

ABSTRACT

The complete removal of biofilms on food equipment surfaces is essential to ensure food safety and quality. However, cells in biofilms exhibit greater resistance against the action of sanitizers and other antimicrobial agents compared to their free living counterparts, making them much more difficult to remove. They can be a significant source of post - processing contamination and could potentially harbor pathogens in food processing plants. The biotechnology sector is just beginning to tackle the problem of biofilms by developing antimicrobial agents with novel mechanisms of action. Some studies seek to prevent biofilm formation, others aim to develop antimicrobial agents to treat existing biofilms, and still others are trying to disrupt the polymeric ties that bind the biofilms together.

Keywords: biofilm, cleaning and disinfection, enzymes, bioregulation

ÚVOD

Mikrobiálna adhézia a tvorba biofilmov sú významným rizikovým faktorom pre potravinársky priemysel, pretože pomerne často je zaznamenaný ich výskyt na povrchoch prichádzajúcich do styku s potravinami (Jay et al., 2005). Mikrobiálna adhézia je spôsobená v dôsledku zachytenia a pripavenia mikroorganizmov na povrch, následne spúšťajúcich rastový proces. Bunkové rozmnožovanie umožňuje vznik kolónií a etablovanie biofilmu, keď bunková masa je dosť hrubá na to, aby zhromaždila živiny, zvyškové množstvá a iné mikroorganizmy (Tsuneda et al., 2005). Biotechnologický sektor rieši problém tvorby biofilmu prostredníctvom rozvojových antibakteriálnych látok s novými mechanizmami účinku. Mnohé štúdie sa snažia zabrániť tvorbe biofilmu, iné sú zamerané na rozvoj antimikrobiálnych látok na ošetrovanie už existujúcich biofilmov a ďalšie sa pokúšajú narušiť polymérové zväzky, ktoré spájajú biofilmy dokopy (Schachter, 2003). Dôležité ukazovatele bunkového prichytenia, tvorby a vývoja biofilmu popisuje v nasledujúcej tabuľke Donlan (2002).

Tabuľka 1 Dôležité ukazovatele bunkového prichytenia, tvorby a vývoja biofilmu (Donlan, 2002)

Vlastnosti adhézie povrchu	Vlastnosti tekutiny	Vlastnosti bunky
Textúra alebo nerovnosť	Rýchlosť prúdenia	Hydrofóbný bunkový povrch
Hydrofóbnosť	pH	Extracelulárne prívesky
Aklimatizácia povlaku	Teplota	Extracelulárne polymérne látky
	Ióny	Signalizačné molekuly
	Prítomnosť antimikrobiálnych látok	

Bunky tvoriace biofilm môžu byť odlišné od planktonických buniek v tvorbe exopolymérnych látok (EPS), znížené rýchlosťou rastu a reguláciou špecifických génov (Donlan, 2002). Účinky spojené s tvorbou EPS v biofilmoch popisuje Wingender et al.(1999) a Wang et al. (2003).

Tabuľka 2 Účinky spojené s tvorbou EPS v biofilmoch (Wingender et al., 1999, Wang et al., 2003)

Funkcia	Význam
Adhézia k povrchu	Prvý krok pri inertnej kolonizácii na povrchu, hromadenie baktérií na živiny bohatých povrchoch v oligotrofnom prostredí.
Agregácia bakteriálnych buniek, tvorba vločiek a biofilmov	Premostenie medzi bunkami a anorganickými časticami obsiahnutými v prostredí, imobilizácia bakteriálnych zmesí, základ pre rozvoj vysokej hustoty buniek a generácie pre nositeľov komunikačných procesov, príčina biofoulingu a biokorózie.
Bunkové spoznávanie	Symbiotické vzťahy s rastlinami alebo zvieratami, spustenie patogénnych procesov
Enzymatická aktivita	Asimilácia exogénnych makromolekúl pre získavanie živín, uvoľnenie buniek v biofilme prostredníctvom degradácie štruktúrnych ESP v biofilme.
Interakcie polysacharidov s enzýmami	Hromadenie, udržiavanie a stabilizácia vylučovaných enzýmov.
Ochranná bariéra	Rezistencia k špecifickej a nešpecifickej hostiteľskej obranyschopnosti, rezistencia k biocidom.
Sorpcia exogénnych organických zlúčenín	Preplachovanie a hromadenie živín zo životného prostredia.
Sorpcia anorganických iónov	Akumulácia toxických iónov, podpora tvorby polysacharidového gélu a minerálov.
Štruktúrne elementy biofilmov	Sprostredkovanie mechanickej stability biofilmov, stanovenie tvaru konštrukcie EPS.

