

УДК 613.287:637.1:637.128

Кухтин М.Д., д.вет.н. (kuchtyan@yandex.ru),*Тернопільський національний технічний університет ім. І. Пулюя***Перкій Ю.Б.**, к.вет.н.,*Тернопільська державна сільськогосподарська дослідна станція**Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН***Семанюк В.І.**, к.б.н.,*Львівський національний університет ветеринарної медицини і біотехнологій**імені С.З. Гжицького***Мурська С.Д.**, к.вет.н. ©*Державний науково-дослідний контрольний інститут кормових добавок і ветеринарних препаратів НААН*

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА САНІТАРНУ ОБРОБКУ ТЕХНОЛОГІЧНОГО УСТАТКУВАННЯ У ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВOSTІ

Проведено аналіз публікацій з проблем формування мікробних біоплівкок на технологічному устаткуванні при виробництві харчових продуктів. Встановлено, що перспективним напрямком у боротьбі з мікробними біоплівками є розробка засобів з ферментами засобів для санітарної обробки технологічного устаткування.

Ключові слова: технологічне устаткування, санобробка, біоплівки, харчові продукти, безпека.

Вступ. Однією з основних операцій в системі забезпечення безпечності харчових продуктів є проведення ефективної санітарної обробки технологічного устаткування на всьому етапі їх виробництва. За умови, коли виробничий процес спланований і технологічне устаткування змонтоване із дотриманням санітарно-гігієнічних вимог, проводиться ефективна санобробка обладнання (очистка, миття, дезінфекція), то контамінація харчових продуктів мікроорганізмами із навколишнього середовища є мінімальною. Санітарну обробку технологічного устаткування здійснюють до такого рівня, при якому все, що залишається на внутрішній поверхні (залишки харчових продуктів, мікроорганізми) не створювало б загрози для безпеки і якості продукту. За даними ВООЗ мікробіологічний чинник є одним з основних, який впливає на безпеку харчових продуктів, а найбільш суттєвим джерелом мікробного обсіювання харчових продуктів під час його виробництва є технологічне устаткування. Більше 40 % харчових отруєнь людей у світі спричиняються мікроорганізмами, які надходять у сировину, та готові продукти з технологічного устаткування [1].

Результати останніх наукових досліджень вказують, що мікроорганізми виживають на технологічному устаткуванні завдяки специфічній властивості –

це здатності формувати біоплівки [2, 3]. Біоплівка – це жива сукупність одного або декількох видів чи родів бактерій, яка постійно оновлюється, прикріплена до біогенної чи абіогенної поверхні та оточена полісахаридним матриксом [4]. Матрикс – це суміш екзополісахаридів, білків, нуклеїнових кислот та інших неорганічних речовин, який захищає бактерії від факторів навколишнього середовища [5].

Метою роботи є огляд літературних даних про механізм формування, закономірності росту мікробних біоплівок та способи боротьби з ними на технологічному устаткуванні.

Розвиток та ріст біоплівок має свої особливості для кожного виду мікроорганізмів, хоча механізм формування їх має загальні закономірності [6]. Ключовими із них є такі: 1) основним моментом без якого не можливе утворення біоплівки, є процес адгезії мікроорганізмів до поверхні доступної для подальшої колонізації; 2) формування біоплівки відбувається в декілька етапів (етапність розвитку біоплівки); 3) для розвитку біоплівки мікроорганізми повинні „спілкуватись” між собою за допомогою сигнальних молекул; 4) мікроорганізми у біоплівці транскрибують гени, які відрізняють їх від планктонних клітин [6, 7].

Адгезія мікроорганізмів залежить від доволі великої кількості змінних чинників, особливо таких, як рід та вид мікроорганізму (не всі мікроорганізми мають однакову здатність до адгезії), фізичні і хімічні властивості поверхні (її макро- і мікроструктура, електростатична сила, гідрофільність чи гідрофобність матеріалу) та ряду екологічних факторів (осмолярність, рН, температура, парціальний тиск кисню, наявність антибактеріальних речовин і т.д.) [8–11]. Особливості екологічного запуску розвитку біоплівки можуть відрізнятися у різних родів та видів бактерій, однак очевидно, що саме екологічні параметри мають значний вплив на перехід бактерій від існування і розмноження в планктонному стані до прикріплення та формування біоплівки.

