УДК 637.075; 648.63 https://doi.org/10.21603/1019-8946-2024-4-7

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОРЧИ РОДА *PSEUDOMONAS* К ДЕЙСТВИЮ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Юлия Константиновна Юшина[1], д-р. техн. наук, руководитель лаборатории гигиены, производства и микробиологии
E-mail: yu.yushina@fncps.ru
Дагмара Султановна Батаева[1], канд. техн. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гигиены, производства и микробиологии
E-mail: d.bataeva@fncps.ru
Назарбай Ахматович Насыров[1], младший научный сотрудник лаборатории гигиены, производства и микробиологии
E-mail: n.nasyrov@fncps.ru
Елена Викторовна Зайко[1], младший научный сотрудник лаборатории гигиены, производства и микробиологии
E-mail: e.zaiko@fncps.ru
Олеся Алексеевна Стаханова[1], инженер-исследователь лаборатории гигиены, производства и микробиологии
E-mail: o.stahanova@fncps.ru
Григорий Новомирович Рогов[2], канд. техн. наук, директор
E-mail: g.rogov@fncps.ru
[1]Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, г. Москва
[2]Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова, г. Углич

Представлены результаты изучения устойчивости к дезинфицирующему средству изолятов рода *Pseudomonas*, выделенных из молочного продукта с органолептическими изменениями (синий цвет) и с объектов производственной среды. Штаммы микроорганизмов изучали в планктонном и в биопленочном состоянии. Исследовано 5 штаммов. Наблюдали различия в устойчивости к дезинфицирующему средству среди исследованных штаммов в зависимости от форм (планктонная или биопленочная). Большинство изолятов демонстрировали устойчивость к дезинфицирующему средству в состоянии биопленки. Проявление устойчивости штаммов *Pseudomonas brenneri*, *Pseudomonas synxantha* и *Pseudomonas libanensis* напрямую было связана с их способностью образовывать биопленки. Таким образом, при выборе дезинфицирующих средств для профилактического обеззараживания объектов производственной среды необходимо учитывать их антибактериальную активность в отношении биопленочных форм, а также пересмотреть подходы к санитарной обработке на пищевых предприятиях.

Ключевые слова: биопленки, дезинфекция, устойчивость, порча продуктов, молочные продукты

Для цитирования: Изучение устойчивости микроорганизмов порчи рода *Pseudomonas* к действию дезинфицирующего средства / Ю. К. Юшина, Д. С. Батаева, Н. А. Насыров [и др.] // Молочная промышленность. 2024. № 4. С. 70–76. https://doi.org/10.21603/1019-8946-2024-4-7

ВВЕДЕНИЕ

Порча молока и молочных продуктов причиняет значительный экономический ущерб не только промышленным предприятиям, но и экономике страны в целом [1]. Это влияет на прибыльность бизнеса, доверие потребителей и конкурентоспособность компаний на рынке [2, 3]. Порча молочных продуктов чаще всего связана с развитием психротолерантных грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas* [4, 5, 6], которые попадают в молоко при его получении на молочных фермах или в процессе технологического процесса изготовления молочной продукции. Они вызывают порчу молока и молочных продуктов за счет выработки липолитических и протеолитических ферментов. Большинство этих ферментов выдерживают применяемые в молочной промышленности режимы пастеризации молока практически полностью, сохраняя свою активность при охлаждении. Их действие негативно сказывается на органолептических свойствах и, соответственно, на сроке годности молочных продуктов [7].

Порча молочной продукции, связанная с загрязнением бактериями рода *Pseudomonas*, проявляется в процессе хранения. [8, 9, 10, 11]. Из-за вероятности контаминации молока и молочных продуктов извне необходимо контролировать объекты окружающей среды на наличие микроорганизмов порчи [12].

Причиной синего окрашивания молочных продуктов (порча), в частности сыра, выступают некоторые представители группы *P. fluorescens* [13]. Известно, что они образуют синий пигмент в определенных условиях, особенно при нарушении рекомендованных режимов хранения [14, 15].

Помимо секреции ферментов и выработки синего пигмента, *P. fluorescens* также обладают способностью образовывать биопленки в резервуарах и на объектах сыроварни (трубы, творожные чаны, столы и прессы для сыра) [16], что обеспечивает защиту их от неблагоприятных условий, таких как процессы обеззараживания [17].

