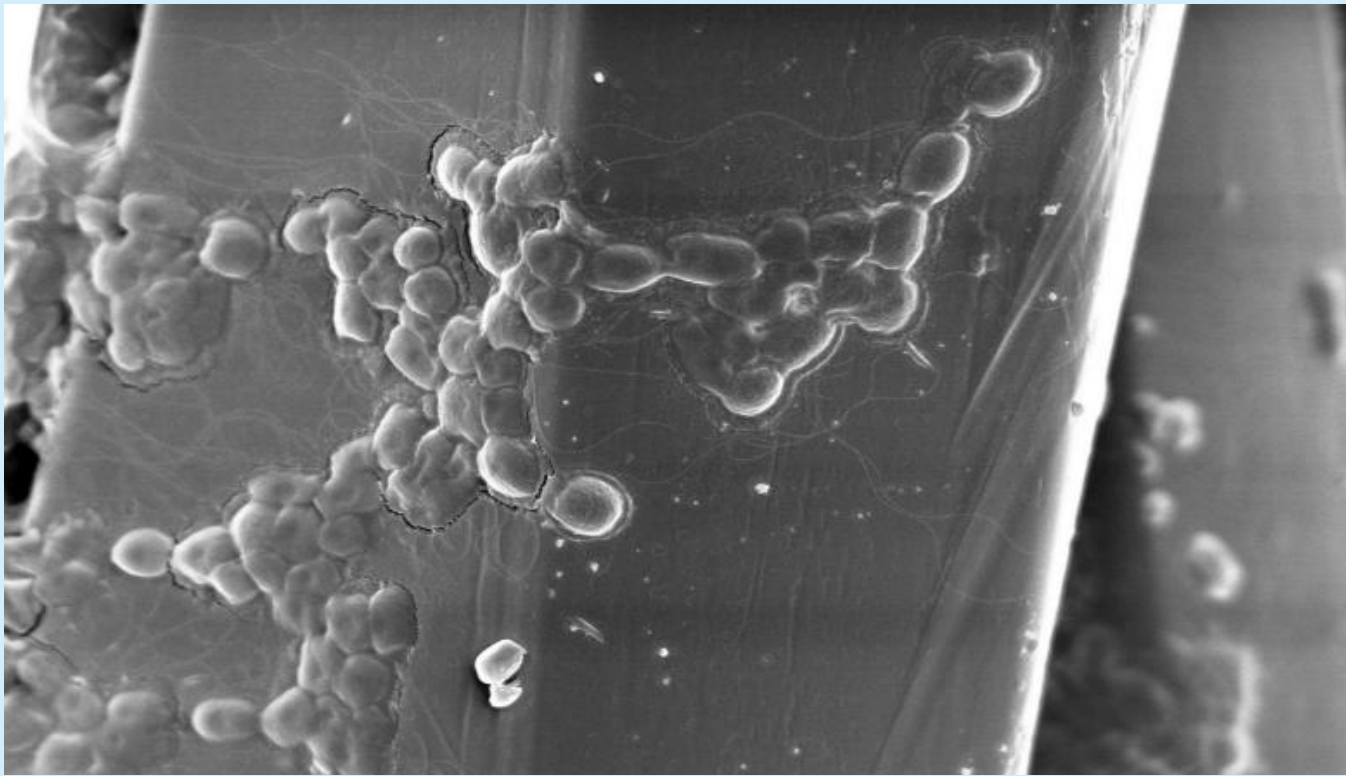
ANNA ŁAWNICZEK-WAŁCZYK

BIOFILM I HIGIENA POWIERZCHNI – PRAKTYCZNY INFORMATOR



CIOP PIB 75 LAT

Opracowano w ramach VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie zadań służb państwowych ze środków Ministerstwa Rodziny i Polityki Społecznej. Projekt nr I.PN.02,

pt. Biofilmotwórcze patogeny – opracowanie nowoczesnych narzędzi do monitorowania poziomu czystości mikrobiologicznej powierzchni

Koordynator Programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Autorki i Autorzy:
1. dr Anna Ławniczek-Wałczyk
2. dr hab. n.med. Marcin Cyprowski
3. dr Małgorzata Gołofit-Szymczak
4. dr hab. inż. n. med. i n. o zdr. Agata Stobnicka-Kupiec
5. prof. dr hab. n. med. Rafał L. Górny

Projekt okładki: Kamil Jach

Opracowanie redakcyjne: Kamil Jach

Opracowanie graficzne: Jolanta Maj, Cezary Szymański

DOI: 10.54215/Biofilm_i_higienia_powierzchni_praktyczny_informator_Lawniczek_Walczyk

© Copyright by Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Warszawa 2025

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

ul. Czerniakowska 16,

00-701 Warszawa

tel. (22) 623 36 98,

www.ciop.pl

Spis treści

1. Biofilm – ukryty wróg czystości 4

1.1. Co to jest biofilm 4

1.2. Etapy powstawania biofilmu 4

1.3. Jakie są rodzaje biofilmu 5

2. Środowiska występowania i konsekwencje obecności biofilmu 7

2.1. Sektor spożywczy 7

2.2. Szpitale i branża medyczna 8

2.3. Pozostałe gałęzie przemysłu 10

3. Zaniedbania prowadzące do rozwoju biofilmu 11

4. Biofilmy – cichy koszt dla gospodarki 13

5. Metody detekcji biofilmów 15

6. Profilaktyka biofilmu 20

6.1. Organizacja, zoning i EMP 20

6.2. Rola szkoleń personelu w utrzymaniu higieny 24

6.3. *Strategie kontroli szkodliwych biofilmów* 25

BIBLIOGRAFIA 28

1. Biofilm - ukryty wróg czystości

1.1. Co to jest biofilm

Biofilmem nazywamy złożoną wielowarstwową strukturę tworzoną przez mikroorganizmy takie jak bakterie i grzyby. W biofilmie komórki mikroorganizmów osadzone są w lepkiej osłonie - macierzy polisacharydowej (EPS), pełniącej rolę ochronną dla całej struktury. Dzięki niej komórki mikroorganizmów są bardziej odporne na działanie środków myjących, dezynfekcyjnych oraz antybiotyków niż komórki występujące poza biofilmem. Ze względu na ich wpływ na zdrowie i środowisko biofilmy dzieli się na trzy grupy: pożyteczne, neutralne i szkodliwe. Pożyteczne biofilmy odgrywają kluczową rolę w wielu procesach, takich jak oczyszczanie ścieków, biodegradacja i bioremediacja. Natomiast szkodliwe biofilmy zagrażają bezpieczeństwu żywności, powodują choroby roślin, zwierząt i ludzi (Yin i wsp., 2022).

Zdolność mikroorganizmów do szybkiego przylegania do różnorodnych powierzchni takich jak metal, plastik, szkło, drewno i materiały kompozytowe sprawia, że całkowita eliminacja biofilmu jest bardzo trudna i wymaga wieloetapowego podejścia (Galié i wsp., 2018; Maillard i wsp., 2023). Dlatego biofilm pojawiający się na powierzchniach i narzędziach jest jednym z największych wyzwań w utrzymaniu higieny, zarówno w przemyśle, jak i w ochronie zdrowia.

Gdzie tworzy się biofilm?

Wszędzie tam, gdzie jest wilgoć, składniki odżywcze i trudno dostępne zakamarki: rury, zawory, powierzchnie robocze, narzędzia, a nawet skóra i odzież.

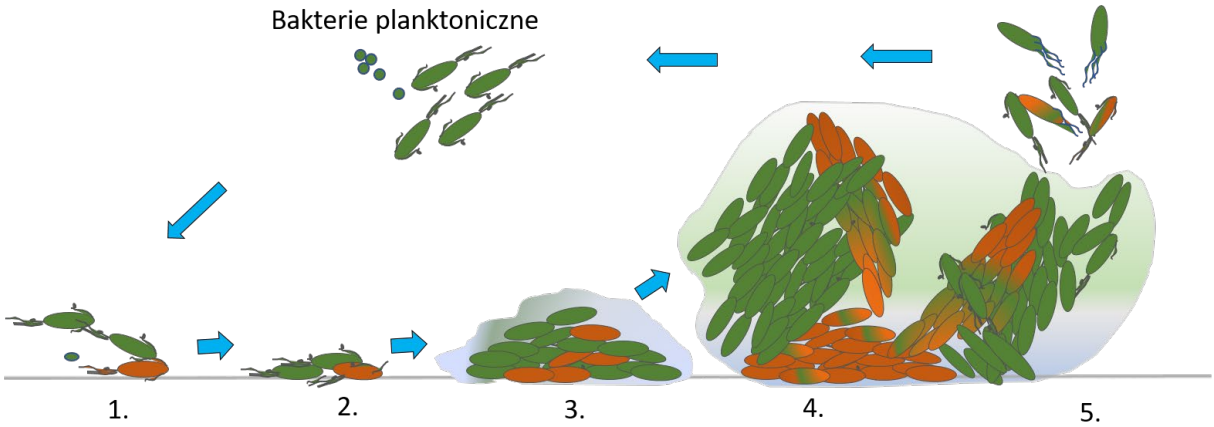
Dlaczego to problem?

Biofilm stanowi źródło patogenów, które mogą się uwalniać i zanieczyszczać żywność, sprzęt medyczny lub ranę pacjenta. Jego obecność jest często niewidoczna gołym okiem. Mikroorganizmy w biofilmie są nawet 1000× bardziej odporne na środki dezynfekcyjne.

1.2. Etapy powstawania biofilmu

Proces formowania biofilmu przebiega w kilku charakterystycznych krokach, które prowadzą od przypadkowego kontaktu pojedynczych komórek z powierzchnią aż do stworzenia złożonej, struktury (ryc. 1):

1) **Nietrwałe przyłączenie** – pierwsze komórki planktoniczne osiadają na powierzchni, lecz wciąż mogą się łatwo odłączyć.
2) **Trwała adhezja** – mikroorganizmy zaczynają wydzielać substancje macierzy pozakomórkowej (EPS), które działają jak naturalny „klej", stabilizując ich obecność.
3) **Wczesne stadium kolonizacji** – intensywne namnażanie prowadzi do powstania niewielkich skupisk otoczonych warstwą ochronną.
4) **Dojrzała struktura biofilmu** – biofilm przyjmuje formę trójwymiarowej architektury z systemem kanałów, które ułatwiają transport składników odżywczych i metabolitów.
5) **Dyspersja** – część komórek odłącza się i w formie planktonicznej kolonizuje nowe miejsca, rozpoczynając kolejne cykle rozwoju biofilmu.



