**Wykorzystanie pozytywnych biofilmów do zarządzania środowiskiem mikrobiologicznym drobiu**

*Rysunek 1. Przedstawienie interakcji pozytywnego biofilmu z S. aureus: sam pozytywny biofilm (a), pozytywny biofilm (zielony) i S. aureus (czerwony) (b), wizualizacja tylko komórek S. aureus (czerwony) (c) i czysta kultura S. aureus (czerwony) (d).*

**Za każdym razem, gdy nowe brojlery trafiają do kurnika, środki bezpieczeństwa biologicznego wpływają na poziom presji mikrobiologicznej. Wykazano, że integracja podejścia opartego na ochronnym biofilmie jest skutecznym narzędziem uzupełniającym te środki, pomagając w stworzeniu pozytywnego środowiska mikrobiologicznego po etapie dezynfekcji.**

Biosecurity -Julia Plateau-Gonthier, Lallemand Animal Nutrition

Mikroorganizmy są wszędzie. W budynkach gospodarskich wszystkie powierzchnie - podłogi, ściany, sufity i wyposażenie - są kolonizowane przez mikroorganizmy, głównie w formie biofilmów (patrz ramka). Mogą one być szkodliwe, pozytywne lub negatywne dla zwierząt, ludzi a nawet dla produktów końcowych, jeśli zawierają niepożądane bakterie. Zanim nowe stado ptaków wejdzie do budynku, konieczne jest czyszczenie i dezynfekcja. Jednakże, powierzchnie nie pozostają sterylne. Mikroorganizmy przeniesione ze środowiska zwierzęcego i od samych nowych ptaków szybko zaczynają rekolonizować powierzchnie tworząc biofilmy. Mikroorganizmy te mogą być niepożądanymi bakteriami lub potencjalnymi patogenami.

**Pozytywny biofilm bakteryjny**

Co by było, gdyby pożyteczne bakterie zostały zastosowane na powierzchniach i wyposażeniu budynku zaraz po czyszczeniu i dezynfekcji? Gdyby mogły one rozwinąć się w pozytywny biofilm bakteryjny wewnątrz budynku, pozostawiłoby to mniej miejsca na rozwój negatywnych biofilmów. Jest to podstawa koncepcji "pozytywnego biofilmu"; nowego podejścia do zarządzania bezpieczeństwem biologicznym. Składa się ona z trzech głównych etapów: czyszczenia, dezynfekcji i zastosowania wybranych bakterii, które utworzą pozytywny biofilm.

Próby na fermach i badania in vitro wykazały potencjał tego nowego podejścia jako części zestawu narzędzi do zarządzania higieną. W celu opracowania rozwiązania pozytywnego biofilmu, Lallemand Animal Nutrition wybrał szczepy bakterii ze względu na ich zdolność do tworzenia biofilmu i szybkiego zasiedlania środowiska. Pozytywny biofilm utworzony przez wybrane bakterie szybko zajmuje pustą przestrzeń na powierzchniach w gospodarstwie: testy in vitro wykazały 90% pokrycie powierzchni w ciągu 12 godzin, pozostawiając mniej miejsca dla niepożądanych bakterii. Wyselekcjonowane bakterie zostały opracowane w postaci specjalnej mieszanki klejowej, która może być rozpylana zarówno na powierzchniach pionowych jak i poziomych.

**Dowód in vitro**

Zewnętrzne badanie in vitro zostało przeprowadzone we współpracy z Instytutem INRA Micalis w Paryżu, Francja. Umożliwiło ono naukowcom wizualizację interakcji pomiędzy pozytywnym biofilmem a pewnymi mikroorganizmami patogennymi występującymi na fermach (Staphylococcus aureus HG003, Listeria monocytogenes LO28, Escherichia coli SS2 i E. coli 977). Płytki inokulowano albo pozytywną formułą biofilmu, albo samym badanym mikroorganizmem (kontrola). Po 24 godzinach na pozytywny biofilm dodawano badane mikroorganizmy. Rysunek 1 pokazuje jeden z przykładów wizualizacji pozytywnego i negatywnego biofilmu. Aby określić ilościowo te wyniki, badacze przeanalizowali obrazy mikroskopowe w celu obliczenia względnej objętości biofilmu. W przypadku czterech badanych mikroorganizmów, wstępna obróbka pozytywnego biofilmu pomogła uniknąć kolonizacji niepożądanymi mikroorganizmami.