Kontrola biofilmu s enzýmami

Použitie sanitačných prostriedkov na enzymovom základe ako biočističe, tiež známe ako "zelené chemické látky", môže slúžiť ako vhodné riešenie na prekonanie problému tvorby biofilmov v potravinárskom priemysle. Technológia a výroba týchto enzýmov a na enzymovom základe založených sanitačných prostriedkov je zväčša

chránená patentom. Enzýmy môžu byť použité na degradovanie biofilmu, ale kvôli rôznorodosti EPS v biofilme a zmesi činnosti enzýmov by mohli byť potrebné na dostatočný rozklad bakteriálnych biofilmov. Enzýmy a sanitačné prostriedky boli tiež používané ako synergenty na zlepšenie dezinfekčnej účinnosti. (Jaquelin et al., 1994; Johansen et al. 1997, Meyer, 2003). Je zložité nájsť enzýmy, ktoré sú účinné proti všetkým rôznym typom biofilmov. Takže zloženia obsahujúce niekoľko rôznych enzýmov sa zdajú byť rozhodujúce pre úspešnú kontrolu tvorby biofilmu. V zásade proteáza a polysacharidy hydrolyzujúce enzýmy môžu byť užitočné. Aj keď použitie enzýmov pri odstraňovaní bakteriálnych biofilmov je stále limitované, predovšetkým kvôli nízkym cenám dnes používaných chemikálií. Taktiež nízka komerčná dostupnosť rôznych enzýmových aktivít obmedzuje ich použitie (Poppele et al., 2003, Boor et al., 2006).

Kontrola biofilmu s bakteriofágmi

Keď bakteriofágy prídu do kontaktu s biofilmami, vyskytujú sa ďalšie vzájomné interakcie, závislé na citlivosti baktérii biofilmu k bakteriofágom a dostupnosti miesta receptorov (Beutin et al., 2007). Ak bakteriofágy obsahujú enzýmy degradujúce polysacharidy, alebo ak značný rozpad buniek je ovplyvňovaný bakteriofágmi, integrita biofilmu môže byť rýchlo zničená (Liao et al., 2006). Hughes et al. (1998) pracujúci v oblasti kontroly biofilmov *Enterobacter agglomerans* použitím bakteriofágov zistili, že bunky sa ľahko rozkladali a biofilm bol degradovaný pridaním bakteriofágov, ak boli splnené určité kritériá. Baktéria musela byť citlivá na bakteriofágy a bakteriofágy depolymerizovaných polysacharidov musia byť schopné rozkladať ESP biofilmu. Bakteriofág potom rozloží bunky biofilmu, enzým polymerázy degraduje ESP a spôsobuje zbavenie sa biofilmu. Ak len jedno z týchto kritérií by bolo splnené, znamenalo by to značný stupeň degradácie biofilmu. Eventuálne spolužitie medzi bakteriofágmi a hostiteľskými baktériami s biofilmom by mohlo byť zdokonalené (Hughes et al., 1998, Liao et al., 2006). Bakteriofágy boli navrhnuté ako prostriedky ničenia alebo kontrolovania biofilmov, avšak technológia pre túto činnosť doposiaľ nebola úspešne rozvinutá a je relatívne málo dostupných informácií o bakteriofágoch napádajúcich baktérie na biofilmoch (Hughes et al., 1998; Sutherland et al., 2004, Liao et al., 2006).

Kontrola biofilmu pomocou prostriedkov medzidruhovej interakcie – bioregulácia

Existencia viacnásobných interakcií alebo jednoduchá produkcia metabolitov môže zasahovať do vývoja, ktorý zdá sa byť štruktúrne usporiadanou komunitou v rámci biofilmu (Luo, 2005). Rivalita v substráte je jednou z hlavných vývojových síl v bakteriálnom svete a mnohé významné údaje získané v laboratóriu za kontrolovaných podmienok ukázali ako rôzne mikroorganizmy môžu účinne zápasit' s inými z dôvodu lepšieho využitia daného zdroja energie (Christensen et al., 2002). Okrem toho, mnohé baktérie sú schopné syntetizácie a vylučovania povrchovo aktívnych látok. V konkurenčnom prostredí by tento jav mohol hrať významnú úlohu. Al-Tahhan et al. (2000) zdôraznili, že aj pri veľmi nízkej úrovni