Rycina 1. Etapy powstawania biofilmu (Ławniczek-Wałczyk i Górny, 2022)

1.3. Jakie są rodzaje biofilmu?

Należy mieć na uwadze, że biofilm nie zawsze wygląda tak samo. Jego skład i struktura zależą od wielu zmiennych warunków środowiskowych oraz tworzących go mikroorganizmów. Wyróżniamy kilka podstawowych typów biofilmu (Wingender i wsp., 2011; Flemming i wsp., 2023; Maillard i wsp., 2023):

I. **<u>Ze względu na skład mikrobiologiczny biofilm dzielimy na:</u>**

- **Biofilm jednorodny (single-species biofilm)**
  Tworzony przez jeden gatunek bakterii, np. *Pseudomonas aeruginosa* czy *Listeria monocytogenes*.
  Charakterystyka: prosta struktura, często wykorzystywany w badaniach laboratoryjnych; w przyrodzie spotykany rzadziej.

- **Biofilm mieszany (multi-species biofilm)**

  Tworzony przez wiele gatunków mikroorganizmów, takich jak bakterie, grzyby czy archeony.
  Charakterystyka: bardziej stabilny, odporny i zdolny do przetrwania dzięki współpracy międzygatunkowej.

II. Ze względu na strukturę i miejsce występowania

- **Biofilm mokry (wet-surface biofilm, WSB)**

  Rozwija się na powierzchniach stale lub okresowo wilgotnych, np. w rurach, odpływach, wnękach, systemach CIP czy endoskopach.
  Charakterystyka: złożone, wielogatunkowe wspólnoty w macierzy EPS; klasyczny i najlepiej poznany model biofilmu.
- **Biofilm suchy (dry-surface biofilm, DSB)**

  Powstaje na powierzchniach o niskiej wilgotności, np. na blatach, klamkach, sprzęcie szpitalnym czy w halach produkcyjnych.
  Charakterystyka: zawiera bakterie często w stanie VBNC (viable but non-culturable), odporne na dezynfekcję i trudne do wykrycia klasycznymi metodami.
- **Biofilm planktoniczno-agregatowy (non-surface-attached aggregates)**

  Tworzą go agregaty komórek zawieszonych w cieczy, niezwiązane z powierzchnią – np. w płynach ustrojowych czy wodzie pitnej.
  Charakterystyka: nie odpowiada klasycznemu modelowi pięciu etapów, ale wykazuje podobną odporność i obecność macierzy EPS.
- **Biofilm medyczny**

  Tworzy się na biomateriałach, takich jak implanty, cewniki, protezy czy narzędzia medyczne.
  Charakterystyka: prowadzi do przewlekłych, trudnych do leczenia zakażeń, odpornych zarówno na antybiotyki, jak i środki dezynfekcyjne.

Rycina 2. Rodzaje biofilmów

2. Środowiska występowania i konsekwencje obecności biofilmu

2.1. Sektor spożywczy

Biofilmy stanowią jedno z największych wyzwań dla bezpieczeństwa mikrobiologicznego w przemyśle spożywczym. Mogą one rozwijać się na niemal wszystkich rodzajach powierzchni mających kontakt z żywnością, począwszy od ramp rozładunkowych, linii produkcyjnych, zbiorników i systemów CIP, aż po odpływy, posadzki czy trudno dostępne elementy maszyn. Mikroorganizmy w biofilmach są zdolne do przetrwania w niesprzyjających warunkach przez długi czas (nawet 60 miesięcy), wykazują zwiększoną odporność na środki czyszczące i dezynfekcyjne oraz stanowią rezerwuar patogenów i drobnoustrojów psujących żywność (Kramer i wsp., 2006; Rather i wsp., 2021; Sharan i wsp., 2022).

Szczególnie wrażliwe gałęzie przemysłu spożywczego:

- Przetwórstwo mięsa i drobiu
- Przemysł mleczarski
- Przetwórstwo warzyw

Patogeny tworzące biofilmy:

- *Listeria monocytogenes* – szczególnie niebezpieczna w zakładach mleczarskich, przetwórstwie mięsnym i rybnym.
- *Salmonella enterica* – zdolna do tworzenia biofilmów na stali nierdzewnej, plastiku i innych materiałach w zakładach drobiarskich i mięsnych.
- *Escherichia coli* (w tym szczepy ESBL i STEC) – biofilmy w środowisku produkcyjnym zwiększają ryzyko przeniesienia oporności na antybiotyki.
- *Staphylococcus aureus* (w tym MRSA) – biofilm na powierzchniach kontaktujących się z mięsem i produktami mlecznymi.
- *Bacillus cereus* – ta ruchliwa laseczka łatwo formuje biofilm na suchych i mokrych powierzchniach, często występuje w przemyśle mleczarskim, powoduje zatrucia pokarmowe.

Konsekwencje biofilmu:

- zanieczyszczanie powierzchni roboczych, taśm transportowych, urządzeń chłodniczych i opakowań.
- utrzymywanie się patogenów w trudno dostępnych miejscach (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7).
- skażenie gotowych wyrobów i skrócenie ich terminu przydatności.
- znaczne straty ekonomiczne związane z wycofywaniem partii produktów.

Trudności w kontroli

- **Wysoka odporność biofilmu** na środki chemiczne i dezynfekcyjne – drobnoustroje w biofilmie mogą być nawet 1000 razy bardziej oporne niż w formie planktonicznej.
- **Brak jednoznacznych standardów ilościowych** – obecnie stosuje się głównie trendy i wartości orientacyjne
- **Ograniczenia metod monitoringu** – wymazy, płytki kontaktowe czy testy ATP często nie wykrywają całego ryzyka, szczególnie w biofilmach suchych (ang. *dry-surface biofilm*).
- **Czynnik ludzki** – skracanie procedur mycia, niedokładne czyszczenie trudno dostępnych miejsc i presja czasu prowadzą do powstawania trwałych biofilmów.

2.2 Szpitale i branża medyczna

W środowisku szpitalnym, biofilmy stwarzają największe zagrożenie zasiedlając powierzchnie robocze (zwłaszcza tzw. „*high-touch surfaces*" wokół pacjenta), instalacje wodne oraz na lub wewnątrz wyrobów medycznych (np. endoskopy, cewniki, implanty i inne). Działają one jak aktywne rezerwuary patogenów i zwiększają ryzyko transmisji krzyżowej i zakażeń związanych z opieką zdrowotną (ang. *Healthcare-Associated Infections*, HAI) (WHO, 2022; Assefa i wsp., 2022).

- **Zakażenia HAI** to infekcje, które pacjent nabywa w trakcie pobytu w szpitalu lub innej placówce medycznej. Najczęściej dotyczą one dróg moczowych, ran pooperacyjnych, płuc u pacjentów wentylowanych mechanicznie oraz krwi w przypadku stosowania cewników.
- **HAI** stanowią poważne wyzwanie, ponieważ często **są wywoływane przez drobnoustroje wielolekooporne**, takie jak MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*), *Klebsiella pneumoniae* produkująca ESBL (beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum) lub *Pseudomonas aeruginosa*.
- Według danych WHO, 1 na 10 hospitalizowanych pacjentów doświadcza HAI, co wiąże się z wyższą śmiertelnością, wydłużonym czasem pobytu w szpitalu i znacznymi kosztami opieki zdrowotnej (WHO, 2022; Assefa i wsp., 2022).

Szacuje się, że biofilmy są odpowiedzialne za ponad 65% zakażeń szpitalnych, 80% zakażeń przewlekłych i 60% wszystkich zakażeń bakteryjnych u ludzi. Co sprawia, że ich leczenie jest wyjątkowo trudne i często przewlekłe. Coraz większą uwagę zwraca się także na tzw. biofilmy suche (DSB), które tworzą się na szpitalnych powierzchniach wyglądających na pozornie czyste. Niestety takie ogniska biofilmu są trudne do usunięcia i mogą łatwo przenosić patogeny między pacjentami i personelem (Assefa i wsp., 2022, Sehulster i wsp., 2004; Percival i wsp., 2015; Amaeze i wsp., 2024).

Miejsca szczególnie zagrożone biofilmem

- Wyroby i kanały złożone: endoskopy giętkie (kanały powietrze-woda), cewniki naczyniowe i moczowe, implanty ortopedyczne i kardiologiczne. Minimalne pozostałości materii organicznej i wilgoci sprzyjają utrwalaniu biofilmu i reinfekcjom.
- Otoczenie pacjenta: łóżka, poręcze, blaty, przyciski, klamki – zwłaszcza „high-touch" z okresowym zawilgoceniem/ zabrudzeniem. DSB mogą utrzymywać się tygodniami, a nawet miesiącami.
- Woda i instalacje wodne: krany, perlatory, prysznice, zlewy, syfony.
- Brudne dozowniki rękawic, środków do mycia.

Najważniejsze patogeny tworzące biofilmy:

- Bakterie Gram-ujemne: *Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae, Acinetobacter baumannii*, Citrobacter spp. – wysoka zdolność do tworzenia biofilmu w wodzie lub na urządzeniach, wielolekooporność.
- Bakterie Gram-dodatnie: *Enterococcus faecium* i *E. faecalis* (w tym VRE), *Staphylococcus aureus* (w tym MRSA), koagulazo-ujemne gronkowce *S. epidermidis*), *Clostridioides difficile* – biofilm na implantach i cewnikach, zakażenia przewlekłe.
- Patogeny wodne/oporne środowiskowo: *Legionella pneumophila* w instalacjach wodnych; także mieszane biofilmy na suchych powierzchniach środowiskowych.
- Grzyby i drożdże: *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp. – odgrywają istotną rolę w zakażeniach oportunistycznych, charakteryzując się wysoką opornością na środki przeciwgrzybicze i zdolnością do kolonizacji powierzchni medycznych oraz środowiskowych.

Konsekwencje

- Źródło przewlekłych i nawracających zakażeń (np. związanych z cewnikami, implantami, endoskopami).
- Zwiększona oporność na antybiotyki i środki dezynfekcyjne trudniejsze leczenie i eradykacja.
- Wydłużony czas hospitalizacji i wyższe koszty leczenia.
- Zwiększone ryzyko powikłań pooperacyjnych i zakażeń szpitalnych (HAI).
- Potencjalna transmisja poprzez ręce pracowników.

Trudności w kontroli

- Biofilm rozwija się w trudno dostępnych miejscach i urządzeniach
- Obecność suchych biofilmów (DSB) na powierzchniach wizualnie czystych i suchych.
- Niewystarczająca skuteczność standardowych procedur mycia i dezynfekcji.
- Brak jednoznacznych kryteriów i wartości referencyjnych do oceny skażenia mikrobiologicznego powierzchni.
- Trudności w monitoringu – ograniczona czułość metod klasycznych (wymazy, RODAC), niepewność w interpretacji wyników.
- Presja czasu i brak zasobów (personel, finanse), skutkujące skracaniem lub pomijaniem procedur higienicznych.

