunkach środowiskowych i dostępności substratów pokarmowych dla komórek bakteryjnych skończywszy.

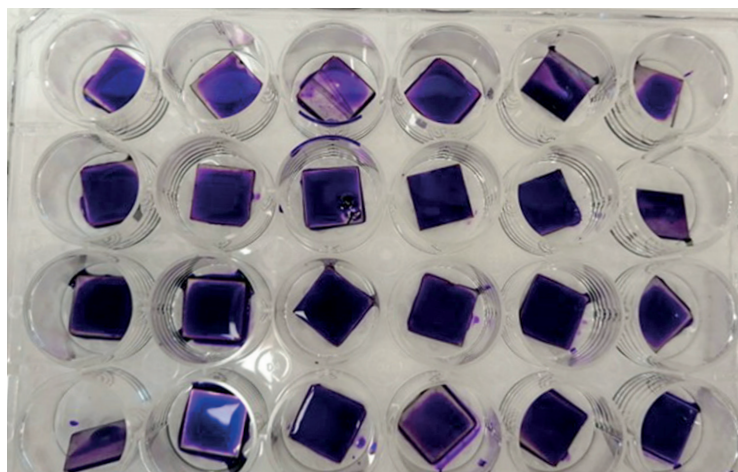
Tworzenie biofilmu obejmuje głównie cztery etapy: adhezję bakterii (przyleganie bakterii do powierzchni), tworzenie mikrokolonii, dojrzewanie biofilmu bakteryjnego i rozproszenie. Początkowy etap tworzenia biofilmu zależy od interakcji między zmianami środowiskowymi a regulacją sygnałów bakteryjnych. Na przyczepność wpływają przede wszystkim właściwości powierzchni, takie jak chropowatość i oddziaływanie hydrofobowe. Przyłączenie komórek zachodzi szybciej na powierzchniach hydrofobowych niż hydrofilowych. Przy powierzchniach hydrofobowych woda spływa z materiału, powłoka hydrofobowa odpycha cząsteczki wody. Z kolei powierzchnie hydrofilowe mają skłonność do łączenia się z cząsteczkami wody. Hydrofobowość powierzchni komórek, obecność fimbrii (włosowatej struktury bakterii, która umożliwia przyleganie bakterii do innej komórki/powierzchni) i wici (organelli komórkowych wystających z powierzchni komórek bakterii, umożliwiających ruch bakterii), a także poziom wytworzonych polimerów zewnątrzkomórkowych są głównymi czynnikami, które mają wpływ na szybkość oraz stopień adhezji bakterii do różnych podłoży. Adhezja bakterii do powierzchni może być odwracalna i nieodwracalna. W przypadku odwracalnego przylegania bakterie przypadkowo przyklejają się do powierzchni dzięki niektórym organellom zewnątrzkomórkowym, takim jak wici, pilusy, i niewielkiej ilości EPS. Na tym etapie można jeszcze łatwo pozbyć się biofilmu przy użyciu środków chemicznych i fizycznych. Gdy komórki bakterii znajdują się w odległości 1,5 nm od powierzchni

adhezyjnej, zwiększa się działanie wiązań wodorowych i oddziaływań hydrofobowych. Bakterie pokrywają zasiedlaną powierzchnię pojedynczą warstwą, następnie wzrasta synteza i wydzielanie EPS, które powoduje adhezję kolejnych komórek mikroorganizmów. Adhezja staje się nieodwracalna, a mikroorganizmy silnie przylegają do powierzchni. Następnie tworzą się mikrokolonie. Na tym etapie występuje zjawisko quorum sensingu – jest to bakteryjny system komunikacji wewnętrznej. Wynikiem quorum sensingu jest wydzielanie cząsteczek sygnałowych regulujących ekspresję odpowiedniego genu i wydzielanie EPS. W kolejnym etapie tworzenia biofilmu następuje namnażanie komórek bakterii oraz ich różnicowanie. Nabyte właściwości są przekazywane komórkom sąsiednim lub potomnym. Proces dojrzewania biofilmu i jego architektura są regulowane głównie przez sygnały przekazywane przez różne bakterie. Ostatnią fazą w rozwoju biofilmu jest oderwanie komórek od błony biologicznej oraz ich rozproszenie w środowisku. Mechanizmy działające na tym etapie dzielą się na dwie kategorie: aktywne i pasywne. Aktywne rozproszenie wiąże się z mechanizmami inicjowanymi przez bakterie, które potrafią aktywnie oderwać się od biofilmu, by rozpocząć nowy cykl kolonizacji. Pasywne rozproszenie ma miejsce, gdy do oderwania komórek przyczyniają się siły zewnętrzne. Dyspersja biofilmu może nastąpić w wyniku zwiększonego naprężenia ścinającego, braku składników odżywczych lub wewnętrznych zmian biochemicznych w komórkach bakterii.