На различных поверхностях объектов производственной среды предприятий по переработке молока формируются как моновидовые биопленки, так и многовидовые, что обеспечивает более высокую устойчивость микроорганизмов к дезинфицирующим средствам (ДС) по сравнению с моновидовыми биопленками. Биопленки могут быть сформированы в самых неожиданных местах. Например, на стенках пастеризатора они были образованы термофильными микроорганизмами [18, 19, 20, 21].

Борьба с биопленками включает в себя ежедневную чистку и дезинфекцию оборудования, в том числе пастеризаторов, трубопроводов и емкостей. При этом важно использовать моющие и дезинфицирующие средства, специально разработанные для удаления биопленок [22].

Однако кроме активных мер по удалению биопленок, важно предотвращать их образование. Для этого следует регулярно проводить профилактическое обслуживание оборудования, повысить качество используемого сырья, использовать эффективные ДС в отношении планктонных и биопленочных форм микробиоты, вызывающей порчу продукции.

Оценивая устойчивость штаммов микроорганизмов колонизирующих объекты производственной среды, которые в конечном итоге являются причиной порчи пищевой продукции, можно будет предотвращать порчу продукции. В данной работе представлены результаты такого исследования.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования были выбраны штаммы *Pseudomonas fluorescens* № 2968, *Pseudomonas tolaasii* № 2971, *Pseudomonas libanensis* № 2936, *Pseudomonas synxantha* № 2941 и *Pseudomonas brenneri* № 2975, которые были выделены из продукта (творожное зерно) с измененным цветом (синий цвет) и объектов производственной среды молочного предприятия. Штаммы изучали в планктонном и биопленочном состоянии.

Устойчивость этих штаммов изучали к 0,5 и 0,8 % рабочим растворам дезинфицирующего средства (ДС) следующего состава: азотная кислота – 18,55 %, органический комплексообразователь, органические кислоты и ряд функциональных компонентов.

Источник изображения: unsplash.com

Изучение устойчивости планктонных форм микроорганизмов к ДС проводили согласно Р 4.2.53676-20 суспензионным методом. Для приготовления рабочей культуры использовали микроорганизмы, выращенные на твердой питательной среде TSA (Himedia, Индия) при температуре 30 °С в течение 18–24 часов. Для приготовления бактериальной взвеси смывали культуру с агара стерильной водой и доводили концентрацию до 1×10^9 КОЕ/см^3. Рабочий раствор ДС разливали в стерильные пробирки по 4,5 см^3, добавляли 0,5 см^3 взвеси исследуемого микроорганизма и тщательно перемешивали. Через 15 мин, по 0,5 см^3 взвеси «тест-микроорганизм + дезинфицирующее средство» добавляли к 4,5 см^3 нейтрализатора, снова тщательно перемешивали и оставляли на 5 мин. В качестве нейтрализатора использовали универсальный нейтрализатор по Р 4.2.3676-20. Затем отбирали из нее 1 см^3 и вносили в пробирки с 5 см^3 жидкой неселективной питательной среды TSB (Himedia, Индия), а также на поверхность плотной питательной среды TSA. В контрольных пробах вместо рабочих растворов ДС использовали стерильную дистиллированную воду. Посевы инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24–48 ч. Штамм считали устойчивым к действию ДС, если наблюдали выраженный рост на питательных средах.

Определение способности образовывать биопленки. Способность к образованию биопленок изучали *in vitro* в микротитровальных планшетах согласно ранее описанному методу с небольшими модификациями [23]. Для этого ночную бульонную культуру бактерий, разводили 1:100 в LB бульоне (Becton Dickinson, США) и вносили по 150 мкл

