

**Ανθεκτικότητα βιο-υμενικών κυττάρων *Salmonella Typhimurium* και *Staphylococcus aureus* υπό συνθήκες μονο- και μεικτής καλλιέργειας σε υποθανάτιες συγκεντρώσεις χλωριούχου βενζαλκονίου , υπεροξικού οξέος και υποχλωριώδους νατρίου**

**Δουλγεράκη Α.Ι.<sup>1</sup>, Γκάνα Ε.<sup>1</sup>, Γκισούρης Ε.<sup>2</sup>, Καθάρειο Σ.<sup>3</sup>, Νυχάς Γ-Ι.Ε.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής Ανθρώπου, Εργ. Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>2</sup>Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Λήμνος, Ελλάδα

<sup>3</sup>Department of Food, Bioprocessing, and Nutrition Sciences, North Carolina State University, USA

Οι τροφοδηλητηριάσεις που αποδίδονται στα παθογόνα βακτήρια *Salmonella enterica* και *Staphylococcus aureus* αυξάνονται συνεχώς. Ένας σημαντικός παράγοντας που συνδέεται με την αύξηση του κινδύνου αυτών σχετίζεται με την διασταυρούμενη επιμόλυνση όχι μόνο στην βιομηχανία τροφίμων, αλλά και στους χώρους εστίασης, οικιακούς ή μη, ανάλογα με τον εναπομείναντα πληθυσμό των κυττάρων στις αβιοτικές επιφάνειες μετά από τον καθαρισμό και την απολύμανση. Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκε η ανθεκτικότητα βιο-υμενικών κυττάρων *Salmonella Typhimurium* (ST) και *Staphylococcus aureus* (SA) (3 στελέχη ανά είδος), όταν αυτά αφέθηκαν να σχηματίσουν βιο-υμένια είτε σε συνθήκες μόνο ή μεικτής καλλιέργειας σε επιφάνεια ανοξειδωτου χάλυβα (SS), σε τρία διαφορετικά απολυμαντικά (χλωριούχο βενζαλκόνιο BC, υπεροξικό οξύ PA και υποχλωριώδες νατρίου SH). Για το σκοπό αυτό, ώριμο βιο-υμένιο (επώαση για 6 ημέρες στους 20°C) εκτέθηκε σε υποθανάτιες συγκεντρώσεις BC (50ppm), PA (10ppm) και SH (10ppm) για 6 λεπτά. Παράλληλα εξετάστηκε η επικράτηση του κάθε στελέχους κατά την δημιουργία του βιο-υμενίου με την τεχνική PFGE. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι οι συνθήκες μεικτής καλλιέργειας οδήγησαν σε μείωση του πληθυσμού των βιο-υμενικών κυττάρων (0.6 και 1.1 log cfu/cm<sup>2</sup> για ST και SA, αντίστοιχα), σε σύγκριση με τις συνθήκες μονο-καλλιέργειας. Φάνηκε ότι το BC ήταν το πιο αποτελεσματικό απολυμαντικό στις δύο περιπτώσεις βιο-υμενικών κυττάρων. Το PA ήταν πιο αποτελεσματικό στην απολύμανση ST βιο-υμενικών κυττάρων και στις δύο συνθήκες καλλιέργειας. Παρατηρήθηκε ότι, η παρουσία ST μείωσε σημαντικά την αντίσταση των SA βιο-υμενικών κυττάρων στο PA. Επιπρόσθετα, με την τεχνική PFGE φάνηκε ότι τα διαφορετικά στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη μελέτη είχαν διαφορετική συμπεριφορά όσον αφορά την ικανότητα δημιουργίας βιο-υμενίου και την αντίσταση στα απολυμαντικά. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής μπορούν να βοηθήσουν στην διεύρυνση της γνώσης σχετικά με την φυσιολογία των βιο-υμενικών κοινοτήτων υπό συνθήκες μεικτής καλλιέργειας τροφιμογενών παθογόνων βακτηρίων.

**Λέξεις-κλειδιά:** βιο-υμένιο, παθογόνα, απολύμανση, μικροβιακές αλληλεπιδράσεις

**Ευχαριστίες:** Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την πράξη Θαλής: «Βιολογική ολιστική προσέγγιση της δΥναμικής Μορφής Επιβίωσης παθογόνων βακτηριακών σχηματισμών - BIOYMENIA», υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος "Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση" (ΕΠΕΔΒΜ) και συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ)."

**Resistance of biofilm cells of *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* under mono- and dual-species conditions to sub-lethal concentrations of benzalkonium chloride, paracetic acid and sodium hypochlorite**

**Agapi I Doulgeraki<sup>1</sup>, Eleni Gkana<sup>1</sup>, Efstathios Giaouris<sup>2</sup>, Sophia Kathariou<sup>3</sup>, George John E. Nychas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Department of Food Science and Human Nutrition, Agricultural University of Athens, Athens, Greece*

<sup>2</sup>*Department of Food Science and Nutrition, University of the Aegean, Lemnos Island, Greece*

<sup>3</sup>*Department of Food, Bioprocessing, and Nutrition Sciences, North Carolina State University, USA*

Food-borne diseases caused by pathogenic bacteria such as *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus*, are a major health concern worldwide. A significant factor linked with the risk of these is associated with cross contamination events in within the food industry and / or inside the domestic environment, depending on the remaining population of pathogenic cells on abiotic surfaces following cleaning and disinfection procedures. In this study, the resistance of sessile cells of *Salmonella* Typhimurium (ST) and *Staphylococcus aureus* (SA) (3 strains per species), when these were left to form biofilms under either mono- or dual-species conditions on a stainless steel surface, to 3 different disinfectants (benzalkonium chloride BC, paracetic acid PA and sodium hypochlorite SH) was investigated. To achieve this, formed biofilms (incubation at 20°C for 6 days) were exposed to sub lethal concentrations of BC (50ppm), PA (10ppm) and SH (10ppm) for 6 minutes. The dominance of each strain in the sessile communities was monitored using PFGE. Results showed that dual-species conditions seem to lead to a reduction in the number of sessile cells (0.6 and 1.1 log cfu/cm<sup>2</sup> for ST and SA, respectively), compared to mono-species conditions. Regarding the disinfection resistance, in general BC was found to be more effective in both mono- and dual-species biofilm communities. PA was more effective against ST biofilm cells under both conditions. Interestingly, the presence of ST strongly decreased the resistance of SA biofilm to PA. PFGE analysis interestingly revealed that the different strains here employed behaved differently with regard to biofilm formation ability and antimicrobial resistance. This research will hopefully improve our knowledge on the physiology of multi-species biofilms formed by foodborne pathogenic bacteria.

**Keywords:** biofilm, pathogens, disinfection, microbial interactions

**Acknowledgments:** This work was found by the action THALIS: “*Biological Investigation Of the Forces that Influence the Life of pathogens having as Mission to Survive in various Lifestyles; BIOFILMS*”, falls under the Operational Programme (OP) "Education and Lifelong Learning (EdLL)" and is co-financed by the European Social Fund (ESF) and National Resources