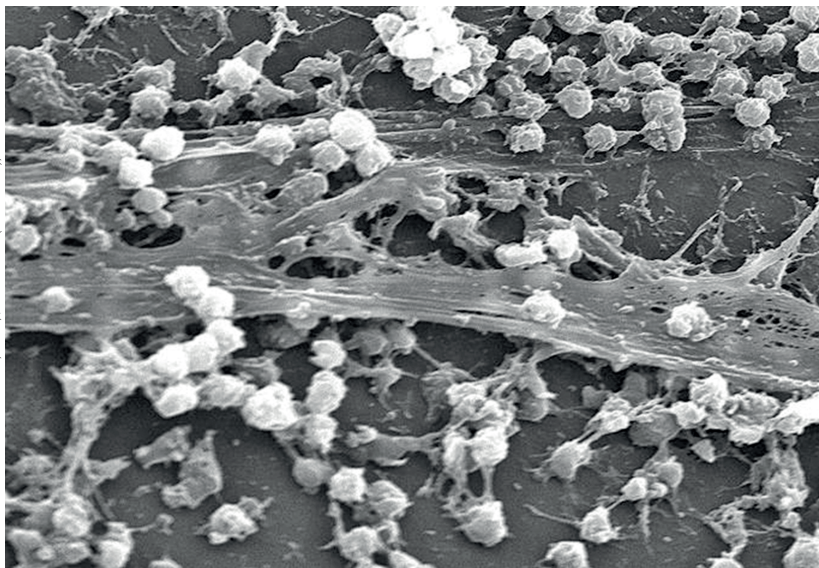
Żywność

Rozwinięty biofilm niekorzystnie wpływa na warunki higieniczne w przemyśle spożywczym i prowadzi do zanieczyszczenia krzyżowego produktów. Mleko należy do produktów łatwo psujących się oraz podatnych na skażenie mikrobiologiczne. W przetwórnictwie mleczarskim izoluje się bakterie z rodzaju *Enterobacter*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*,

Analiza tworzenia biofilmu przez szczepy patogeniczne na powierzchni stali nierdzewnej



MATEUSZ GE/MBE



ZŹRÓDŁO: CD/C/RODNEY M. DONLAN, PH.D.; JANICE CARR (PHIL. #7488), 2005

Biofilm
Staphylococcus aureus

Pseudomonas i *Staphylococcus*. Rozwój biofilmu tych patogenów może doprowadzić do ich rozpowszechnienia oraz zatruc pokarmowych. Wrażliwymi produktami pod względem mikrobiologicznym są ryby i owoce morza. W przetwórstwie rybnym szczególnie należy zwrócić uwagę na higienę sprzętu i używaną wodę, ponieważ mogą przyczyniać się one do zakażeń krzyżowych surowców bakteriami: *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Bacillus* spp., *Aeromonas* i *Pseudomonas* spp. Mimo wielu zabiegów oczyszczania oraz dezynfekcji woda morska pozostaje zanieczyszczona biofilmem utworzonym przez *Vibrio* spp. w systemie dystrybucji wody. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Salmonella* spp. wyizolowane z surowych ryb oraz powierzchni w zakładach przetwórstwa ryb są zdolne do wytwarzania biofilmu. Głównym problemem w zakładach przetwórstwa drobiu jest zanieczyszczenie bakteriami *Salmonella* spp. i *Campylobacter jejuni*. Najczęstszymi źródłami patogenów są kurz, pasza, odchody oraz transport żywego drobiu. Poważnym zagrożeniem mikrobiologicznym może być żywność typu *ready to eat*. Z krewetek gotowych do spożycia wyizolowano szczepy *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. harveyi*, z których ponad 90 proc. było zdolnych do produkcji biofilmu. Z owoców morza wyizolowano również zdolne do tworzenia biofilmu *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. hirae* i *E. durans*. Żywność typu *ready to eat* może być także zanieczyszczona biofilmem *Listeria monocytogenes*.