в лунки 96-ти луночного плоскодонного полистиролового планшета (Corning, США). После инкубации в термостате (Binder, Германия) при 37 °С во влажной камере, интенсивность роста культуры оценивали в фотометре (Multiskan FC, Thermo Scientific, США) при длине волны 540 нм. Затем удаляли планктонные клетки и в лунки вносили по 150 мкл 0,1 % раствора кристаллического фиолетового (Servicebio, Китай) с экспозицией 1 час для окраски сформировавшихся биопленок. После окраски биопленки трижды промывали дистиллированной водой с последующим внесением 150 мкл 96 % этанола для экстракции связавшегося с биопленками красителя. По истечении 1 часа измеряли оптическую плотность (ОП) красителя, экстрагированного спиртом, при длине волны 540 нм. Контролем служили лунки, заполненные стерильным бульоном. Превышение оптической плотности кристаллического фиолетового над контролем свидетельствовало об образовании бактериями биопленок. Способность штаммов к образованию биопленок классифицировали с использованием следующей шкалы: нет биопленкообразования (ОП = 0)→ очень слабое (0 < ОП < 0,2) → слабое (0,2 < ОП < 0,4) → сильное (0,4 < ОП < 1,0) → очень сильное (ОП > 1,0).

Изучение устойчивости биопленочных форм микроорганизмов к ДС. Для формирования бактериальной биопленки использовали 12-луночный планшет с 2 см^3 бульона BHI (Merck, Germany) с добавлением 20 мкл суспензии микроорганизма в планктонном состоянии в концентрации 1 × 10^9 КОЕ/см^3 [23]. Затем посевы инкубировали в течение 72 час при температуре 30 °С. С помощью прибора аспиратор FTA-1 Aspirator (Biosan, Латвия) отбирали культуральную жидкость из планшета. В освобожденные лунки добавляли стерильную питьевую воду для смывания остатков культуры. В лунки с биопленками вносили рабочий раствор ДС. В одну из лунок, которую использовали, как положительный контроль, не добавляли рабочий раствора ДС, имитировали его стерильной водой. Выдерживали экспозицию 30 мин. По окончанию времени экспозиции удаляли ДС и трижды промывали лунки с помощью стерильной воды. Для установления факта гибели микроорганизмов в биопленке и для ее смывания из лунок планшета, сначала вносили физиологический раствор и в течение 30 минут периодически суспендировали его, а затем проводили высев из лунки 100 мкл жидкости на TSA агар (Himedia, Индия) и растирали шпателем. Инкубировали в течение 24 час при температуре 30 °С. Провели подсчет колоний, выросших на поверхности агара контрольных и опытных образцов. Количество колоний контрольного образца принимали за 100 %. Количество колоний контрольного и опытного образца использовали в расчетах % гибели бактериальных клеток в биопленках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы была **проведена оценка устойчивости планктонных форм бактерий рода *Pseudomonas* к дезинфицирующим средствам** (ДС). Результаты представлены в таблице 1.

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что штаммы *Pseudomonas fluorescens* № 2968, *Pseudomonas tolaasii* № 2971, *Pseudomonas libanensis* № 2936, *Pseudomonas synxantha* № 2941 и *Pseudomonas brenneri* № 2975 в планктонной форме не устойчивы к действию 0,5 и 0,8 % рабочих растворам ДС.

Хотя планктонные формы микроорганизмов чувствительны к действию антимикробных веществ, микробные клетки имеют механизмы, способствующие выживанию, например, способность формировать биопленочные сообщества.

Таблица 1
Результаты оценки роста бактерий рода *Pseudomonas* в планктонном состоянии после обработки дезинфицирующим средством

Концен-трация рабочего раствора по массе, %	Экспозиция, мин	Количество клеток, КОЕ/см^3				
		Pseudomonas fluorescens № 2968	*Pseudomonas tolaasii* № 2971	*Pseudomonas libanensis* № 2936	*Pseudomonas synxantha* № 2941	*Pseudomonas brenneri* № 2975
0,5	5 мин	0	0	0	0	0
0,8	5 мин	0	0	0	0	0
Контроль	5 мин	1 × 10^9	1 × 10^9	1 × 10^9	1 × 10^9	1 × 10^9

Микроорганизмы обладают способностью адаптироваться и вырабатывать защитные механизмы для выживания в стрессовых условиях. Одним из таких механизмов является их способность формировать биопленки, что может угрожать безопасности пищевых продуктов [24]. Формирование биопленки дает преимущества при защите от физического и химического стресса. Слои поверхностно-колонизированных биопленок могут блокировать проникновение растворов ДС во внутренние слои биопленок и тем самым защищать бактерии в этих слоях от воздействия дезинфектантов [25].

