

Biofilmy v potravinářství

Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Abstrakt

Společenstva mikroorganismů, která označujeme jako biofilmy nacházíme v různých prostředích. Ve většině potravinářských provozů je jejich výskyt nežádoucí a někdy vede až k produkci mikrobiálně závadných potravin a nápojů. Zabránit tomu můžeme včasnou prevencí a dodržováním potřebných zásad. Dobré je také vědět, co to biofilm je, jak se tvoří a jaká nebezpečí může představovat. Důležité je předcházení tvorby biofilmu a jeho případná likvidace pravidelnou sanitací zařízení účinnými sanitačními postupy spolu s následným vytvářením prostředí schopným inhibovat jeho další růst. Nebezpečí biofilmů spočívá ve výskytu patogenních mikroorganismů, které v případě kontaminace potravin představují riziko alimentární nákazy. Častěji však dochází k ekonomickým ztrátám, likvidacím celých výrobních šarží, a pokud se problém nezachytí včas, ke ztrátě důvěryhodnosti.

Úvod

Svět kolem nás je plný života, který nevidíme. Pestrý svět mikroorganismů rozličných typů a podob, bujících všude, kam se podíváme. S některými se naše cesty nezkrří, některé jsou nám prospěšné, některé nám škodí. S těmi posledně jmenovanými se občas potkáváme i v našem oboru – ve výrobě potravin, při jejich balení, dopravě, skladování i spotřebě. Některé způsobují „pouze“ sensorické změny, jiné jsou přímo patogenní.

Je mnoho druhů mikroorganismů schopných vytvářet společenstva, která označujeme jako biofilmy. Jedná se o společenstva mikroorganismů, výjimečně jednodruhová, většinou však tvořená více druhy, která jsou buď vázána na pevný podklad, nebo se volně vznášejí a tvoří různé zákal, klky a slizová tělesa v kapalinách.

Biofilmy nemají jen stinnou stránku, využívají se v řadě technologií, nejen potravinářských. Mikroorganismy v této formě jsou obecně schopné vytvářet pro lidstvo užitečné produkty, jako jsou např. zrající sýry. Umí vyrábět složky pro pohonné hmoty, degradovat toxické látky, čistit odpady, které vyprodukujeme, a mnoho dalších prospěšných činností. Přestože první publikace obsahující pojem „biofilm“ byla vydána v průběhu 20. století, již od roku 1823 byly mikroorganismy žijící ve formě biofilmu v podstatě využívány pro výrobu octa v tzv. Schützenbachových hoblinových očetnicích.

Jak je všeobecně známo, mikroorganismy jsou mistři v adaptaci na podmínky vnějšího prostředí, především pak ve chvíli, kdy se ve formě biofilmu podporují a vzájemně spolupracují na zajištění ochrany, získávání živin, odvádění zplodin látkové přeměny nebo ukotvení ve výhodné „ekologické nice“. Někdy jsou tyto vlastnosti pro

člověka výhodné, častěji však nikoliv. A proto lze v této otázce bez okolků uplatnit parafrázi rčení „Biofilm je dobrý sluha, ale špatný pán“ [1].

Mikroorganismy biofilmu kolem sebe vytvářejí ochranný obal tvořený polysacharidy, proteiny a lipidy, někdy také nazývaný matrix. Tento obal má mnoho funkcí – vytváří mikroorganismům vlastní mikroklima, poskytuje jim určitou ochranu před vnějším prostředím, např. zvyšuje odolnost vůči antimikrobiálním látkám (také usnadňuje přenos genetické informace a tím rychlejší šíření rezistence), zprostředkovává přenos živin a ostatních látek biofilmem, má podpůrnou a stabilizační roli, popřípadě působí jako záchytný prvek biofilmu k povrchu [2, 3]. Proto jsou buňky přítomny v biofilmu mnohem odolnější. Uvádí se, že biofilm může být sto- až tisícinásobně odolnější vůči antibiotikům a desinfekčním prostředkům než volně planktonické buňky. Biofilmy se také vyznačují větší odolností vůči UV záření, vysušení a změnám pH [4].