Zapobieganie zakażeniom

Tworzenie biofilmu jest zdcesem dość szybkim, dlatego w większości przypadków nie jest możliwe

czyszczenie i dezynfekowanie powierzchni i sprzętu wystarczająco często. Należy dokładnie określić odpowiednią częstotliwość dezynfekcji, by uniknąć dojrzenia biofilmu i gromadzenia się wchłoniętego materiału organicznego (pozostałości produktu), co może wpływać na stan higieniczny materiału i dostępność składników odżywczych dla bakterii. Zaleca się kontrolowanie czasu pracy między myciem a dezynfekcją linii technologicznych, np. linii pasteryzacyjnych w mleczarni. Uważa się, że mycie powierzchni w krótkich odstępach czasu jest skutecznym podejściem do zapobiegania tworzenia biofilmu. Dobór odpowiedniej konstrukcji i powierzchni sprzętu może ułatwiać procesy mycia i dezynfekcji oraz zmniejszać ryzyko tworzenia biofilmu. W przemyśle spożywczym są stosowane różne środki dezynfekujące, np. środki utleniające (nadtlenek wodoru, ozon, kwas nadoctowy), związki chloru, związki powierzchniowo czynne. Związki chloru pozwalają skutecznie usunąć biofilm *Staphylococcus aureus* i *Salmonella enterica*, ale tylko z powierzchni polipropylenu i stali nierdzewnej. Zaleca się stosowanie do dezynfekcji kombinacji różnych środków, np. połączenie podchlorynu sodu, siarczanu miedzi i nadtlenu wodoru umożliwia usunięcie początkowych biofilmów *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*. Stosowanie kombinacji różnych substancji może okazać się korzystne w przypadku uodpornienia się szczepu bakterii na jeden ze związków.

Najlepszym sposobem zapobiegania tworzeniu się biofilmu jest zahamowanie rozwoju bakterii. Dodatki do żywności mogą mieć działanie bakteriobójcze w przemyśle spożywczym. Pomarańczowy barwnik ekstrahowany z *Monascus* hamuje wzrost i rozwój *E. coli*. Estry kwasów tłuszczowych i sacharozy, powszechnie stosowane jako środki powierzchniowo czynne, wykazują hamowanie wzrostu i rozwoju patogenów przenoszonych przez żywność: *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 i *S. typhimurium*. Nizyna w połączeniu z aldehydem cynamonowym (35 µg/ml) lub kwasem cytrynowym (175 µg/ml) może zwalczać biofilm *L. monocytogenes*. Dodanie i stosowanie dodatków do żywności pozwala na znaczne zmniejszenie liczby patogenów przenoszonych przez żywność, zmniejszając możliwości tworzenia się biofilmu.

Biofilmy powstałe w środowisku produkcyjnym, na powierzchniach użytkowych, elementach maszyn są odpowiedzialne za rozprzestrzenianie się mikroorganizmów chorobotwórczych, które mogą zagrażać zdrowiu np. konsumentów. Profilaktyką rozwoju biofilmu w zakładach produkcyjnych powinien być odpowiednio przygotowany plan utrzymania higieny powierzchni i sprzętu oraz stosowanie się do reżimu sanitarnego. Działania mające na celu zapobieganie powstawaniu biofilmu zapewniają jakość i bezpieczeństwo żywności. ■

Chcesz wiedzieć
więcej?

Beyenal H., *Fundamentals of Biofilm Research*, 2007.

Maciejczuk A., *Mikrofilm bakteryjny – społeczność komórek czy organizm?*, Laboratorium BioCEN on-line.

Thiele S., *Jak wirusy i bakterie rządzą naszym życiem. Nowe i zdumiewające ustalenia o naszych mikroskopijnych współlokatorach*, 2020.