Особая обеспокоенность возникает при формировании биопленок микроорганизмов порчи продуктов. Среди бактерий порчи, которые влияют на качество и соответственно на срок годности пищевых продуктов, в том числе молочных, преобладают псевдомонады. Этот род один из родов бактерий с наибольшим количеством видов, вызывающих порчу пищевых продуктов, включая мясо и мясные продукты, готовые к употреблению овощи, молоко и молочные продукты [26].

Снижение циркуляции псевдомонад на предприятиях по переработке молока необходимо не только из-за их потенциала порче, но способности образовывать биопленки на различных поверхностях в производственной среде, т. к. они устойчивы к используемым режимам санитарной обработки [27].

Была изучена способность, штаммов рода Pseudomonas формировать биопленки. Результаты представлены на рисунке 1.

Штаммы *Pseudomonas synxantha* № 294, *Pseudomonas brenneri* № 2975, *Pseudomonas fluorescens* № 2968 и *Pseudomonas libanensis* № 2936 уже через 48 часов инкубирования сформировали биопленки. ОП каждого из штамма при длине волны 540 нм была выше 0,5 единиц, что по шкале классификации способности штамма к образованию биопленок можно отнести к сильным биопленкообразователям. С увеличением времени инкубирования до 72 часов оптическая плотность (ОП) биопленки, образованной *Pseudomonas libanensis* увеличилась до 1,001 единицы, что указывает на очень сильную способность сформировывать более плотные биопленки. Все изученные штаммы *Pseudomonas* обладали способностью к формированию биопленок.

Была изучена устойчивость штаммов, в составе биопленок к 0,5 и 0,8 % рабочим растворам ДС. Результаты представлены на рисунках 2–6.

Источник изображения: unsplash.com

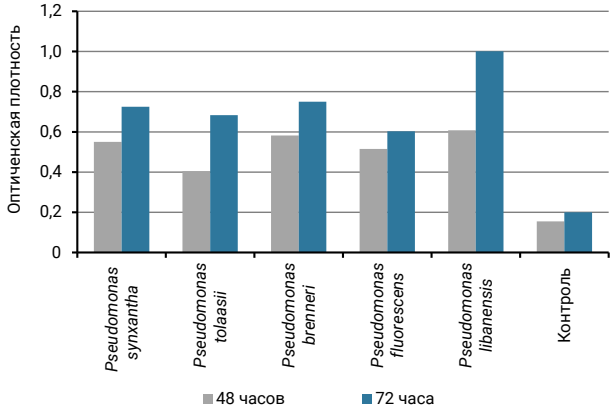
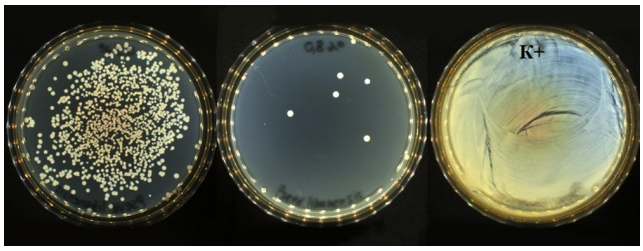


Рисунок 1. Результаты формирования биопленки бактериями рода *Pseudomonas*

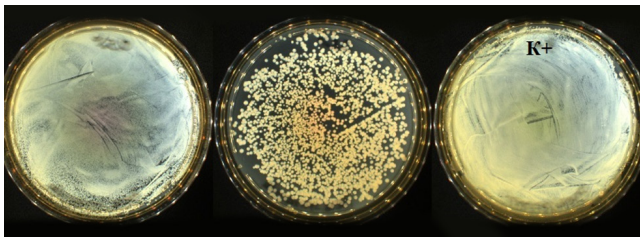
Pseudomonas libanensis № 2936, *Pseudomonas synxantha* № 2941 и *Pseudomonas brenneri* № 2975, находящиеся в биопленочном состоянии проявляли, устойчивость к обеим концентрациям ДС (рис. 2, 3 и 4), а *Pseudomonas fluorescens* № 2968 наоборот был очень чувствителен к обеим концентрациям ДС (рис. 5). *Pseudomonas tolaasii* № 2971 в составе биопленки был менее устойчив к 0,5 % рабочему раствору ДС (рис. 6), чем *Pseudomonas libanensis* № 2936, *Pseudomonas synxantha* № 2941 и *Pseudomonas brenneri* № 2975, но более устойчив чем *Pseudomonas fluorescens* № 2968.