2.3. Pozostałe gałęzie przemysłu

Biofilm stanowi poważne wyzwanie nie tylko w medycynie czy przemyśle spożywczym, ale praktycznie we wszystkich sektorach, w których obecne są woda, składniki odżywcze i powierzchnie kontaktowe. Mikroorganizmy zdolne do tworzenia biofilmów mogą kolonizować wielkie instalacje przemysłowe, linie technologiczne, a nawet infrastrukturę wodną i transportową. Skutki ich obecności mogą być bardzo rozległe. Stanowią one istotne zagrożenie dla zdrowia publicznego, przez psucie produktów i straty ekonomiczne, aż po uszkodzenia techniczne i korozję materiałów. Co istotne, biofilm jest rezerwuarem drobnoustrojów opornych na środki przeciwdrobnoustrojowe, a ich transmisja z jednego środowiska do drugiego znacznie utrudnia walkę z biofilmem.

Poniżej przestawiono przykłady występowania biofilmu i jego negatywne skutki w wybranych gałęziach przemysłu (tabela 1).

Tabela 1. Przykłady pozostałych gałęzi przemysłu, w których występuje problem z biofilmem (Zumstag i wsp., 2017; Yao i wsp., 2019; Agustín i wsp., 2023; Knisz i wsp., 2023; Gautam i wsp., 2024; Amador i wsp., 2025).

Gałąź przemysłu	Występowanie	Konsekwencje	Mikroorganizmy
Farmaceutyczny i kosmetyczny	Linie produkcyjne, zbiorniki, filtry	Kontaminacja preparatów, utrata sterylności, wycofywanie partii, straty finansowe	*Burkholderia cepacia complex*, *Ralstonia pickettii*, *Pseudomonas* spp.
Wodociągi i przemysł wodny	Rury, zbiorniki, krany, filtry	Pogorszenie jakości wody, rozwój *Legionella*, ryzyko chorób zakaźnych	*Legionella pneumophila*, *Pseudomonas* spp., *Mycobacterium avium complex*
Energetyka i petrochemia	Rurociągi, systemy chłodnicze, zbiorniki	Korozja (MIC), awarie instalacji, spadek wydajności systemów	*Desulfovibrio* spp. (bakterie siarczanowe), *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* spp.
Papierniczy i celulozowy	Obiegi wodne, maszyny papiernicze	Zatory, pogorszenie jakości papieru, przerwy w produkcji	*Tepidimonas* spp., *Chryseobacterium* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter* spp.
Tekstylny i włókienniczy	Zbiorniki, układy wodne	Skażenie mikrobiologiczne tkanin, spadek jakości produkcji	*Pseudomonas* spp., *Bacillus subtilis*, *Micrococcus* spp., *Aspergillus* spp.
Rolnictwo i akwakultura	Systemy nawadniające, zbiorniki hodowlane	Rezerwuary patogenów, choroby zwierząt i roślin, straty ekonomiczne	*Aeromonas hydrophila*, *Vibrio* spp., E. coli, *Flavobacterium* spp., *Pseudomonas* spp.
Transport morski	Kadłuby statków, układy balastowe	Biofouling, zwiększone zużycie paliwa, przenoszenie gatunków inwazyjnych	*Vibrio* spp., Alteromonas spp., Psychrobacter spp., *Pseudomonas* spp., glony (*Navicula* spp.), grzyby morskie

3. Zaniedbania prowadzące do rozwoju biofilmu

Powstawanie biofilmu bardzo rzadko wynika z jednego błędu, a zwykle jest efektem całego łańcucha zaniedbań, począwszy od pojawienia się problemów w trakcie procesu technologicznego, przez problemy infrastrukturalne, aż po brak nadzoru i niewłaściwe nawyki pracowników. Dodatkowo, trudnością w utrzymaniu higieny sprzyjają czynniki środowiskowe, które pozwalają mikroorganizmom rozwijać się w trudno dostępnych miejscach. Zrozumienie tych „słabości" pozwala nie tylko lepiej zapobiegać zanieczyszczeniom i skuteczniej chronić bezpieczeństwo produktów, ale przede wszystkim pozwala chronić ludzkie zdrowie (ryc. 3) (Maillard i wsp., 2023; Amaeze i wsp., 2024).

Rycina 3. Czynniki wpływające na rozwój biofilmu

Najczęstsze błędy sprzyjające rozwojowi biofilmu można podzielić na kilka kategorii:

Proces technologiczny:

- Skracanie lub pomijanie cykli mycia i dezynfekcji.
- Używanie nieodpowiednich lub zbyt słabych środków biobójczych.
- Stosowanie nieodpowiednich środków myjących i dezynfekcyjnych, źle dobrane stężenia i czasy kontaktu → selekcja opornych mikroorganizmów.
- Spryskiwanie zabrudzonych powierzchni bez wcześniejszego mycia → usunięcie tylko warstwy powierzchniowej biofilmu, uwolnienie komórek z DSB.
- Myjki wysokociśnieniowe → generowanie bioaerozoli zawierających Listeria monocytogenes, *E. coli*, *S. aureus* i inne
- Brak walidacji skuteczności procesów (CIP, sterylizacja sprzętu medycznego).
- Niedokładna sterylizacja sprzętu wielokrotnego użytku (endoskopy, cewniki).
- Pomijanie mycia sprzętu transportowego i elementów trudnodostępnych (np. osłon nad kołami wózków).
- Współistnienie procesów „czystych" i „brudnych" w jednej hali produkcyjnej

Infrastruktura i lokalizacja:

- Niewłaściwe projektowanie hal i oddziałów – liczne szczeliny, trudno dostępne miejsca, łączenia ścian i podłóg.
- Uszkodzone powierzchnie robocze (porysowana stal, spękany plastik) sprzyjające adhezji bakterii.
- Stare instalacje wodne – rezerwuary *Legionella* spp. i innych patogenów.
- Złe projektowanie systemów wentylacji (brak nad-/podciśnienia w strefach ryzyka).
- Odpływy, dreny i zawory jako stałe ogniska biofilmów.
- Słaba kontrola przepływu powietrza i wody (np. brak filtracji, zastoiska, brak gradientu ciśnień).
- Niedostateczna separacja stref ryzyka (brak barier higienicznych, śluz sanitarnych, zoningu).

Działania organizacyjne

- Trudności w zapewnieniu jednokierunkowego przepływu pracowników, produktów
- Brak całościowych programów monitoringu: np. EMP (Environmental Monitoring Program) w przemyśle spożywczym i IPC (Infection Prevention and Control)
  w szpitalach.
- Zbyt rzadkie kontrole czystości mikrobiologicznej i brak analizy trendów.
- Formalne traktowanie programów higienicznych, bez realnego wdrożenia.
- Zbyt późna reakcja na wyniki niepożądane.
- Ograniczanie budżetu na monitoring, środki czyszczące i szkolenia.

Czynnik ludzki

- Nieprzestrzeganie higieny rąk – główny wektor transmisji w szpitalach i zakładach produkcyjnych.
- Nieprawidłowe użycie rękawiczek i środków ochrony osobistej.
- Skracanie procedur z powodu pośpiechu i rutyny.
- Brak szkoleń oraz niska świadomość pracowników o zagrożeniach mikrobiologicznych.
- Przenoszenie patogenów przez obuwie i odzież pomiędzy strefami o różnym stopniu ryzyka.

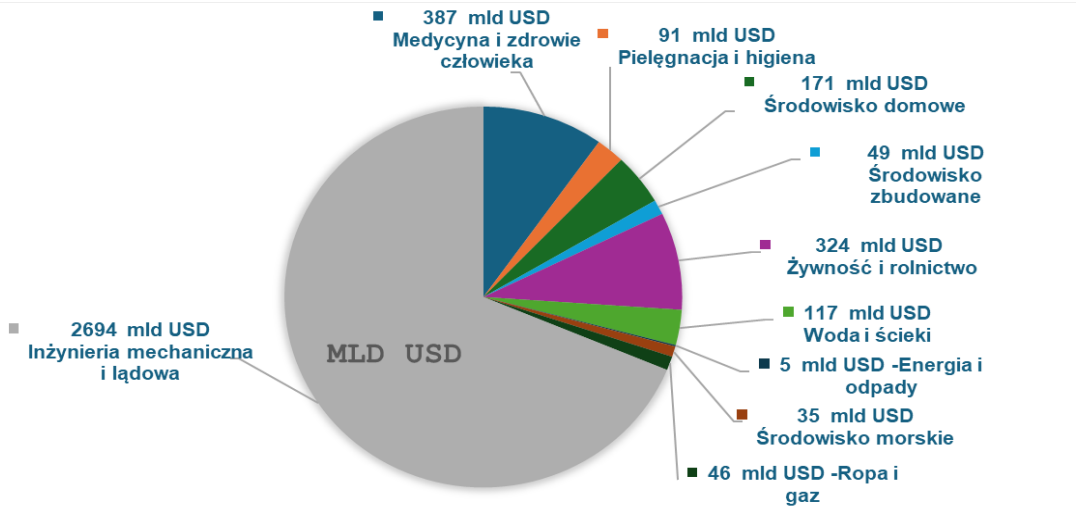
Inne czynniki (środowisko)

- Klimatyzacja i systemy powietrzne jako źródło aerozoli z biofilmotwórczymi patogenami.
- Bioaerozole z hal produkcyjnych i oddziałów medycznych.
- Obecność owadów i gryzoni sprzyjająca rozprzestrzenianiu mikroorganizmów.
- Brak kontroli temperatury i wilgotności w pomieszczeniach magazynowych i użytkowych.
- Niedocenianie roli biofilmów suchych (DSB), które są trudniejsze do wykrycia i usunięcia niż klasyczne biofilmy mokre (WSB).
- Zbyt rzadkie lub źle zaplanowane kontrole mikrobiologiczne.
- Brak analizy danych trendowych (reakcja tylko na przekroczenia, zamiast działań prewencyjnych).
- Niedostosowanie środków dezynfekcyjnych do typowych mikroorganizmów i biofilmów występujących w danym środowisku.

4. Biofilmy – cichy koszt dla gospodarki

Według danych WHO, co roku na świecie prawie 600 milionów ludzi choruje, a 420 tysięcy umiera z powodu chorób przenoszonych przez żywność (WHO, 2015). Biofilm to nie tylko problem w środowisku produkcji żywności, ale również ogromne obciążenie finansowe dla całej gospodarki (ryc. 4). Szacuje się, że globalne koszty związane z walką z biofilmem przekraczają nawet 4 biliony dolarów rocznie. Obejmują one leczenie infekcji, utrzymanie higieny, ochronę instalacji oraz działania związane ze zwalczaniem biofilmów. Największe obciążenie dotyczy opieki zdrowotnej.