Tyto mikrobiální útvary se vyskytují také v potravinářství, zejména v průmyslových výrobcích nápojů. Postihují místa hůře dostupná pro čištění tzv. mrtvá místa, kolena, záhyby, kohouty, ventily, plnicí jehly, těsnění a další. Tvoří se také na pro ně vhodných, z pohledu technologa však nežádoucích površích, jako jsou části zařízení, které podlely korozi, kde se vyskytují rýhy, praskliny a nerovnosti povrchu. Nejmenší šanci mají na plochách, které jsou hladké, neporušené a kompaktní. Takové plochy vykazují nejmenší přilnavost, zároveň jsou nejnáze čistitelné. Příkladem může být povrch tvořený leštěnou nerezavějící ocelí nebo sklem [2, 3]. V nápojích se nejčastěji setkáváme s bakteriemi rodu *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, které nepředstavují nebezpečí pro zdravého člověka. V potravinách se v této souvislosti mohou vyskytovat i patogenní rody jako jsou např. *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Escherichia* a další.

Mikrobiální biofilmy představují závažný problém z hlediska hygienického ve vodárenských a rozvodových zařízeních pro pitnou vodu, kde mohou být biofilmy zdrojem oportunně patogenních bakterií, původců někdy i velice závažných onemocnění (např. *Escherichia coli*, rody *Salmonella*, *Shigella*, *Legionella*, *Campylobacter* nebo *Vibrio*). Vyskytují se v místech, jako jsou chladičové systémy, kde snižují efektivitu chlazení a také např. v klimatizačních a zvlhčovacích jednotkách, kde se mohou stát poměrně masivním zdrojem vzduchem šířených nákaz [5].

Z těchto důvodů jsou právě v potravinářských výrobcích kladeny vysoké nároky na sanitační a dezinfekční postupy. I přes jejich striktní dodržování, včetně dodržování jejich termínů, však není výskyt bakteriálních kontaminací v potravinářském odvětví úplnou výjimkou.

Tvorba biofilmu na povrchu zařízení

Struktura, složení a fyziologie biofilmů se liší a dynamicky mění v závislosti na přítomných mikrobiálních populacích a panujících podmínkách v prostředí. Důležitým společným znakem biofilmů je skutečnost, že jejich strukturální integrita závisí na extracelulární matici vytvořené buňkami, které jsou jeho součástí. Extracelulární matrice mohou být tak rozmanité jako biofilmy samy. [4]

Tvorba biofilmů se skládá z pěti částí [6, 7]:

1. Tvorbě biofilmu předchází přítomnost volných (planktonických) buněk mikroorganismů v prostředí.
2. V druhé fázi se tyto buňky zachytí a připoutají na kontaktní povrchy. Ve specifickém potravinářském prostředí se spolu s buňkami na povrchu zachytí i některé složky potravin (mléčné a masné proteiny a sacharidy).
3. Buňky jednoho nebo více klonů mikroorganismů vytvoří mikrokolonie.
4. Mikrokolonie rostou, zvyšují svůj objem, spojují se a vytvářejí makrokolonie. V makrokoloniích dochází k diferenciaci buněk a k tvorbě exopolysacharidové matrice obsahující též zbytky mrtvých buněk a DNA.
5. Následkem dozrávání makrokolonií dochází v páté fázi k uvolňování buněk z biofilmu a jejich rozptýlení do prostředí, což by se mohlo charakterizovat i jako návrat do planktonické fáze.

Mikroorganismy v biofilmu

Mikroorganismy, které vytvářejí nejčastěji biofilmy ve zpracovatelském průmyslu:

Listeria monocytogenes

- Výskyt v potravinách: vlhké prostředí v mlékárenském průmyslu – především dopravníkové pásy,

zásobní tanky, nože, lisovací vany, apod. Nachází se v nepasterovaném mléce a mléčných výrobcích z něj (zvláště zrající sýry), v syrovém masu a masných výrobcích, v syrové zelenině (zvláště krájené), rybích produktech (ryby uzené studeným kouřem) či lahůdkářských výrobcích.

- Patogenita: listerióza – nebezpečí pro pacienty s oslabenou imunitou, u zdravých osob se většinou ani neprojeví. Onemocnění je podobné chřipce, je příčinou potratů u těhotných žen, celkových septických onemocnění novorozenců a zánětů mozku a mozkových blan u starých a oslabených osob.
- Účinné látky pro odstranění: chlor, kys. peroctová, kys. peroxyoctanová, roztok diperoxy-kyseliny, alkalický roztok, chlornan, peroxid vodíku, ozon, peroxid, kvartérní amoniové soli.