В таблице 2 представлены результаты количественной оценки роста бактерий рода *Pseudomonas* в биопленочном состоянии после обработки ДС.



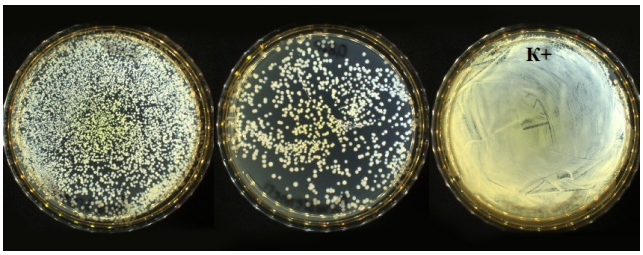
Концентрация дезинфицирующего средства 0,5 % | Концентрация дезинфицирующего средства 0,8 % | Контроль положительный

Рисунок 2. Результаты оценки роста *Pseudomonas libanensis* № 2936 в биопленочном состоянии после воздействия 0,5 и 0,8 % рабочих растворов дезинфицирующего средства



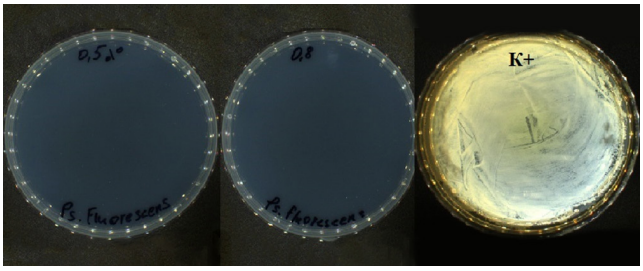
Концентрация дезинфицирующего средства 0,5 % | Концентрация дезинфицирующего средства 0,8 % | Контроль положительный

Рисунок 3. Результаты оценки роста *Pseudomonas synxantha* № 2941 в биопленочном состоянии после воздействия 0,5 и 0,8 % рабочих растворов дезинфицирующего средства



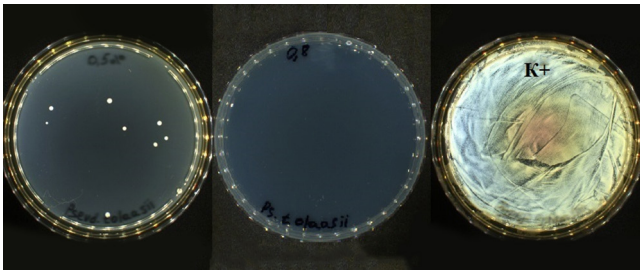
Концентрация дезинфицирующего средства 0,5 % | Концентрация дезинфицирующего средства 0,8 % | Контроль положительный

Рисунок 4. Результаты оценки роста Pseudomonas *brenneri* № 2975 в биопленочном состоянии после воздействия 0,5 и 0,8 % рабочих растворов дезинфицирующего средства



Концентрация дезинфицирующего средства 0,5 % | Концентрация дезинфицирующего средства 0,8 % | Контроль положительный

Рисунок 5. Результаты оценки роста *Pseudomonas fluorescens* № 2968 в биопленочном состоянии после воздействия 0,5 и 0,8 % рабочих растворов дезинфицирующего средства



Концентрация дезинфицирующего средства 0,5 % | Концентрация дезинфицирующего средства 0,8 % | Контроль положительный

Рисунок 6. Результаты оценки роста *Pseudomonas* tolaasii № 2971 в биопленочном состоянии после воздействия 0,5 и 0,8 % рабочих растворов дезинфицирующего средства

Таблица 2

Результаты оценки роста бактерий рода *Pseudomonas* в биопленочном состоянии после обработки дезинфицирующим средством