Wydatki w tym sektorze sięgają około 386 miliardów dolarów rocznie i obejmują między innymi leczenie przewlekłych ran oraz skutki nadużywania antybiotyków. Jeszcze większe koszty generuje przemysł ciężki i inżynieria. Straty sięgają tu 2,6 biliona dolarów i wynikają z korozji rurociągów, maszyn i konstrukcji wywołanej przez mikroorganizmy. Znaczące obciążenia finansowe dotyczą również sektora spożywczego i rolnictwa. Szacuje się, że ponad 324 miliardy dolarów rocznie przeznacza się na zwalczanie biofilmów w gospodarstwach, uprawach i opakowaniach żywności (Cámara i wsp., 2022).



Rycina 4. Globalne koszty walki z biofilmami wg sektorów (Cámara i wsp., 2022)

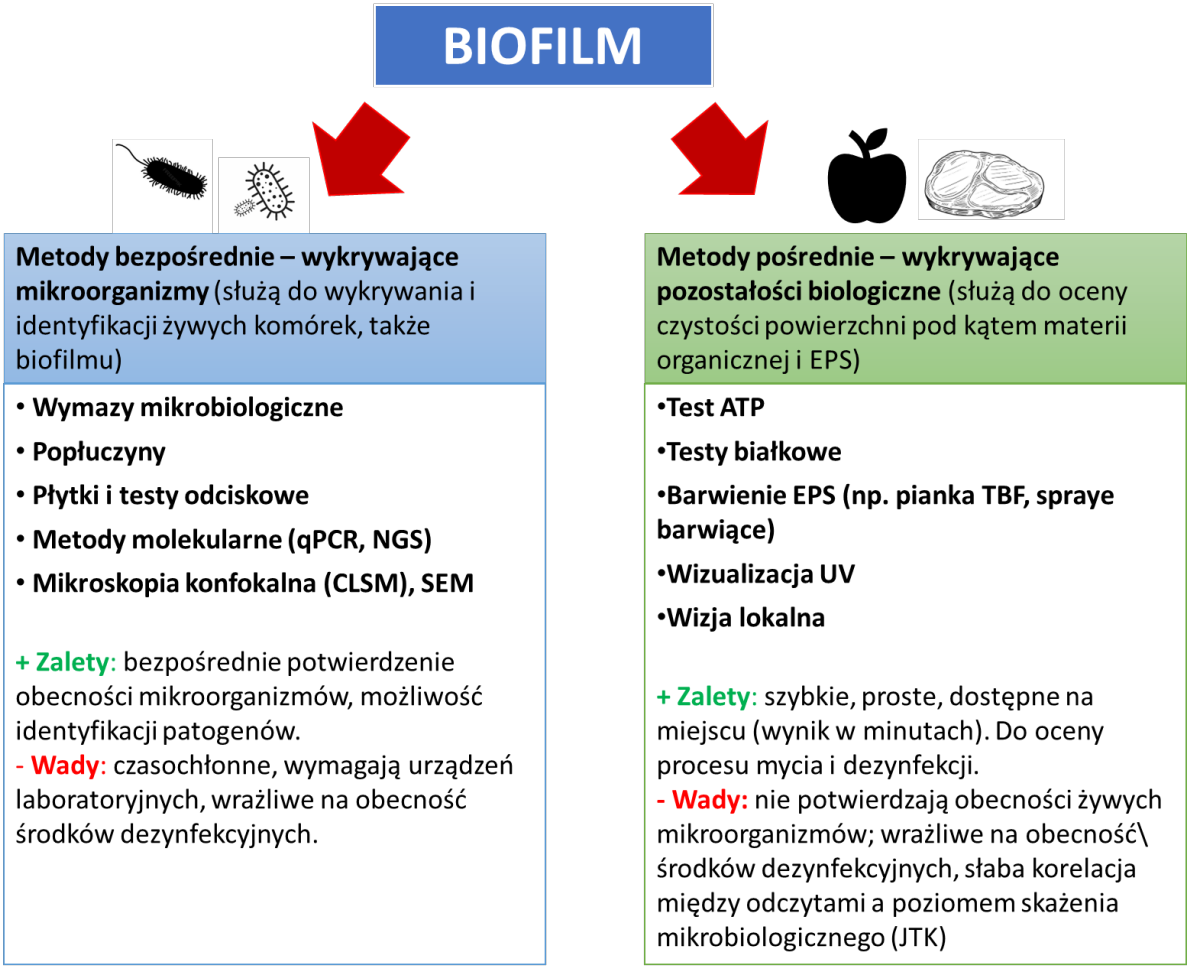
Prewencja się opłaca

Wycofanie żywności z rynku to nie tylko sprawa zdrowia publicznego, ale też ogromne straty finansowe dla firmy. Badania Grocery Manufacturers Association (GMA, 2011) pokazały, że w przypadku firm, które doświadczyły takiej sytuacji, ponad 3/4 z nich poniosło koszty sięgające nawet 30 mln dolarów, a niemal co czwarta firma straciła od 30 do 100 mln. To wyłącznie koszty bezpośrednie – obejmujące m.in. ściągnięcie produktów z półek i magazynów, organizację akcji kryzysowych, utylizację towaru, powiadomienia dla klientów i organów nadzoru, a także koszty dochodzenia, czyszczenia i dezynfekcji.

Jeszcze poważniejszy jest jednak wpływ na reputację. Dla porównania, roczne nakłady na działania profilaktyczne, które obejmują systemy monitorowania, kontrolę jakości, audyty i szkolenia wynoszą zwykle zaledwie od kilku do kilkudziesięciu tysięcy USD, czyli mniej niż 10% przeciętnego kosztu recallu w małej firmie. W tym samym badaniu wszyscy ankietowani producenci (np. koncerny General Mills, Coca-Cola, Kellogg) stwierdzili, że utrata zaufania konsumentów to największe wyzwanie po zapewnieniu bezpieczeństwa zdrowotnego. Odbudowa marki po kryzysie trwa latami i często kosztuje więcej niż samo wycofanie produktu. Stąd też, inwestycja w prewencję stanowi zaledwie ułamek potencjalnych strat wynikających z zakażenia biofilmem.

5. Metody detekcji biofilmów

Biofilm ze względu na swoją złożoną strukturę i ochronną macierz EPS jest znacznie trudniejszy do wykrycia niż pojedyncze komórki planktoniczne. Stąd też, obecnie nie ma jednego uniwersalnego sposobu wykrywania biofilmu. Wybór metody detekcji zależy od rodzaju badanej powierzchni, od tego, jak szybko potrzebny jest wynik, oraz przede wszystkim od celu kontroli, czy ma to być szybka weryfikacja, czy też potwierdzenie obecności konkretnych patogenów. W praktyce często stosuje się zarówno metody bezpośrednie, które wykrywają żywe mikroorganizmy i umożliwiają ich identyfikację, jak i metody pośrednie, pozwalające ocenić pozostałości biologiczne takie jak ATP, białka czy matrycę biofilmu (EPS) (ryc. 5).



Rycina 5. Pośrednie i bezpośrednie metody badania powierzchni

Połączenie obu tych podejść daje pełniejszy obraz stanu higienicznego i pozwala wykryć zarówno „młode", jak i dojrzałe ogniska biofilmu. W tabelach 2 i 3 omówiono zalety i wady najważniejszych stosowanych obecnie metod kontroli biofilmów w różnych gałęziach przemysłu (Griffith, 2016; Mueller i wsp., 2009; Fürstenberg i wsp., 2023; Maillard i wsp., 2023; Chen i wsp., 2024; Waegenaar i wsp., 2024).

Tabela 2. Metody detekcji biofilmu (Mueller i wsp., 2009; Griffith, 2016; Fürstenberg i wsp., 2023; Maillard i wsp., 2023; Chen i wsp., 2024; Waegenaar i wsp., 2024).

Metoda	Rodzaj powierzchni	Zalety	Wady / ograniczenia
Wymazy powierzchniowe (wymazówka, gąbka)	Płaskie i chropowate (np. blaty, ściany, ręce pracowników)	Prosta i tania. Możliwość pobrania z trudno dostępnych miejsc, możliwość rozcieńczenia próbki i posiewu na różne podłoża. Ocena ilościowa i jakościowa.	Wymaga dodatkowych urządzeń laboratoryjnych; Wykrywa tylko żywe komórki. Wyniki dostępne dopiero po 18–72 godzinach
Płytki odciskowe, petryfilm, testy odciskowe typu dipslide	Gładkie, płaskie, dostępne powierzchnie (np. stal, szkło, plastik)	Prosta, nie wymaga posiewu. Łatwa interpretacja (kolonie na płytce testowej). Ocena jakościowa.	Brak użyteczności na powierzchniach nierównych i porowatych Nie wykrywa komórek VBNC. Płytki mogą być przerośnięte i trudne w odczycie. Problem z oceną ilościową.
Badanie popłuczyn	Trudno dostępne miejsca	Prosta i tania. Możliwość pobrania z trudno dostępnych miejsc, możliwość rozcieńczenia próbki i posiewu na różne podłoża.	Mała powtarzalność, Wymaga dodatkowych urządzeń laboratoryjnych. Wyniki dostępne dopiero po 18–72 godzinach
Test ATP	Wszystkie typy (metal, szkło, plastik, guma, ręce)	Szybki wynik (minuty). Ilościowy odczyt (RLU). Łatwy do wdrożenia w EMP	Brak rozróżnienia między ATP drobnoustrojów a resztkami organicznymi. Brak specyficzności dla biofilmów
Mikroskopia świetlna (barwienia klasyczne)	Próbki biofilmu przeniesione na szkiełko	Wizualizacja obecności biofilmu Tania i prosta	Ograniczona rozdzielczość, brak 3D. Słabe różnicowanie, wymaga doświadczonego personelu i sprzętu
Mikroskopia fluorescencyjna / CLSM (Confocal Laser Scanning Microscopy)	Powierzchnie szklane, polimerowe, metalowe (próbki laboratoryjne)	Umożliwia obserwację biofilmu in situ w 3D Analiza grubości i struktury	Droga aparatura. Raczej metoda badawcza niż rutynowa.
Spektroskopia impedancyjna (EIS) i biosensory	Metal, polimery przewodzące	Wczesne wykrycie biofilmu Pomiar w czasie rzeczywistym	Brak standaryzacji. Głównie w badaniach i R&D
qPCR, NGS (metody molekularne)	Wszystkie powierzchnie (próbki pobrane wymazem lub płukaniem)	Wysoka czułość i specyficzność Możliwość identyfikacji gatunkowej wszystkich mikroorganizmów	Kosztowne. Wymaga laboratorium i specjalistów, złożona procedura