biotenzidov, syntetizovaných rodom *Pseudomonas* spp., by mohli spôsobiť povrch bunky viac hydrofóbny. Z vlastností biotenzidov je známe, že môžu byť zahrnuté do exopolymerového presunu z jedného druhu baktérie do druhého, čo sa javí ako efektívnejšie v rámci matice biofilmu, kde sú bunky v tesnej blízkosti (Österreicher-Ravid et al., 2000). Napriek tomu, v zmiešaných druhoch biofilmu by táto bunková vlastnosť podporovaná bakteriálnymi druhmi mohla mať antimikrobiálne vlastnosti na ďalšie druhy baktérii. Produkcia biotenzidov môže oslabiť tvorbu biofilmov (Daniels et al., 2004). Niekoľko autorov (Leriche a Carpentier, 2000; Zhao et al., 2004) zistilo, že mikroorganizmy tvoriace biofilmy na povrchoch v mliekarenských závodoch by mohli zohrávať úlohu narušiteľa biologických činností patogénnych baktérii, a preto by mohli byť použité na zlepšenie povrchovej hygieny. Tenzidy z *Bacillus subtilis* rozrušujú biofilmy počas rastu buniek a zabráňujú tvorbe biofilmu mikroorganizmami ako sú *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis* (Svensson et al., 2000, Mireles et al., 2001). Taktiež, baktérie mliečneho kvasenia a výroby, ktoré ich obsahujú boli zdokumentované pri ich antimikrobiálnej aktivite proti rastu *Listeria monocytogenes* (Zhao et al., 2004). Zistením, ktoré široké spektrá baktérii využívajú *quorum sensing* na uskutočňovanie tvorby biofilmu a diferenciácie predstavuje atraktívny cieľ pre kontrolu biofilmu (Cui, 2003; Daniels et al., 2004).

Kontrola biofilmu – čistenie a dezinfekcia

Biocídne výrobky – definícia

Podľa smernice 98/8/ES Európskeho parlamentu a Rady zo dňa 16. februára 1998 o uvádzaní biocídnych výrobkov na trh sú biocídne výrobky aktívne látky a prípravky obsahujúce jednu alebo viacero z nich upravené do formy, ktorá je dodávaná užívateľovi s cieľom ničenia, zastrešovania, zneškodnenia, zabránenia škodlivého účinku alebo spôsobenia iného inhibičného účinku na ľubovoľný škodlivý organizmus chemickými alebo biologickými prostriedkami. Termín biocíd sa bežne používa ako synonymum pre antimikrobiálne látky alebo sanitačné prostriedky. Avšak podľa Gilberta a McBaina (2003), trojica týchto definícií je odlišná a je definovaná nasledovne: Biocídy sú aktívne látky, ktoré pri určitej koncentrácii a definovaných podmienkach budú usmrčovateľ v určenom čase bunky; antimikrobiálne látky sú účinné látky, ktoré majú nepriaznivý vplyv na rast alebo rozmnožovanie mikroorganizmov; sanitačné prostriedky obsahujú účinné látky, ktoré sú bezpečné pre použitie na neživé povrchy, a ktoré zabíjajú špecifické skupiny choroboplodných mikroorganizmov v stanovených časoch. Čistenie a dezinfekcia

Čistenie a dezinfekcia v potravinárskom priemysle patria medzi základné kroky, ktoré sa aplikujú pri zabezpečovaní výroby potravín a efektívnosť s akou sa tieto operácie vykonávajú veľmi ovplyvňujú konečnú kvalitu a bezpečnosť výrobku (Carpentier a Cerf, 1993). Čistenie a dezinfekcie sú posudzované oddelene, hoci v praxi sú niekedy ťažko rozdeliteľné.

Čistenie je dôležitá fáza pre minimalizáciu mikrobiálnej kontaminácie priemyselného zariadenia na spracovanie potravín (Carpentier a Cerf, 1993). Je veľmi dôležitou zásadou eliminovať čo najviac mikroorganizmov ešte pred