Після прикріплення мікроорганізмів до поверхні, починається процес росту та дозрівання біоплівки. Надалі її щільність збільшується, так як зв’язані з поверхнею мікроорганізми активно розмножуються та відмирають, а позаклітинні компоненти, які синтезують бактерії, взаємодіють з органічними і неорганічними молекулами навколишнього середовища та утворюють матрикс біоплівки. Згідно досліджень М. Augustin та ін.. [12] у різних родів і видів мікроорганізмів через неоднорідність екзополісахаридно-пептидного складу матрикс біоплівок буває полісахаридний, у якому переважають вуглеводи, білковий – пептиди та змішаний. Так, за даними досліджень Р. Speziale та ін. [13], основним компонентом матриксу біоплівки золотистого стафілококу є полісахаридний міжклітинний адгезин. У біоплівок мікроорганізмів роду *Bacillus* переважають білки [14]. У той же час дані досліджень вказують [15], що склад матриксу біоплівки залежить також від середовища в якому росте (існує) мікроорганізм, і в одного і того ж виду він може відрізнятися. Якщо біоплівка складається із декількох родів або видів мікроорганізмів, то екзометаболіти (побічні продукти життєдіяльності) одного виду мікроорганізму

можуть використовуватися для забезпечення росту і розвитку іншого виду. При цьому бактерії одного виду забезпечують своїми лігандами адгезію інших видів бактерій [16, 17]. Наприклад, на фермах та молокопереробних підприємствах доїльне і технологічне устаткування може бути контаміноване умовно-патогенними мікроорганізмами (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* ssp., *Bacillus cereus* і ін.). Встановлено, що екзополімерний матрикс біоплівки *Pseudomonas fragi* сприяє прикріпленню і утворенню біоплівки *Listeria monocytogenes* [18]. Однак, може бути й інша ситуація, коли мікроорганізми, які перші колонізували поверхню в процесі конкуренції за субстрати, продукують побічні токсичні продукти життєдіяльності, що сприяють формуванню тільки монобіоплівки [19].

Проте потенціал росту будь-якої мікробної біоплівки залежить від наявності поживних речовин в навколишньому середовищі, доступності їх для клітин, що знаходяться в середині біоплівки, а також можливістю видалення продуктів метаболізму. Коли біоплівка досягає динамічної рівноваги розвитку і критичної маси, частина мікробних клітин, які найбільш близькі до адгезивної поверхні, гинуть через нестачу поживних речовин, зміни рН, кисню, накопичення токсичних метаболітів, а інша частина бактерій просто залишається в нерухомому стані. Найбільш глибокі шари біоплівки, віддалені від колонізованої поверхні, починають продукувати планктонні клітини, які вільно залишають біоплівку і колонізують інші поверхні [20].

Розуміння закономірностей процесу формування біоплівки, її структурного складу, умов, за яких мікробні клітини покидають біоплівку під час санітарної обробки технологічного устаткування, необхідне при розробці мийних, дезінфікуючих чи мийно-дезінфікуючих засобів із специфічними властивостями для руйнування мікробних біоплівок. Досліджено, що бактерії у біоплівці є стійкіші до дії антимікробних препаратів, мийних та дезінфікуючих засобів, ніж ті, які перебувають у планктонному стані [21, 22, 23]. Нині, згідно з вимогами міжнародного законодавства до харчових продуктів, виробники сировини та готових продуктів повинні використовувати такі засоби для санітарної обробки технологічного устаткування, при застосуванні яких утворення біоплівки мікроорганізмами було б мінімальним [24].