Staphylococcus aureus

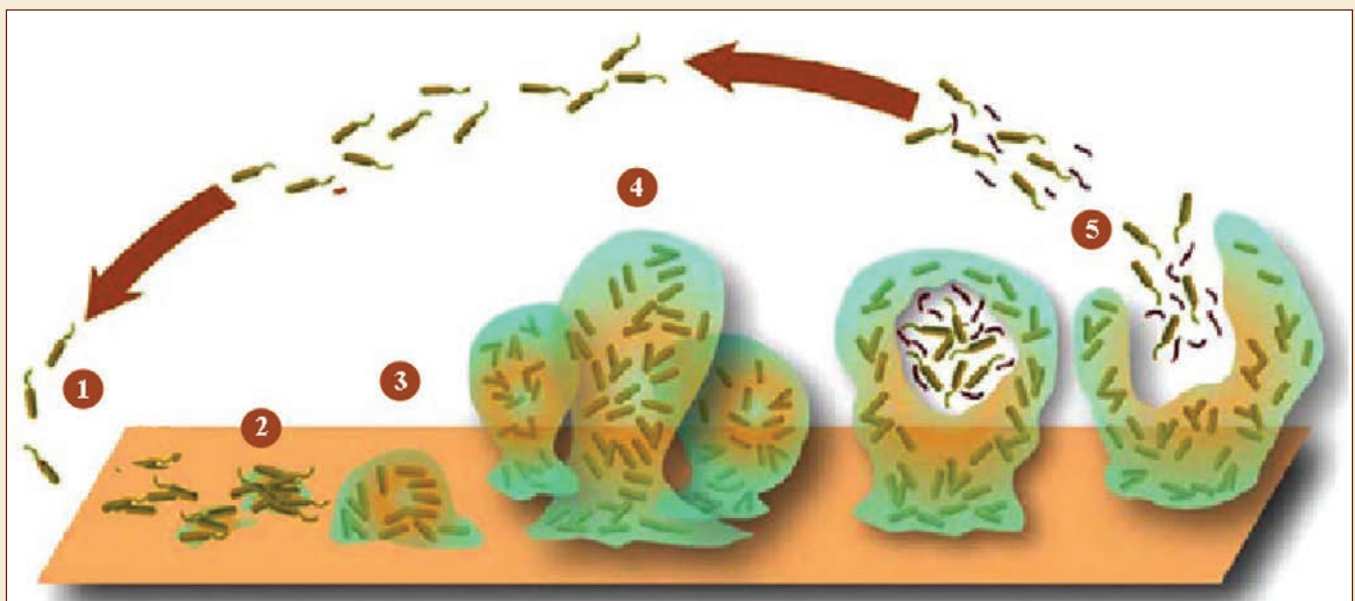
- Výskyt v potravinách: smetanové omáčky, uzeniny, sekaná masa, bramborový salát s majonézou a vejci, cukrářské výrobky s vaječnou náplní apod. Přenos přes potraviny od nemocných lidí nebo bacilonosičů.
- Patogenita: syndrom toxického šoku, stafylokokové enteritidy, stafylokoková enterotoxikóza.
- Účinné látky pro odstranění: peroxid vodíku, dichlorisokyanurát sodný, kys. peroctová.

Bacillus cereus

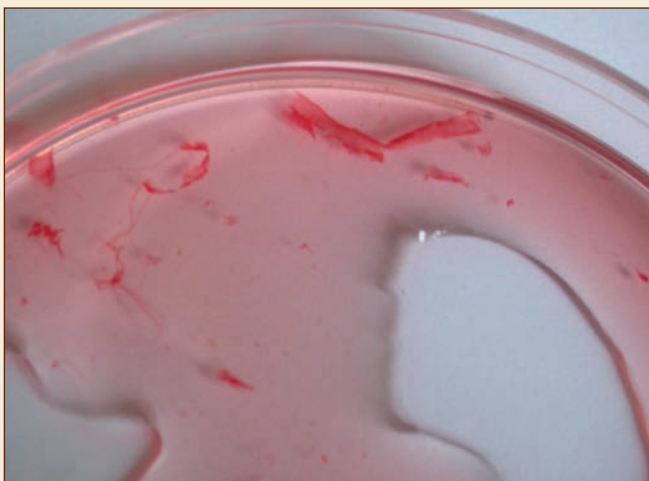
- Výskyt v potravinách:

Enterotoxin - častým zdrojem onemocnění jsou masné produkty, polévky, zelenina, mléčné výrobky, párky. Enterotoxin je inaktivován již do tří minut při teplotě 65°C.