použitím dezinfekčného prostriedku. Čistiace postupy by mali účinne odstrániť zvyšky potravín a iné nečistoty, ktoré môžu obsahovať mikroorganizmy alebo podporovať mikrobiálny rast. Čistiace postupy zahŕňajú odstraňovanie nečistoty a zvyškov potravín mechanicky, studenou alebo teplou vodou, a až potom nasleduje použitie chemických látok, oplachovanie, dezinfekcia a oplachovanie. Vysoké teploty môžu znižovať potrebu fyzickej sily (Carpentier Cerf, 1993; Maukonen et al., 2003). Chemické látky, zvyčajne povrchovo aktívne látky alebo alkalické zlúčeniny, používané ako čistiace prostriedky, pozastavia a rozpustia zvyšky potravín znížením povrchového napätia, spôsobujú emulgáciu tukov a denaturácia bielkovín (Maukonen et al., 2003). Tieto chemické prípravky sú v súčasnosti používané v kombinácii. Mechanické pôsobenie (vodné turbulencie a drhnutie), je považované za veľmi účinné pri odstraňovaní biofilmu (Chmielewski a Frank, 2003; Maukonen et al., 2003). Účinný postup čistenia musí narušiť alebo rozložiť maticu ESP spojenú s biofilmom tak, aby dezinfekčné prostriedky mohli získať prístup k životaschopným bunkám (Carpentier a Cerf, 1993; Gibson et al., 1999). Čistiaci proces môže odstrániť viac ako 90% mikroorganizmov spojených s povrchom, nemožno sa ale spoliehať na to že ich usmrť. Baktérie sa môžu opätovne uložiť na iné miesta a vzhľadom k prítomnosti vody a živín nám môžu vytvoriť biofilm. Preto musí byť vykonaná vždy aj dezinfekcia (Gibsona et al., 1999). V potravinárskom priemysle je proces čistenia dôležitým faktorom a je potrebné, aby všetky plochy prichádzajúce do kontaktu s potravinami boli čisté a aby zabránili mikrobiálnej kontaminácii a produkovali sa kvalitné a bezpečné potravinárske výrobky. Čistenie a dezinfekcia sú doplnkové procesy, ktoré spoločne pomáhajú dosiahnuť požadované výsledky.

Dezinfekcia

Dezinfekcia predstavuje používanie dezinfekčných prípravkov na ničenie mikroorganizmov. Napriek tomu v dezinfekčnom roztoku boli nájdené mikroorganizmy so schopnosťou tvoriť rezistentné kmene a zvyšovať tak ochranu biofilmu (Gilbert a Allison, 1999; McBain et al., 2000). U prevádzkovateľov potravinárskych podnikov je dezinfekcia žiadaná, pretože mokré povrchy poskytujú priaznivé podmienky pre rast mikroorganizmov (Maukonen et al., 2003). Cieľom dezinfekcie je znížiť povrchové populácie životaschopných buniek po vyčistení a zabrániť rastu mikroorganizmov na povrchu pred opätovným spustením výroby. Dezinfekčné prostriedky neprenikajú do matice biofilmu na povrchu po neefektívnom čistiacom procese a tak nezničia všetky živé bunky v biofilme (Holah, 1992; Carpentier a Cerf, 1993).

Dezinfekčné prostriedky sú efektívnejšie pri neprítomnosti organických látok (tuky, sacharidy a materiály na báze bielkovín). Organické látky, pH, teplota, tvrdosť vody, chemické inhibítory, koncentrácia a kontaktný čas všeobecne slúžia na kontrolu účinnosti dezinfekčných prostriedkov (Mosteller a Bishop, 1994; Cloete et al., 1998). Dezinfekčné prostriedky musia byť účinné, bezpečné, ľahko použiteľné a ľahko opláchnuteľné z povrchu, nesmú zanechať žiadne toxické zvyšky, ktoré majú vplyv na sensorické hodnoty výrobku. Použitie dezinfekčných prostriedkov v potravinárskych prevádzkach závisí od použitého materiálu a adhézie

mikroorganizmov. Na základe nasledovných poznatkov by sa malo vyberať používanie dezinfekčných prostriedkov, ktoré výraznou mierou pri správnej aplikácii zabraňujú rastu biofilmov:

Je dezinfekčný prostriedok stabilný po riedení?

Je používaný dezinfekčný prostriedok účinný v danom rozsahu pH?

Je dezinfekčný prostriedok toxický, bezpečný alebo dráždivý?

Aké je mikrobiálne spektrum dezinfekčného prostriedku?

Ako teploty ovplyvňujú účinnosť dezinfekčného prostriedku?

Je dezinfekčný prostriedok korozívny pre povrchy?

Je dezinfekčný prostriedok povrchovo aktívny?

Je dezinfekčný prostriedok stabilný, keď reaguje s organickým materiálom? (Troller, 1993; Wirtanen, 1995; Wirtanen et al., 2000, Manuzon et al., 2007).