Metody barwnikowe (np. fiolet krystaliczny, safranina)	Badanie wyizolowanych mikoorganizmów	Ocena zdolności do formowania biofilmu, ocena ilości biomasy biofilmu niskie koszty	Tylko badania modelowe. Nie nadaje się do oceny ilościowej zanieczyszczenia
Metody barwiące EPS	Gładkie, płaskie, dostępne powierzchnie (np. stal, szkło, plastik)	Wizualizacja obecności dojrzałego biofilmu, prosta, na dużych powierzchniach, wspomaga proces mycia i dezynfekcji	Wymaga często specjalnego przygotowania testowanych powierzchni, karencji. Brak informacji ilościowych i jakościowych, brak korelacji z metodami hodowlanymi (JTK)
Metody wizualne (oględziny, kamery)	Trudno dostępne miejsca (instalacje, rury, odpływy)	Możliwość szybkiej oceny obecności biofilmu lub zabrudzeń. Nieinwazyjna	Brak informacji ilościowych i jakościowych, brak korelacji z metodami hodowlanymi (JTK)
Badanie bioaerozolu (metoda wolumetryczna)	Badanie powietrza	Uzupełnia monitoring powierzchni Przydatne w szpitalach i przemyśle spożywczym	Pośrednia metoda Brak bezpośredniej korelacji z biofilmem na powierzchniach
Zastosowanie aplikacji na urządzenia mobilne, np. BactiCALC	Analiza płytek i antybiogramów	Uzupełnia monitoring, usprawnia proces liczenia kolonii i odczytu antybiogramów. Darmowe i proste.	Aplikacja analizuje tylko zdjęcia płytek z wymazów, odcisków czy popłuczyn i antybiogramów. Wynik zależy od jakości płytki i ostrości zdjęcia użytkownika.

Należy pamiętać o tym, że skuteczna kontrola powierzchni wymaga jednak nie tylko detekcji, lecz także systematycznej analizy trendów. Regularne próbkowanie zgodnie z programem EMP (Environmental Monitoring Program) pozwala identyfikować krytyczne punkty, w których biofilm może się rozwijać.

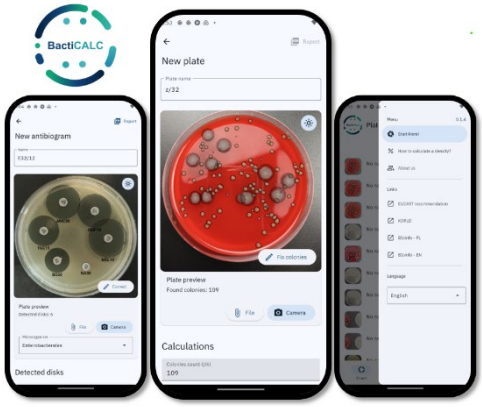
Ważnym uzupełnieniem badań jest również ocena wizualna czystości – powierzchnie z pozoru wolne od zanieczyszczeń mogą w rzeczywistości kryć biofilm trudny do usunięcia standardowymi procedurami mycia i dezynfekcji (Yin i wsp., 2021; Sharma i wsp., 2023; Chen i wsp., 2024; Griffith, 2016).

Tabela 3. Dobór metody do rodzaju testowanej powierzchni.

RODZAJ POWIERZCHNI	METODY REKOMENDOWANE
Gładkie, twarde (stal, szkło, gładki plastik)	Wymaz, płytki kontaktowe, testy odciskowe (np. petryfilm, dipslide), ATP, barwienie EPS (pianka/sprej TBF)
Lekko chropowate / porowate (matowy plastik, guma, uszczelki, ceramika)	Wymaz, test białkowy, barwienie EPS (pianka/sprej TBF)
Połączenia, szczeliny, narożniki, spoiny	Wymaz, barwienie EPS (TBF), kamera/UV
Podłogi, kratki ściekowe, odpływy	Wymaz + selektywne wzbogacanie, płukanki/drain flush, qPCR
Linie rurowe / CIP / zbiorniki	Popłuczyny, wymazy z demontażu, qPCR/NGS
Narzędzia i drobny sprzęt	Wymaz z neutralizatorem, ATP, test białkowy
Ręce pracowników (higiena rąk)	Płytki odciskowe, wymazy, ATP
Odzież/obuwie	Wymazy, odciski podeszw (folie kontaktowe)
Powietrze / bioaerozol	Metoda wolumetryczna
Powierzchnie „suche" (DSB)	Wymazy, barwienie EPS, ATP + test białkowy, płytki odciskowe

BactiCALC – przykład integracji tradycyjnych i nowoczesnych rozwiązań AI

Wśród wielu dostępnych na rynku płatnych rozwiązań wspomagających monitoring mikrobiologiczny interesującym narzędziem jest opracowana w Centralnym Instytucie Ochrony Pracy - Państwowym Instytucie Badawczym aplikacja BactiCALC. To całkowicie darmowa aplikacja na urządzenia mobilne (smartfon i tablet), zaprojektowana do wspierania tradycyjnych badań mikrobiologicznych. Aplikacja integruje tradycyjne podejście oparte na płytkach agarowych i antybiogramach z najnowszymi narzędziami cyfrowymi, oferując realne wsparcie w codziennych zadaniach mikrobiologicznych. Jej zaletą jest niski koszt wdrożenia, bo wystarczy standardowy smartfon lub tablet. Prosty interfejs aplikacji pozwala, by personel bez wiedzy z zakresu bioinformatyki korzystał z zasobów aplikacji.



Co potrafi BactiCALC?

- **Liczenie kolonii (Colony Counter)** – automatyczne zliczanie kolonii ze zdjęcia płytki.
- **Kalkulator JTK/CFU** – szybkie przeliczanie stężeń
- **Czytnik antybiogramów** – analiza stref zahamowania wzrostu, interpretacja wyników zgodnie z wytycznymi EUCAST.
- **Raporty PDF** – zapisywanie i przesyłanie wyników bezpośrednio z aplikacji.
- **Tryb offline** – pełna funkcjonalność nawet bez dostępu do Internetu
- **AI** – algorytmy sztucznej inteligencji uczą się rozpoznawać kolonie, minimalizując ryzyko błędów ludzkich.

Aplikację można pobrać za darmo **Google Play (Android) i App Store (iOS).** Instrukcje i materiały pomocnicze można znaleźć na kanale **YouTube CIOP-PIB i Bazie BioInfo.**

Pobieranie próbek mikrobiologicznych – zasady

- Próbki pobiera przeszkolony personel z użyciem sterylnego sprzętu/materiałów.
- Zasada „**Z góry na dół**”, od czystego do brudnego: kolejność próbkowania i mycia.
- Konieczne są procedury + zapisy (co pobrano, gdzie, kiedy, kto itp.). Dokumentacja i trendy: stałe punkty pomiaru + okresowo wymazy „wektorowe”.
- Próbka musi być reprezentatywna, a metoda odpowiednio dobrana.
- Najpierw ocena wizualna: powierzchnia musi być czysta; przy widocznych zabrudzeniach wymazów się nie pobiera.
- Po dezynfekcji pamiętaj o czasie karencji: odczekaj zalecany czas po aplikacji środka (typowo ≥15 min zgodnie z kartą charakterystyki preparatu), aby uniknąć fałszywie ujemnych wyników.
- Neutralizacja: używaj podłoży/wymazówek z neutralizatorami odpowiednimi do użytego biocydu.
- Łącz szybki screening (ATP/test białkowy) z posiewem (potwierdzenie), a tam gdzie zasadnie również barwieniem EPS.
- Punkty stałe + wektorowe: oprócz stałych punktów kontroli dodajemy wymazy wektorowe (ręce/uchwyty/klamki/odpływy).

Interpretacja wyników

- Wymazy i płytki kontaktowe = mała powtarzalność, traktować jako dane do analizy trendów**.**
- Oceniaj trendy, nie liczby. Wyjątek to patogeny = zasada „zero tolerancji”
- Brak jednoznacznych kryteriów → dane literaturowe mają charakter orientacyjny, stąd tak ważne jest stosowanie się do procedur w danym zakładzie.
- Wynik niepożądany → analiza przyczyny → korekta procedury/schematu mycia → weryfikacja (3× ujemne w 24-h odstępach – jako praktyczny próg).

Najczęstsze błędy

- JTK na badaną powierzchnię czy JTK/cm^2→ brak porównywalności wyników.
- Pobieranie prób **od razu po dezynfekcji** (trzeba odczekać ~5-15 min, aż środek się unieczynnieni – należy zapoznać się z instrukcjami producenta).
- Brak ponownego mycia/dezynfekcji powierzchni po pobraniu próbki (zostają resztki).
- **Brak świadomości pracowników na temat zagrożeń!!!**

6. Profilaktyka biofilmu

6.1. Organizacja, zoning i EMP

Skuteczna profilaktyka biofilmu wymaga połączenia dobrych praktyk higienicznych z systematycznym monitorowaniem czystosci mikrobiologicznej środowiska oraz analizą trendów, które pozwalają wykrywać potencjalne zagrożenia (odchylenia od normy) zanim rozwinie się w poważny problem jakim jest biofilm.

Zoning higieniczny

Wyznaczenie w zakładzie produkującym żywność strefy o różnym poziomie ryzyka skażenia mikrobiologicznego (tzw. hygienic zoning) to podstawowa strategia zapobiegawcza w przypadku zakażeń krzyżowych i biofilmów (ryc. 6). W strefach wysokiego ryzyka, na przykład tam gdzie ma się kontakt z żywnością gotową do spożycia albo trzeba stosować znacznie surowsze zasady higieny. Obejmuje to dokładniejsze mycie i dezynfekcję, specjalną odzież ochronną, kontrolę ruchu pracowników oraz używanie oddzielnego sprzętu do sprzątania. Dzięki temu zmniejsza się ryzyko przeniesienia biofilmów ze stref „brudnych" do „czystych" (Holah et al., 2011; Kalish, 2020).