Emetický toxin - častým zdrojem onemocnění jsou výrobky z rýže, sladkosti, těstoviny. Je vysoce termostabilní, byl prokázán i po 1 h při působení teploty



Obr. 1. Tvorba biofilmu v pěti fázích (1 – volné buňky, 2 – zachycené buňky na povrchu, 3 – mikrokolonie, 4 – makrokolonie, 5 – uvolnění buněk z biofilmu).



Obr. 2. Nárůst biofilmu v ochuceném nápoji s ovocnou složkou (bakterie rodu *Asaia*).

Na této fotografii vidíme, že biofilm nemusí narůstat jen pevně přichycený k povrchu. Tento biofilm narostl přímo v nápoji z přítomných mikroorganismů (kontaminace z výroby) a vytvořil tak vadu nápoje baleného do PET lahve.

120 °C. Emetický toxin je také odolný i vůči extrémním hodnotám pH (2–11).

- **Patogenita:**

Enterotoxin se tvoří v tenkém střevě konzumenta po konzumaci kontaminované potraviny. Vyvolává průjemový typ onemocnění spojené s bolestmi břicha, vodnatým průjmem, někdy provázené nevolností. Inkubační doba je 8–16 h, doba trvání onemocnění 12–24 h nebo i více dnů.

Emetický toxin je produkován živými buňkami v již kontaminované potravine. Vyvolává nevolnost, zvracení, malátnost. Inkubační doba je 0,5–5 h, doba trvání onemocnění 6–24 h.

- **Účinné látky pro odstranění:** chlor, oxid chloričitý, detergent, sanitační činidlo na chlorovém základě.

***Escherichia coli* (patogenní kmeny)**

- **Výskyt v potravinách:** syrové hovězí maso a mléko nebo pokrmy z nich, maso nedostatečně tepelně opracované, nepasterované šťávy, saláty ze syrové a krájené zeleniny nebo ovoce a naklíčená semena a výhonky rostlin, voda (z nekontrolovaných zdrojů).
- **Patogenita:** střevní potíže, průjemová onemocnění.
- **Účinné látky pro odstranění:** chlor, oxid chloričitý, peroxid vodíku, alkalický roztok (NaOH za horka), saponát.

Pseudomonas sp.

- **Výskyt v potravinách:** voda (z nekontrolovaných zdrojů), povrch rostlin, ryby, vejce, maso, krájená zelenina nebo ovoce a naklíčená semena a výhonky rostlin.
- **Patogenita:** výhradně osoby s porušenou imunitou, s popáleninami, užívající širokospektrální antibiotika.
- **Účinné látky pro odstranění:** výplach horkou vodou, chlor, peroxid vodíku, alkalický roztok (NaOH za horka), saponát. [2]

Plísně a kvasinky

- **Výskyt v potravinách:** kazí široké spektrum potravin a nápojů, mají schopnost využívat i kyseliny přidávané do potravin jako inhibitory, kazí tedy i potraviny s nízkým pH (2,5–4), plísně se vyskytují na ořechách, semenech, koření, měkkém ovoci, obilovinách ale i v kompotech, marmeládách, měkkých sýrech, jogurtech, tvarohu.
- **Patogenita:** mykotoxiny plísní – orálně toxické, mykózy
- **Účinné látky pro odstranění:** výplach horkou vodou, chlor, peroxid vodíku, alkalický roztok (NaOH za horka), saponát.

Odstranění biofilmů

Samotné bakterie (nebo jiné mikroorganismy) jsou na povrchu čistěných předmětů přichycené a následkem množení a metabolismu vytvářejí souvislou vrstvu, čili kolonie, podobné jako na agarových půdách. Ty, které jsou na povrchu, přecházejí při čištění biofilmem osídlených ploch do suspenze a potom jsou devitalizovány dekontaminačními anebo desinfekčními látkami. Naproti tomu bakterie, které jsou uchycené v jeho vnitřních strukturách, jsou proti účinkům dekontaminačních látek do určité míry chráněné [8].