LITERATÚRA

- AL-TAHHAN, R. A., SANDRIN, T. R., BODOUR, A. A., MAIER, R. M. 2000. Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharides from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, p. 3262-3268.
- BEUTIN, L., WANG, Q., NAUMANN, D., HAN, W., KRAUSE, G., LEOMIL, L., WANG, L., FENG, L. 2007. Relationship between O-antigen subtypes, bacterial surface structures and O-antigen gene clusters in *Escherichia coli* O123 strains carrying genes for Shiga toxins and intimin. In *J. Med. Microbiol.*, vol. 56, p. 177-184.
- BOOR, K., FROMM, H. 2006. Managing microbial spoilage in the dairy industry. In *Food spoilage microorganisms*. C. de W. Blackburn, ed. CRC Press LLC, Florida. pp. 171-193.
- CARPENTIER, B., CERF, O. 1993. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in food industry. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 75, p. 499-511.
- CLOETE, T. E. 2003. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, p. 277-282.
- CUI, X. 2004. Regulation of biosurfactant production by quorum sensing in *Pseudomonas fluorescens* 5064, the cause of broccoli head rot disease. PhD Thesis. University of Edinburgh.
- DANIELS, R., VANDERLEYDEN, J., MICHIELS, J. 2004. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. In *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 28, p. 261-289.
- Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February 1998 concerning the placing of biocidal products on the market. Official Journal of the European Communities.
- DONLAN, R. M., COSTERTON, J. W. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. In *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 15, p. 167-193.
- GIBSON H. J., TAYLOR, H., HALL, K. E., HOLAH, J. T. 1999. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 87, p. 41-48.
- GILBERT, P., ALLISON, D. G. 1999. Dynamics in microbial communities: A Lamarckian perspective. In: *Biofilms – The good, the bad and the ugly*. WIMPENNY J. GILBERT P. WALKER J. BRADING M. AND BAYSTON R. (eds). pp. 263-268.
- GILBERT, P., MCBAIN, A. J., RICKARD, A. H. 2003. Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, p. 245-248.
- HOLAH, J. T. 1992. Industrial monitoring: hygiene in food processing. In *Biofilms – Science and Technology*. MELO L. F.