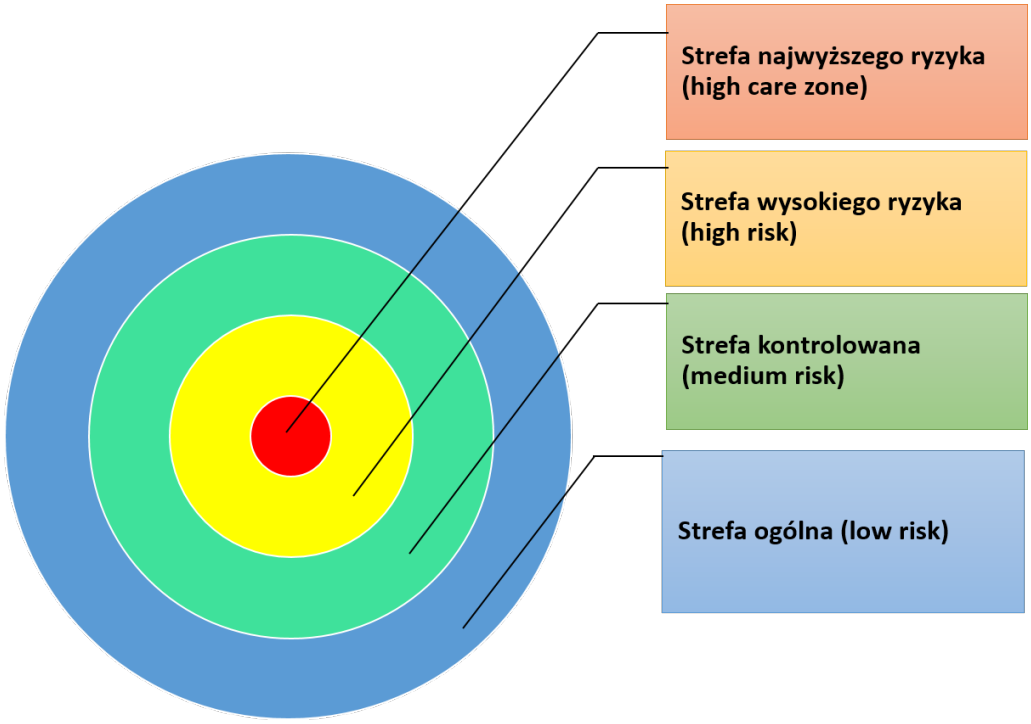
Typowe strefy stosowane w zoningu w przemyśle spożywczym to:

- **Strefa ogólna (low risk)** – powierzchnie niemające kontaktu z żywnością poza obszarami przetwarzania, np. szatnie, stołówki, drogi wejścia/dostępu, rampy załadunkowe, magazyny wyrobów gotowych i obszary konserwacji np. magazyny, hale przyjęć surowców, obszary techniczne; wymagania higieniczne są tu podstawowe.

- **Strefa kontrolowana (medium risk)** – powierzchnie w bliskim sąsiedztwie linii produkcyjnych, obszary przygotowania półproduktów, pakowanie żywności niskiego ryzyka np. wózki widłowe, wózki ręczne, wózki, koła, pokrywy powrotu, węże, ściany, podłogi i dreny; wymaga systematycznego sprzątania i kontroli przepływu pracowników.

- **Strefa wysokiego ryzyka (high risk)** – np. powierzchnie w bliskim sąsiedztwie linii produkcyjnych, niemające bezpośredniego kontaktu z żywnością, takie jak zewnętrzna konstrukcja urządzeń produkcyjnych, agregaty chłodnicze, panele sterowania urządzeniami, przełączniki.

- **Strefa najwyższego ryzyka (high care zone)** – powierzchnie mające bezpośredni kontakt z żywnością np. krajalnice, taśmy przenośnikowe, leje, obieraczki, noże i blaty, ręce pracowników; wymagane specjalistyczne systemy barierowe i filtracja powietrza.



Rycina 6. Podział zakładu produkcji żywności na strefy o różnym poziomie ryzyka skażenia (Holah et al., 2011; Kalish, 2020).

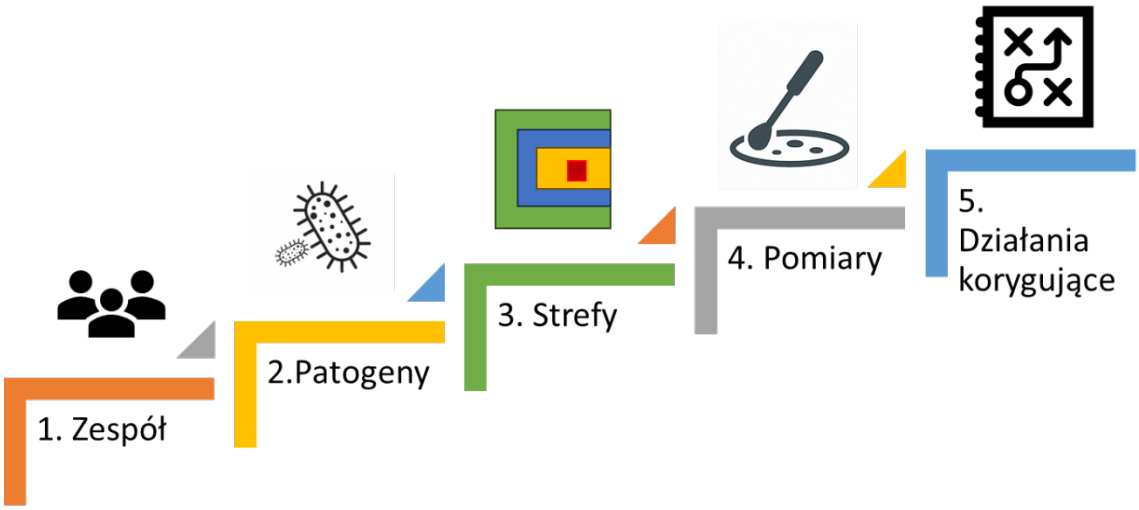
W zakładach opieki zdrowotnej przestrzeń także dzilona jest na strefy o różnym poziomie ryzyka, co pozwala lepiej chronić pacjentów i personel przed zakażeniami. Strefa niskiego ryzyka obejmuje korytarze, poczekalnie czy rejestracje. W tych miejscach stosuje się podstawowe zasady higieny i regularne sprzątanie. Natomiast strefa średniego ryzyka to już obszary oddziałów szpitalnych i sal chorych, w których kluczowe znaczenie ma dokładna higiena rąk oraz stosowanie odzieży ochronnej zgodnie z obowiązującymi procedurami. Strefa wysokiego ryzyka w szpitalach to np. bloki operacyjne, oddziały intensywnej terapii i transplantologii. Obowiązują w nich bardziej rygorystyczne zasady - kontrola powietrza (np. nadciśnienie), ograniczony dostęp oraz stosowanie odzieży sterylnej. Strefa izolacyjna przeznaczona jest dla pacjentów zakażonych szczególnie groźnymi patogenami, jak np. lekoopornymi bakteriami czy wirusami. Stosuje się tu także podciśnienie oraz specjalnie wydzielony sprzęt, aby zapobiec transmisji zakażeń między chorymi i oddziałami (CDC and ICAN, 2019).

Kluczowe elementy zoningu higienicznego

- ✓ Fizyczne bariery – ściany, drzwi, kurtyny powietrzne i różnice ciśnień ograniczające przepływ mikroorganizmów.
- ✓ Kontrola przepływu – wyznaczone ścieżki dla personelu, surowców i produktów, aby uniknąć krzyżowania się „czystych" i „brudnych" strumieni.
- ✓ Odzież i higiena pracowników – zróżnicoolory fartuchów, czepków i rękawic dla poszczególnych stref, obowiązkowe śluzy higieniczne.
- ✓ Sprzęt i narzędzia – dedykowane zestawy czyszczące i robocze, aby nie przenosić biofilmu pomiędzy obszarami.
- ✓ Monitoring środowiskowy – systematyczne pobieranie próbek (EMP), wymazy wektorowe, testy ATP i inne w celu wczesnego wykrywania zagrożeń.
- ✓ Szkolenia i świadomość personelu – znajomość zasad podziału na strefy ryzyka i konsekwencji ich łamania to fundament skutecznego zoningu.

Environmental Monitoring Program (EMP) – co to jest?

Programy monitorowania środowiska (EMP) pomagają sprawdzić w zakładach produkcyjnych, czy czyszczenie i dezynfekcja są prowadzone skutecznie. Polegają na regularnym pobieraniu próbek z otoczenia produkcji, aby szybko wykryć patogeny i zapobiec skażeniu żywności. Należy podkreślić, iż sama analiza gotowego wyrobu nie gwarantuje pełnego bezpieczeństwa, ponieważ negatywny wynik nie wyklucza obecności mikroorganizmów w środowisku produkcyjnym. Dlatego skuteczny EMP (oparty na powtarzalnym próbkowaniu i zatwierdzonych procedurach) jest bardziej wiarygodnym narzędziem niż wyłącznie testowanie produktu końcowego. Skuteczność EMP zależy od kilku wzajemnie uzupełniających się elementów (ryc. 7).



Rycina 7. Elementy składowe EMP.

Pierwszym z nich jest powołanie interdyscyplinarnego zespołu ds. bezpieczeństwa żywności, który łączy wiedzę kierowników jakości, operatorów, specjalistów ds. bhp oraz mikrobiologów. Zespół ten odpowiada za ocenę ryzyka, wybór miejsc i częstotliwości próbkowania oraz właściwe zarządzanie wynikami. Niezbędne jest też zapewnienie odpowiednich zasobów organizacyjnych i finansowych, aby program mógł funkcjonować w sposób ciągły. Drugim filarem EMP jest określenie mikroorganizmów, które należy monitorować. Wśród nich znajdują się patogeny (np. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.), ale również organizmy wskaźnikowe, indeksowe, oraz mikroflora psująca. Istotnym elementem jest także koncepcja podziału na strefy – zoningu. Dzięki temu możliwe jest dostosowanie strategii pobierania próbek do faktycznego poziomu zagrożenia. Kolejnym ważnym elementem jest plan pobierania próbek (pomiary) obejmujący wybór powierzchni, metodę, czas i częstotliwość badań. Plan próbkowania powinien uwzględniać miejsca trudne do utrzymania w czystości (takie jak odpływy, posadzki, linie krojenia czy ręce pracowników) i stosowanie procedur wymazów wektorowych. Analiza próbek i interpretacja wyniku muszą zawsze odnosić się do międzynarodowych/ krajowych norm i standardów (m.in. ISO, BAM FDA) i może obejmować zarówno metody klasyczne, jak i szybkie techniki molekularne, immunologiczne czy sekwencjonowanie całogenomowe. Po etapie analitycznym wyniki są interpretowane z uwzględnieniem ryzyka i trendów, a nie tylko pojedynczych pomiarów. Ostatnim krokiem jest wdrażanie działań korygujących, począwszy od dodatkowego czyszczenia i dezynfekcji, przez demontaż sprzętu, aż po czasowe wstrzymanie produkcji i badanie wyrobów. Największą wartością EMP jest możliwość długoterminowego śledzenia trendów mikrobiologicznych, co pozwala zawsze identyfikować miejsca krytyczne i zapobiegać problemom, zanim wpłyną one na bezpieczeństwo produktu (De Oliveira Mota i wsp., 2021).