Dalsze badania in vitro zostały przeprowadzone w Laboratorium Epidemiologii Molekularnej (LEPIMOL), Szkoły Medycyny Weterynaryjnej, na Uniwersytecie Federalnym w Uberlandii, Brazylia, w celu zbadania wpływu roztworu pozytywnego biofilmu na rekolonizację różnych mikroorganizmów (Salmonella gallinarum, S. heidelberg, Campylobacter jejuni i metycylinoopornego Staphylococcus aureus, lub MRSA) na różnych rodzajach matryc: płytach styropianowych (reprezentatywnych dla powierzchni wyposażenia kurnika) i materiałach ściółkowych (gleba i wióry drewniane), ponieważ produkt jest stosowany na fermie po zainstalowaniu budynku i zestawu ściółek. Badania wykazały, że każdy mikroorganizm rozwija się inaczej w zależności od materiału (rysunek 2).

W zależności od materiału, S. Heidelberg i S. Gallinarum nie rosły lub rosły w ograniczonym stopniu, gdy pozytywny roztwór biofilmu został zastosowany 24 godziny przed zanieczyszczeniem. We wszystkich przypadkach, 48 godzin po zakażeniu, liczba patogenów była znacząco niższa na wszystkich wstępnie zaszczepionych materiałach. To badanie in vitro wykazuje, że ustanowienie pozytywnego biofilmu po oczyszczeniu i dezynfekcji powierzchni lub materiału ściółkowego może pomóc w ograniczeniu rekolonizacji niepożądanych mikroorganizmów, które mogą być powszechne w budynkach gospodarskich, materiale ściółkowym lub nawet przenoszone przez ptaki wchodzące do kurnika.

**Ochrona środowiska drobiu**

Próba użytkowa została przeprowadzona w kurniku dla brojlerów. Roztwór pozytywnego biofilmu został zastosowany w dawce zalecanej dla kurników na dzień przed wejściem ptaków, a następnie ponownie po 15 dniach produkcji zwierzęcej, aby wzmocnić obecność korzystnych bakterii wokół ptaków. Z powierzchni karmników pobrano próbki do analizy mikrobiologicznej. Wykazano, że zastosowanie roztworu pozytywnego biofilmu doprowadziło do utworzenia pozytywnego biofilmu mikrobiologicznego (znaczące populacje Bacillus spp. zostały użyte jako wskaźnik pozytywnego biofilmu) (Rysunek 3). W rezultacie straty całkowite w budynku, w którym zastosowano roztwór pozytywnego biofilmu, zostały zredukowane o 21% w porównaniu z budynkiem kontrolnym.

Poprzez tworzenie pozytywnych biofilmów, to rozwiązanie bakteryjne pomaga w utrzymaniu bezpiecznego środowiska mikrobiologicznego w kurnikach, czego dowodem jest obniżona śmiertelność i wskaźniki uboju. Podsumowując, środki bezpieczeństwa biologicznego na fermie - w tym czyszczenie i dezynfekcja - wpływają na poziom presji infekcyjnej przed wejściem nowych zwierząt do kurnika. Wykazano, że zintegrowanie podejścia opartego na pozytywnym biofilmie jest skutecznym narzędziem uzupełniającym te środki. Zostało to wykazane w warunkach komercyjnych gospodarstw rolnych, gdzie zastosowano je w celu poprawy środowiska mikrobiologicznego, co miało pozytywny wpływ na zdrowie zwierząt i poprawę wyników produkcyjnych.

W dzisiejszym kontekście One Health, zapewnienie bezpiecznego środowiska mikrobiologicznego w całym cyklu produkcyjnym jest koniecznością, a nowe podejścia do bezpieczeństwa biologicznego, które łączą dezynfekcję z praktycznym systemem zarządzania ekosystemem mikrobiologicznym wyglądają bardzo obiecująco dla produkcji drobiu.

Referencje dostępne na życzenie. Biofilmy wyjaśnienia.

Około 90% biomasy bakterii na Ziemi jest zorganizowana w formie biofilmu. W naturze, większość bakterii nie żyje jako swobodnie pływające komórki. Są one zorganizowane w złożone społeczności znane jako biofilmy. Biofilm jest definiowany jako "zbiorowisko mikroorganizmów przytwierdzonych do powierzchni". Wydzielają one ochronną macierz zewnątrzkomórkową, która może stanowić 85% biomasy biofilmu. Tworzenie biofilmu jest dynamicznym i ewolucyjnym cyklem, który składa się z trzech głównych etapów: przyłączenia, rozwoju (i produkcji macierzy zewnątrzkomórkowej) oraz rozproszenia. Biofilm może być tworzony zarówno przez bakterie pożyteczne (tzw. biofilmy pozytywne), jak i niepożądane (tzw. biofilmy negatywne). Właściwości bakterii w biofilmie różnią się znacznie od właściwości tych samych bakterii w postaci swobodnej. Głównym problemem jest to, że niektóre bakterie patogenne w formie biofilmu mogą być 10 do 1000 razy bardziej odporne na środki przeciwdrobnoustrojowe lub dezynfekcyjne w porównaniu do bakterii izolowanych.

Tłumaczenie PZZHiPD