- BOTT T. R. FLETCHER M. AND CAPDEVILLE B. (eds). pp. 19 - 23.
- HUGHES, K. A., SUTHERLAND, I. W., JONES M. V. 1998. Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase. In *Microbiology*, vol. 144, p. 3039-3047.
- CHMIELEWSKI, R. A. N., FRANK, J. F. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 2, 2003, p. 22-32.
- CHRISTENSEN, B. B., HAAGENSEN, J. A. J., HEYDORN, A., MOLIN, S. 2002. Metabolic commensalism and competition in a two-species microbial consortium. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, 2002, p. 2495-2502.
- JAQUELIN, L. F., LE MAGREX, E., BRISSET, L., CARQUIN, J., BERTHET, A., CHOISY, C. 1994. Synergie effect of enzymes or surfactants in association with a phenolic disinfectant on a bacterial biofilm. In *Pathologie et Biologie*, vol. 42, 1994, p. 425-431.
- JAY, J. M., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A. 2005. *Modern Food Microbiology*. 7th ed. Springer-Science, Business Media, Inc., New York. 790 p.
- JOHANSEN, C., FALHOLT, P., GRAM, L. 1997. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 9, 1997, p. 3724-3728.
- LERICHE, V., CARPENTIER, B. 2000. Limitation of adhesion and growth of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces by *Staphylococcus sciuri* biofilms. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88, 2000, p. 594-605.
- LIAO, C. H. 2006. *Pseudomonas* and related genera. In *Food spoilage microorganisms*. C. de W. Blackburn, ed. CRC Press LLC, Florida. pp. 507-540.
- LUO, H. 2005. Identification of microorganisms in food ecosystems and characterization of physical and molecular events involved in biofilm development. Ph.D. Dissertation. Ohio State University, Columbus, OH. 197 p.
- LUYPAERT, J., HEUERDING, S., VANDER HEYDEN, Y., MASSART, D. L. 2004. The effect of preprocessing methods in reducing interfering variability from near-infrared measurements of creams. In *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 36, 2004, no. 3, p. 495-503.
- MANUZON, M. Y., WANG, H. H. 2007. Mixed culture biofilms. In *Biofilms in the Food Environment*. BLASCHEK, H.P., WANG, H. H., AGLE, M. E. eds. Blackwell Publishing Co., Ames, Iowa. pp. 105-125.
- MAUKONEN, J., MATTILA-SANDHOLM, T., WIRTANEN, G. 2000. Metabolic indicators for assessing bacterial viability sampling using cells in suspension and swabbed biofilm. In *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, vol. 33, 2000, p. 225-233.
- MCBAIN, A. J., ALLISON, D. G., GILBERT, P. 2000. Population dynamics in microbial biofilms. In *Community Structures and Co-operation in Biofilms*. ALLISON, D. G., GILBERT, P., LAPPIN-SCOTT, H. M., WILSON, M. (eds). pp. 309-327.
- MEYER, B. 2003. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, 2003, p. 249-253.
- Mireles J. R., TOGUCHI, A., HARSHEY, R. M. 2001. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. In *Journal of Bacteriology*, vol. 183, 2001, p. 5848-5854.
- MOSTELLER, T. M., BISHOP, J. R. 1993. Sanitizer efficacy against attached bacteria in milk biofilm. In *Journal of Food Protection*, vol. 56, 1993, p. 34-41.
- OSTERREICHER-RAVID, D., RON, E. Z., ROSENBERG, E. 2000. Horizontal transfer of an exopolymer complex from one bacterial species to another. In *Environmental Microbiology*, vol. 2, 2000, p. 366-372.
- POPPELE, E. H., HOZALSKI, R. M. 2003. Micro-cantilever method for measuring the tensile strength of biofilms and microbial flocs. In *Journal of Microbiological Methods*, vol. 55, 2003, p. 607-615.
- SCHACHTER, B. 2003. Slimy business – the biotechnology of biofilms. In *Nature Biotechnology*, vol. 21, 2003, p. 361-365.
- SUTHERLAND, I. W., HUGHES, K. A., SKILLMAN, L. C., TAIT, K. 2004. The interaction of phage and biofilms. In *FEMS Microbiology Letters*, vol. 232, 2004, p. 1-6.
- SVENSSON, B., ENEROTH, A., BRENDENHAUG, J., MOLIN, G., CHRISTIANSSON, A. 2000. Involvement of a pasteurizer in the contamination of milk by *Bacillus cereus* in a commercial dairy plant. In *J. Dairy Res.*, vol. 67, 2000, no. 3, p. 455-460.
- TROLLER J. A. 1993. *Sanitation in food processing*. Academic Press Inc.
- TSUNEDA, S., AIKAWA, H., HAYASHI, H., YUASA, A., HIRATA, A. 2003. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface. In *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 223, 2003, no. 2, p. 287-292.
- WANG, S. Y., LAURITZ, J., JASS, J., MILTON, D. L. 2003. Role for the major outer membrane protein from *Vibrio anguillarum* in bile resistance and biofilm formation. In *Microbiology*, vol. 149, 2003, p. 1061-1071.
- WANG, H.H., MANUZON, M. Y., LEHMAN, M., WAN, K., LUO, H., WITTUM, T. E., YOUSEF A. E., BAKALETZ, L. O. 2006. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. In *FEMS Microbiol Lett.*, vol. 254, 2006, p. 226-231.
- WINGENDER, J., NEU, T. R., FLEMMING, H. C. 1999. What are bacterial extracellular polymeric substances?. In *Microbial extracellular polymeric substances - characterization, structure and function*. WINGENDER, J., NEU, T. R., FLEMMING, H. C. (eds). pp. 1-19.
- WIRTANEN, G. 1995. Biofilm formation and its elimination from food processing equipment. VTT publications 251.
- WIRTANEN, G., SAARELA, M., MATTILA-SANDHOLM, T. 2000. Biofilms – Impact on hygiene in food industries. In *Biofilms II: Process analysis and applications*. Bryers J. D. (ed). pp. 327-372.
- ZHAO, T., DOYLE, M. P., ZHAO, P. 2004. Control of *Listeria monocytogenes* in a biofilm by competitive-exclusion microorganisms. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, 2004, p. 3996-4003.

Kontakná adresa:

Ing. Jozef Čapla, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: jozef.capla@uniag.sk.

Ing. Peter Zajac, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: zajac@potravinarstvo.com

Ing. Vladimír Vietoris, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Science, Department of Storage and Processing of Raw Food and Food of Plant Origin, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: vladimir.vietoris@uniag.sk

Ing. Pavol Bajzik, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: bajzik2@gmail.com