Wymazy wektorowe

Pobiera się je z elementów, które mogą działać jak przekaźniki mikroorganizmów np. ręce i odzież pracowników, klamki, uchwyty, wózki transportowe czy zawory. Pozwalają one na skuteczniejsze zlokalizowanie źródeł biofilmu, zwłaszcza w miejscach trudnych do dezynfekcji.

Rodzaje testowanych mikroorganizmów

- **Mikroorganizmy wskaźnikowe** (*Enterobacteriaceae, E. coli, coliforms*) – ich obecność sygnalizuje ogólne problemy higieniczne i ryzyko obecności patogenów.
- **Mikroorganizmy** (index organisms) to gatunki używane jako markery obecności określonych patogenów – np. Listeria spp. sygnalizuje możliwość występowania L. monocytogenes. Jeśli w próbkach pojawi się Listeria spp., wdraża się działania korygujące tak, jakby wykryto patogen.
- **Mikroorganizmy powodujące psucie** (spoilage organisms) nie zawsze są groźne dla zdrowia, ale powodują, że produkt staje się niezdatny do spożycia. Zmieniają smak, zapach, barwę czy konsystencję, produkując związki takie jak aminy, siarczki czy aldehydy. Typowymi przykładami są *Brochothrix thermosphacta* czy *Pseudomonas fluorescens,* bakterie kwasu mlekowego, drożdże.
- **Mikroorganizmy zastępcze (surrogaty)** to drobnoustroje niechorobotwórcze, które mają podobne właściwości do patogenów i są wykorzystywane w testach bezpieczeństwa, np. Geobacillus stearothermophilus.
- **Patogeny** (*Listeria monocytogenes, Salmonella*) - ich wykrycie wymaga natychmiastowej reakcji i działań korygujących.

6.2. Rola szkoleń personelu w utrzymaniu higieny

Nie od dziś wiadomo, że żaden nawet najbardziej nowoczesny i drogi system monitoringu, nie będzie skuteczny bez świadomego pracownika. To właśnie personel, który na co dzień ma bezpośredni kontakt z maszynami i produktami, najlepiej zna „realia pracy". Świadomy ryzka pracownik może znacznie szybciej niż audyty zewnętrzne dostrzec potencjalne zagrożenie i odpowiednio zareagować. Dlatego szkolenia z zakresu higieny i instruktażu stanowiskowego nie powinny być jedynie formalnym obowiązkiem, ale praktycznym narzędziem budowania wspólnej odpowiedzialności za bezpieczeństwo.

Rycina 9. Pracownik w zakładach mięsnych myjący brudny blat po zakończeniu pracy.

Regularne szkolenia z zakresu mycia, dezynfekcji, a nawet higieny osobistej pomagają nie tylko przypominać zasady, ale też dostosowywać je do zmieniających się warunków pracy. Dlatego też, ważne jest aby kierownicy i specjaliści ds. jakości konsultowali procedury z pracownikami linii produkcyjnych. Bowiem doświadczenie pracowników niższego szczebla pozwala wychwycić niedoskonałości w planach higienicznych i wprowadzić praktyczne i realne „usprawnienia" (ryc. 8).

Przestrzeganie zasad higieny to nie tylko kwestia ochrony produktu końcowego, ale przede wszystkim zdrowia człowieka. Tylko wtedy, gdy każdy pracownik rozumie sens procedur i widzi realne korzyści płynące z ich stosowania, higiena staje się codziennym nawykiem, a nie obowiązkiem „dla inspekcji". W efekcie zyskują wszyscy – pracownicy, przedsiębiorstwo i konsumenci.

6.3. Strategie kontroli szkodliwych biofilmów

Kontrola szkodliwych biofilmów wymaga zróżnicowanych podejść, ponieważ żadna pojedyncza metoda nie jest w stanie całkowicie wyeliminować tego zjawiska. Biofilm chroni mikroorganizmy przed czynnikami chemicznymi i mechanicznymi, dlatego aby efektywnie zapobiegać biofilmom należy stosować różne metody specyficzne dla poszczególnych etapów jego wzrostu (ryc. 9).

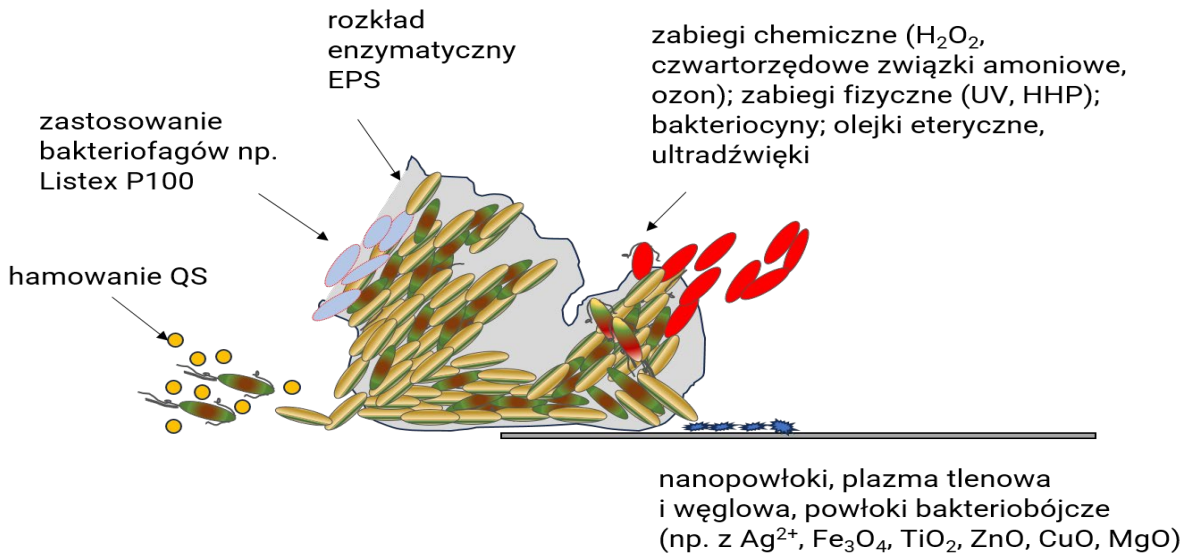
Generalnie, wyróżnia się trzy główne grupy działań związanych z zwalczaniem biofilmu:

- **Modyfikacja powierzchni -**Biofilm zaczyna się od przyczepienia bakterii do powierzchni. Dlatego jedną z najprostszych metod prewencji jest zmiana właściwości materiałów – wygładzanie, powlekanie lub nadawanie im hydrofilowości. Dzięki temu mikroorganizmy mają trudniejsze warunki do osiedlania się, a biofilm nie zdąży się rozwinąć.

- **Regulacja sygnałów komórkowych -** Bakterie komunikują się ze sobą przez systemy sygnałowe (np. quorum sensing). Jeśli te ścieżki zostaną zablokowane, drobnoustroje nie uruchamiają genów odpowiedzialnych za tworzenie biofilmu. Do tego celu wykorzystuje się naturalne związki roślinne (np. kurkumina, resweratrol) lub syntetyczne inhibitory.

- **Stosowanie sił zewnętrznych -** Kiedy biofilm jest już dojrzały, trzeba go usunąć mechanicznie lub chemicznie. Wykorzystuje się ultradźwięki, pola magnetyczne, promieniowanie UV albo enzymy i bakteriofagi, które rozkładają matrycę EPS i rozbijają strukturę. Takie podejście działa zarówno w medycynie (np. implanty), jak i w przemyśle spożywczym (Yin i wsp., 2022; Liu i wsp., 2023; Dawan i wsp. 2025).

W tabeli 4 przedstawiono zestawienie tych trzech podejść wraz z przykładami oraz ich wadami.



Rycina 9. Strategie zwalczania szkodliwych biofilmów.

Tabela 4. Przykłady metod stosowanych do ograniczania rozwoju biofilmów na powierzchniach abiotycznych (Koo i wsp., 2017; Yin i wsp., 2022; Liu i wsp., 2023; Pang i wsp., 2023).

Strategia	Opis	Przykłady metod	Wady
Modyfikacja powierzchni	Zmiana właściwości fizykochemicznych powierzchni, aby utrudnić przyczepianie się bakterii i tworzenie biofilmu.	• Wygładzanie i polerowanie, powłoki hydrofilowe (np. MPC-polimery) • Powlekanie peptydami przeciwdrobnoustrojowymi • Powlekanie powłokami bakteriobójczymi (Ag2+, Fe3O4, TiO2, ZnO, CuO, MgO), czwartorzędowe związki amoniowe (QAC) • Zastsowanie promieniowania UV do poprawy zwilżalności • Pokrycie szczotkami polimerowymi z politlenku etylenu (PEO) • Zastosowanie plazmy tlenowej na materiałach węglowych • Zastosowanie plazmy azotowej na anodzie węglowej • Funkcjonalizowanie powłoki lizozymem lub nizyną	• Działa głównie przed powstaniem biofilmu • Kosztowne przy dużych powierzchniach • Ograniczona skuteczność wobec biofilmów już istniejących • Możliwe nabycie oporności przez mikoorganizmy
Regulacja sygnałów komórkowych	Zakłócanie komunikacji bakterii (np. quorum sensing), blokuje ekspresję genów odpowiedzialnych za biofilm.	• Naturalne inhibitory (kurkumina, resweratrol, olejki eteryczne) • Syntetyczne związki - furanony, N-octanoyl-L-HSL (C8-HSL) • Enzymy, w tym laktonaza, acylaza, oksydoreduktaza i paraoksonaza	• Wiele związków działa tylko w warunkach laboratoryjnych • Brak szerokiego wdrożenia przemysłowego • Zmienna skuteczność.
Stosowanie sił zewnętrznych	Mechaniczne lub chemiczne niszczenie istniejących biofilmów poprzez rozbijanie matrycy EPS i usuwanie komórek.	• Mechaniczne mycie • Wysoka lub niska temperatura • Ultradźwięki • Pola magnetyczne z nanocząstkami, • Promieniowanie UV • Enzymy degradujące (DNazy, proteazy), • Bakteriofagi i lizyny fagowe.	• Może uszkadzać powierzchnie lub tkanki • Wymaga powtarzania • Ryzyko niepełnego usunięcia biofilmu i szybkiej rekolonizacji

Należy pamiętać, że biofilm ze względu na swą złożoną strukturę i odporność to przeciwnik, którego trudno bardzo pokonać jedną metodą. Liczne badania wskazują, że skuteczna walka z rozwijającym się na powierzchniach biofilmem wymaga wieloetapowego i multidyscyplinarnego podejścia, łączenia różnych strategii i narzędzi (Yin i wsp., 2021; Dawan i wsp., 2025). Ponadto eliminacja dojrzałych biofilmów wymaga zawsze intensywnego działania mechanicznego, np. szorowania i skrobania w połączeniu z użyciem odpowiednich detergentów/środków dezynfekcyjnych.