Odstraňování biofilmů z potravinářských zařízení je náročná záležitost, někdy se ukáže být dokonce nemožná nebo ekonomicky nevýhodná a pak je nutná i výměna části zařízení či dokonce úplné odstavení (zejména v případech starších výrobních linek). Nejúčinnějšími postupy pro odstranění těchto útvarů jsou mechanické čištění, ultrazvuk, použití chemických prostředků jako jsou aldehydy, chlornan sodný, ozon. Většinou je však zapotřebí kombinace těchto mechanických, fyzikálních a chemických postupů. Je také možné s výhodou využít i moderních technik jako je enzymové štěpení EPS (extracelulární polymerní substance), využití bakteriofágů a mezidruhových interakcí mezi mikroorganismy (např. rozrušení biofilmu *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis* pomocí *Bacillus subtilis*) [2, 7, 9, 10].

Závěr

Preventivním opatřením proti kontaminaci výrobních zařízení a tvorbě biofilmu v nich je v první řadě dodržování hygienických pravidel. Ze zařízení a ploch by měly být odstraňovány organické nečistoty ve formě tuků, bílkovin, cukrů a dalších, které jsou živinami pro mikroorganismy.

Při pořizování nových zařízení bychom měli zohlednit také jejich hygienický design. Zkrátka vybírat si zařízení dobře omyvatelná a čistitelná ve všech místech, což není vždy samozřejmé.

Pokud se na zařízení kuchyně nebo potravinářském provozu již podepsal „zub času“ a zařízení je viditelně poškozeno: oděrem, rýhami či trpí dalšími nedostatky a jeho konstrukce již neodpovídá požadavkům dnešní doby, tak v tomto případě je lepší pořídit vybavení nové, investice se vyplácí a vrátí v podobě bezpečných a zdravotně nezávadných produktů.

Literatura

1. Kvasničková E (2016) Biofilmy: Život mikroorganismů v jednotném společenství, dostupná na: <http://www.vscht.cz/popularizace/doktorandi-pisou/biofilmy> (přístup březen 2017).
2. Fratamico PM, Annous BA, Gunther IV N W (2009) Biofilms in the food and beverage industries. Woodhead Publishing Limited, UK.
3. Lhotský J (2015) Úvod do studia symbiotických interakcí mikroorganismů. Nový pohled na viry a bakterie. Academia.
4. Valík L, Prachar V (2009) Pôvodcovia ochorení z požívateľín a minimalizácia ich rizika. STU.
5. Whitehead AW, Verran J (2015) Formation, architecture and functionality of microbial biofilms in the food industry, *Current Opinion in Food Science*, 2, 84–91.
6. Monds RD, O'Toole GA (2009) The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. *Trends in Microbiology*, 17, 275–279.
7. Myszka K, Czaczyk K (2011) Bacterial Biofilms on Food Contact Surfaces – a Review, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61, 173–180.
8. Kumar CG, Anand SK (1998) Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 9–27.
9. Simões M, Simões LC, Vieira MJ (2010) A review of current and emergent biofilm control strategies, *LWT - Food Science and Technology*, 43, 573–583.
10. US EPA: Health Risks from Microbial Growth and Biofilms in Drinking Water Distribution Systems (2002) https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/2007_05_18_disinfection_tcr_whitepaper_tcr_biofilms.pdf (přístup březen 2017).

Abstract

Microbial associations which are called biofilms are found in different environments. The occurrence of these associations is undesirable in most of food plants and sometimes leads to the production of microbiologically defective foods and drinks. We can inhibit it by the timely prevention and by the abundance by the rules. It is also good to know what biofilm is, how it is formed and what dangers it can pose. It is important to prevent the biofilm formation, eventually its disposal by periodic sanitation of the device using effective sanitizing procedures with subsequent formation of biofilm growth inhibiting environment. The hazard of biofilms rests in occurrence of pathogenic microorganisms, which, in case of food contamination, represents the alimentary infection. More often comes to the economical losses, to the disposal of the all the production batches and, when the problem is not caught in due time, to the loss of credibility.



VISION

NOVÉ PARNÍ KONVEKTOMATY

retigo®

HODNOTY ZŮSTÁVAJÍ, INOVACE POKRAČUJE.

WWW.RETIGO.CZ