Ефективність будь-якої санітарної обробки технологічного устаткування залежить від складу хімічних засобів, температури робочих розчинів, тривалості процедури миття та застосування додаткової механічної дії. Порушення одного із цих факторів вимагатиме корекції інших, проте вони не завжди будуть компенсовані. Так, наприклад, для видалення біоплівок з устаткування найбільш ефективним є застосування механічної дії. В той же час дія хімічних засобів знешкоджує мікроорганізми. Крім вищезгаданих факторів, не менш важливими чинниками, які впливають на санітарну обробку, є твердість води, ступінь (міра) забруднення поверхні, мікроструктура поверхні, діаметр труб, взаємодія хімічних засобів із робочою поверхнею, методи використання засобів, швидкість руху засобів та здатність їх діяти на мікроорганізми сформовані в біоплівці [25].

Для боротьби з мікроорганізмами, які сформовані у біоплівки, використовують два основних напрямки – це запобігання адгезії бактерій до робочої поверхні устаткування і знищення тих мікроорганізмів, що перебувають в уже утвореній біоплівці.

На сьогоднішній день апробовано багато способів, які б перешкоджали адгезії мікроорганізмів до робочих поверхонь. З цією метою поверхню покривають іонами срібла або міді. Проте результати наукових досліджень показали, що "дикі" штами багатьох видів бактерій інтенсивно колонізують поверхні даних металів [26], а також вони швидко покриваються молочними білково-жировими залишками.

Дезінфікуючі засоби не завжди діють на бактерії, які сформовані у біоплівки, адже резистентність бактерій у біоплівках до дезінфікуючих речовин, антибіотиків чи антисептиків, приблизно в 100 разів більша, ніж у планктонних мікроорганізмів [27]. Це пов'язано з тим, що в біоплівках мікроорганізми перебувають в метаболічно інертних формах, на які погано діють біоциди, а також через те, що пори і канали біоплівок не пропускають великі молекули біоцидів в середину біоплівки.

Заключення. Останні наукові дослідження [26] вказують, що перспективним напрямком в боротьбі з мікробними біоплівками на технологічному устаткуванні є застосування поряд із мийними і дезінфікуючими засобами ферментних препаратів, які мають властивість руйнувати міжклітинний полісахаридно-пептидний матрикс біоплівки. Проте, застосування ферментних засобів повинно базуватися на ґрунтовних дослідженнях мікрофлори технологічного устаткування та складу компонентів, які беруть участь у формуванні мікробної біоплівки на ньому.

Література

1. Food poisoning incidents in France in 1998 / S. Haeghebaert, F. Le Querrec, V. Vaillant and other // *Bull Epidemiol Hebdomad.* – 2001. – P. 65–70.
2. Using enzymes to remove biofilms of bacterial isolates sampled in the food-industry / Yannick Lequette, Gauthier Boels, Martine Clarisse, Christine Faille // *Biofouling.* – 2010. – Vol.26, №4. – P. 421–431.
3. Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review / F. Pe´rez-Rodríguez, A. Valero, E. Carrasco and other // *Trends Food Sci. Technol.* – 2008. – P. 131–144.
4. Costerton J. W. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections / J.W. Costerton, R. Veeh, M. Shirtliff // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol.112(10). – P. 1466–1477.
5. Kolter R. Microbial sciences: the superficial life of microbes / R. Kolter, EP. Greenberg // *Nature.* – 2006. – Vol.441. – P. 300–302.
6. O'Toole G. A. Biofilm formation as microbial development / G. A. O'Toole, H. Kaplan, R. Kolter // *Annu Rev Microbiol.* – 2000. – № 54. – P. 49–79.
7. Prigent-Combaret C. Abiotic surface sensing and biofilm – dependent regulation of gene expression in *Echerichia coli* / C. Prigent-Combaret, O. Vidal, C. Dorel // *J. Bacteriol.* – 1999. – № 181. – P. 5993–6002.