Zwykłe spryskanie (namoczenie) powierzchni preparatem przeciwdrobnoustrojowym usuwa jedynie zewnętrzną warstwę biofilmu, pozostawiając jego głębsze struktury nienaruszone. Odsłonięte komórki szybko reagują, wykorzystując dostępne w środowisku substancje odżywcze, i rozpoczynają wzmożoną produkcję polisacharydów zewnątrzkomórkowych, które tworzą zwartą barierę chroniącą wewnętrzne warstwy przed przenikaniem środków biobójczych. W efekcie niedokładne czyszczenie i dezynfekcja mogą paradoksalnie stymulować dalszy rozwój biofilmu oraz zwiększać odporność mikroorganizmów na stosowane środki dezynfekujące (Ławniczek-Wałczyk i Górny, 2022).

Dlatego w praktyce profilaktyka i kontrola biofilmu powinny opierać się na synergii działań: odpowiednim projektowaniu stref higienicznych i procedur, regularnym monitoringu środowiska (EMP, wymazy wektorowe), ukierunkowanych testach mikrobiologicznych oraz szkoleniach personelu. Tylko tak kompleksowe podejście pozwala skutecznie ograniczać ryzyko kontaminacji i chronić zdrowie konsumentów oraz pracowników.

BIBLIOGRAFIA

- Agustín M.d.R.; Stengel P.; Kellermeier M.; Tücking K.-S.; Müller M. Monitoring Growth and Removal of Pseudomonas Biofilms on Cellulose-Based Fabrics. Microorganisms 2023, 11, 892 https://doi.org/10.3390/microorganisms11040892
- Amador CI, Fatima N, Jakobsen ASS, et al. Directed assembly of biofilm communities for marine biofouling prevention. Appl Environ Microbiol. 2025;91(9):e0139225 doi:10.1128/aem.01392-25
- Amaeze NJ, Akinbobola AB, Kean R, Ramage G, Williams C, Mackay W. Transfer of micro-organisms from dry surface biofilms and the influence of long survival under conditions of poor nutrition and moisture on the virulence of Staphylococcusaureus. *J Hosp Infect*. 2024;150:34-39 https://doi:10.1016/j.jhin.2024.03.023
- Assefa, M., & Amare, A. (2022). Biofilm-Associated Multi-Drug Resistance in Hospital-Acquired Infections: A Review. Infection and drug resistance, 15, 5061–5068.
- Boyce JM. Hand and environmental hygiene: respective roles for MRSA, multi-resistant gram negatives, Clostridioides difficile, and Candida spp. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2024;13(1):110. Published 2024 Sep 27 doi:10.1186/s13756-024-01461-x
- Cámara M, Green W, MacPhee CE, et al. Economic significance of biofilms: a multidisciplinary and cross-sectoral challenge. NPJ Biofilms Microbiomes. 2022;8(1):42. Published 2022 May 26. doi:10.1038/s41522-022-00306-y https://doi.org/10.1038/41522-022-00306-y
- CDC and ICAN. Best Practices for Environmental Cleaning in Healthcare Facilities in Resource-Limited Settings. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; Cape Town, South Africa: Infection Control Africa Network; 2019.

- Chen F, Li Y, Wang W, et al. Comparative performance of contact plate metod and swab method for surface microbial contamination on medical fabrics. BMC Infect Dis. 2024;24(1):530. Published 2024 May 27 https://doi.org/10.1186/s12879-024-09416-8
- Dawan J, Zhang S, Ahn J. Recent Advances in Biofilm Control Technologies for the Food Industry. Antibiotics (Basel). 2025;14(3):254. Published 2025 Mar 1 https://doi.org/10.3390/antibiotics14030254
- De Oliveira Mota J, Boué G, Prévost H, Maillet A, Jaffres E. Maignien T, Arnich,N, Sanaa, M, & Federighi, M. Environmental monitoring program to support food microbiological safety and quality in food industries: A scoping review of the research and guidelines. *Food Control*, 2021. *130*, 108283 https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108283
- Flemming HC, van Hullebusch ED, Neu TR, et al. The biofilm matrix: multitasking in a shared space. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21(2):70-86 https://doi:10.1038/s41579-022-00791-0
- Fürstenberg R, Meemken D, Langforth S, Grosse-Kleimann J, Kreienbrock L, Langkabel N. Comparison of the agar contact method and the wet-dry double swabbing method for determining the total viable bacterial count on pig carcass surfaces. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, (2023); *19*(1), 41–48 https://doi.org/10.1007/00003-023-01473-6
- Galié S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ and Lombó F. Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. Front. Microbiol. (2018); 9:898. https://doi:10.3389/fmicb.2018.00898
- Gautam S, Subedi N, Dhakal K, Koirala P, Acharya DR, Malav O P, Al-Asmari F, Benjakul S, & Nirmal N. Bacterial biofilm formation in seafood: Mechanisms and inhibition through novel non-thermal techniques. Reviews in Aquaculture, 2024; 16(4), 1840–1857 https://doi.org/10.1111/raq.12925
- Griffith C. Surface sampling and the detection of contamination. In *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*; 2016; pp. 673–696 https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100155-4.00044-3
- Grocery Manufacturers Association (GMA). Capturing Recall Costs Measuring and Recovering the Losses. Grocery Manufacturers Association. 2011 https://globalfoodsafetyresource.com/wp-content/uploads/2014/08/www.gmaonline.org_file-manager_images_gmapublications_Capturing_Recall_Costs_GMA_Whitepaper_FINAL.pdf
- Holah J. Hazard control by segregation in food factories. Hygienic Design of Food Factories, (2011); 227–248 https://doi.org/10.1533/9780857094933.2.227 http://www.icanetwork.co.za/icanguideline2019/ https://doi.org/10.2147/IDR.S379502 https://www.cdc.gov/hai/prevent/resource-limited/index.html
- Kalish C. Estimating the Cost of Environmental Monitoring. Food Safety Magazine. 2020 https://www.food-safety.com/articles/6460-estimating-the-cost-of-environmental-monitoring
- Knisz J, Eckert R, Gieg LM, et al. Microbiologically influenced corrosion-more than just microorganisms. FEMS Microbiol Rev. 2023;47(5):fuad041 doi:10.1093/femsre/fuad041
- Koo H, Allan RN, Howlin RP, Stoodley P, Hall-Stoodley L. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. Nat Rev Microbiol. 2017;15(12):740-755 https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.99
- Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis*. 2006; 6: 130. Published 2006 Aug 16 https://doi:10.1186/1471-2334-6-130
- Ławniczek-Wałczyk A, Górny RL. Biofilm jako zagrożenie w zakładach produkcji i przetwarzania żywności. Bezpieczeństwo Pracy. Nauka i Praktyka, 2022; 3, 10-15 https://doi.org 10.54215/BP.2022.03.6.Lawniczek-Walczyk
- Liu X, Yao H, Zhao X, Ge C. Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. Molecules. 2023;28(6):2432. Published 2023 Mar 7 https://doi.org/10.3390/molecules28062432

- Maillard JY, Centeleghe I. How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2023;12(1):95. Published 2023 Sep 7 https://doi:10.1186/s13756-023-01290-4
- Mueller SA, Anderson JE, Kim BR, Ball JC. Comparison of plate counts, Petrifilm, dipslides, and adenosine triphosphate bioluminescence for monitoring bacteria in cooling-tower waters. Water Environ Res. 2009;81(4):401-406 https://doi.org/10.2175/106143008x357075
- Pang X, Hu X, Du X, Lv C, Yuk HG. Biofilm formation in food processing plants and novel control strategies to combat resistant biofilms: the case of Salmonella spp. Food Sci Biotechnol. 2023;32(12):1703-1718. Published 2023 May 30 https://doi.org/10.1007/s10068-023-01349-3
- Percival SL, Suleman L, Vuotto C, Donelli G. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *J Med Microbiol*. 2015;64(Pt 4):323-334 https://doi:10.1099/jmm.0.000032
- Pruitt HM, Zhu JC, Riley SP, Shi M. The Hidden Fortress: A Comprehensive Review of Fungal Biofilms with Emphasis on Cryptococcus neoformans. J Fungi (Basel). 2025;11(3):236. Published 2025 https://doi.org/10.3390/jof11030236
- Rather MA, Gupta K, Bardhan P, et al. Microbial biofilm: A matter of grave concern for human health and food industry. J Basic Microbiol. 2021;61(5):380-395 https://doi:10.1002/jobm.202000678
- Sehulster L, Chinn RY; CDC; HICPAC. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep. 2003;52(RR-10):1-42.
- Sharan M, Vijay D, Dhaka P, Bedi JS, Gill JPS. Biofilms as a microbial hazard in the food industry: A scoping review. J Appl Microbiol. 2022;133(4):2210-2234 https://doi:10.1111/jam.15766
- Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalinkeel R. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. Microorganisms. 2023; 11(6):1614 https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614
- Waegenaar F, García-Timermans C, Van Landuyt J, De Gusseme B, Boon N. 2024. Impact of operational conditions on drinking water biofilm dynamics and coliform invasion potential. Appl Environ Microbiol 90:e00042-24 https://doi.org/10.1128/aem.00042-24
- WHO. (2015). WHO Estimates of the global burden of foodborne diseases. Retrieved from https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases
- Wingender J, Flemming HC. Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *Int J Hyg Environ Health*. 2011;214(6):417-423 https://doi:10.1016/j.ijheh.2011.05.009
- Yao Y, Habimana O. Biofilm research within irrigation water distribution systems: Trends, knowledge gaps, and future perspectives. The Science of the Total Environment. 2019 Jul;673:254-265. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.464. PMID: 30991317 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.464
- Yin W, Xu S, Wang Y, et al. Ways to control harmful biofilms: prevention, inhibition, and eradication. Crit Rev Microbiol. 2021;47(1):57-78 https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1842325
- Zumsteg A, Urwyler SK, Glaubitz J. Characterizing bacterial communities in paper production—troublemakers revealed. MicrobiologyOpen, (2017). 6(4) https://doi.org/10.1002/mbo3.487