8. Carpentier B. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry / B. Carpentier, O. Cerf // S. Appl. Bacteriol. – 1993. – № 75. – P. 499–511.
9. Anand Y.H. Mechanism of bacterial adhesion and pathogenesis of implant and tissue infections. Handbook of bacterial adhesion: principles, methods and applications / Y.H. Anand, R.S. Friedman // – 2000. – P. 1–27.
10. O'Toole G. A. The initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WC 365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis / G. A. O'Toole, R. Kolter // Mol. Microbiol. – 1998. – № 28. – P. 449–461.
11. Platt L.A. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: defining the robes of flagella, motility, chemotaxis and type I pili / L.A. Platt, R. Kolter // Mol. Microbiol. – 1998. – № 30. – P. 285–294.
12. Augustin M. Assessment of enzymatic cleaning agents and disinfectants against bacterial biofilms / M. Augustin, T. Ali – Vehmas, F. Atroshi // S. Pharmacol Sci. – 2004. – №7. – P. 55–64.
13. Speziale P. Prevention and treatment of *Staphylococcus* biofilm / P. Speziale, L. Visai, S. Rind // Curr. Med. Chem. – 2008. – №15. – P. 3185–3195.
14. Branda S.S. A major prtein component of the *Bacillus subtilis* biofilm matrix / S.S. Branda, F. Chu, D.B. Kearns et al // Mol. Microbiol. – 2006. – №59. – P. 1229–1238.
15. Hiansa S.M. Biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* WCS 365:a role for Lap D / S.M. Hiansa, G. A. O'Toole // Microbiology. – 2006. – №152. – P. 1375–1383.
16. Costerton S.W. Bacterial biofilm in nature and disease / S.W. Costerton, K.S. Cheng, G.G. Geesey // Annu Rev. Microbiol. – 1987. – № 41. – P. 435–469.
17. Wolfaadt G.M. Multicellular organization in a degradative biofilm community / G.M. Wolfaadt, J.R. Sawrenre // Appl. Environ Microbiol. – 1994. – №60. – P. 434–446.
18. Zotova E.A. Microbial biofilms in food processing industry – Should they a concern? / E.A. Zotova // International Journal of Food Microbiology. – 1994. – №23. – P. 125–148.
19. Marsch P. D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes / P. D. Marsch // Microbiology. – 2003. – № 149. – P. 279–294.
20. Маянский А.Н. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение / А.Н. Маянский, И.В. Чеботарь // Журнал микробиологии. 2011. – №1. – С.101–108.
21. Volkova H. Biofilms and hygiene on dairy farms and in the dairy industry: sanitation chemical products and their effectiveness on biofilms – a review / H. Volkova, V. Babak // Czech S. Food Sci. – 2008. – Vol. 26. – P. 309–323.
22. Кухтин М.Д. Теоретичне обґрунтування ветеринарно-санітарних нормативів і розроблення системи контролю виробництва молока коров'ячого незбираного охолодженого : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. вет. наук : спец. 16.00.06 “Тігієна тварин та ветеринарна санітарія” / М.Д. Кухтин. – Львів, 2011. – 40, [1] с.

23. Vidal D.R. Bacterial biofilms and resistance to disinfectants / D.R. Vidal, C. Ragot // *Annales Pharmaceutiques Francaises*. – 2007. – №55. – P. 49–54.
24. Дж. Хола Очистка и дезинфекция. Режим доступа: <http://baker-group.net/frozen-food/723-cleaning-and-disinfection.html>.
25. Springthorpe S. Disinfection of surfaces and equipment / S. Springthorpe // *J. of the Canadian dental Association*. – 2000. – №66. – P. 58–60.
26. Costerton J. W. Microbiol biofilms / J. W. Costerton, Z. Lewandowski, D. E. Caldwell // *Ann. Rev. Microbiol.* – 1995. – № 49. – P. 711–745.
27. Levis K. Riddle of Biofilm Resistance / K. Levis // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2001. – Vol. 45, № 4. – P. 999–1007.

Summary

Kuchtyn M.D., Perkiy Yu.B., Semaniuk V.I., Murska S.D/

MODERN LOOKS TO SANITARY TREATMENT

TECHNOLOGICAL EQUIPMENT IN FOOD INDUSTRY

The analysis of publications is conducted from the problems of fight against microbials biofilms on a technological equipment for the production of safe dairies. It is set that perspective direction in a fight against microbials biofilms is creation of new ferments preparations for the sanitization of technological equipment.

Key words: *microbials biofilms, dairies, safety, technological equipment, sanitization.*

Рецензент – к.вет.н., професор Козак М.В.