Концен-трация рабочего раствора по массе, %	Экспозиция, мин	Количество клеток, КОЕ/см^3				
		Pseudomonas fluorescens № 2968	*Pseudomonas tolaasii* № 2971	*Pseudomonas libanensis* № 2936	*Pseudomonas synxantha* № 2941	*Pseudomonas brenneri* № 2975
0,5	15 мин	0	9×10^1	6×10^5	1×10^7	$9{,}3 \times 10^6$
0,8	15 мин	0	0	2×10^5	$5{,}6 \times 10^6$	$4{,}9 \times 10^6$
Контроль	15 мин	$1{,}5 \times 10^9$	$2{,}1 \times 10^9$	$1{,}2 \times 10^9$	1×10^9	$1{,}4 \times 10^9$

Использованные концентрации рабочих растворов ДС обладали 100 % эффективностью только в отношении биопленочных форм штаммов *Pseudomonas fluorescens* № 2968 и в концентрации 0,8 % в отношении *Pseudomonas tolaasii* № 2971. Биопленки, образованные *Pseudomonas brenneri* № 2975, *Pseudomonas libanensis* № 2936 и *Pseudomonas synxantha* № 2941, сложно будет уничтожить с помощью химических средств из-за их устойчивости к рабочим концентрациям ДС.

ВЫВОДЫ

Причиной порчи зерненого творога (творожного зерна) могут быть различные виды *Pseudomonas* за счет того, что образуют биопленки, устойчивые к воздействию дезинфицирующих средств (ДС). Полученные данные коррелируют с результатами других исследователей. Bryers J. D. и др. [28] доказали способность микроорганизмов рода *Pseudomonas* образовывать биопленку на поверхностях, контактирующих с пищевыми продуктами и устойчивость к ДС с различными действующими веществами. Выбранные для исследования ДС приводили только к уменьшению количества КОЕ в биопленке, что увеличивало вероятность контаминации пищевых продуктов. Повышение концентраций рабочих растворов ДС и время обработки изменяло количество КОЕ жизнеспособных клеток. При окрашивании обработанной ДС биопленки (окраска Live/Dead) было выявлено большое количество нежизнеспособных клеток (красного цвета) на 90 % поверхности матрикса. Однако клетки, заключенные внутри матрикса биопленки, оставались живыми (зеленого цвета) [29]. Учеными из Италии также была подтверждена устойчивость к ДС биопленок, образованных бактериями рода *Pseudomonas* [30]. Для повышения устойчивости к стрессовым воздействиям микроорганизмы образуют симбиотические консорциумы [31]. Патогенные микроорганизмы и бактерии порчи формируют бинарные биопленки повышенной устойчивости, в т. ч. и на поверхности объектов производственной среды, что является риском контаминации производимой продукции представителями биопленок.

В борьбе с биопленками важна не только эффективность ДС, но способы мойки и обеззараживания. Было описано, что протирание является более эффективным способом воздействия на биопленку, ввиду физического воздействия и разрушения матрикса, в то время как орошение и замачивание – менее эффективные способы, особенно при обработке труднодоступных мест [30].

Устойчивость к ДС различных видов *Pseudomonas* зависит от скорости образования и состава матрикса. У них отмечается наличие гена, отвечающего за образование биопленки. Повышение концентрации рабочих растворов ДС может снизить концентрацию клеток на 1,21 $\log_{10}$ КОЕ/см2, но не приводит к полному подавлению жизнеспособности микроорганизмов [32].

На примере пяти разных штаммов одного рода *Pseudomonas*, выделенных с одного производства и изученных как в планктонном состоянии, так и в биопленках наглядно было продемонстрировано, что они имеют разную устойчивость к ДС. В то время как бактерии в планктонном состоянии были чувствительны к ДС, бактерии в составе биопленки проявляли частичную или полную устойчивость. Это вызывает сложности при выборе ДС и концентраций рабочих растворов. Современные методы исследования микробиоты производства и пищевых продуктов позволяют обосновать ненадежность современной оценки антибактериальной эффективности ДС, способов проведения профилактической дезинфекции на пищевых предприятиях и входного контроля сырья. Выбор более эффективных ДС должен быть основан на их способности оказывать действие на биопленку: растворять матрикс биопленки, проникать в несколько слоев биопленки и нарушать целостность клеточной мембраны. ■

FOOD SPOILAGE BY PSEUDOMONAS SPP.: DISINFECTANT TOLERANCE

Yuliya K. Yushina[1], **Dagmara S. Bataeva**[1], **Nazarbaj A. Nasyrov**[1], **Elena. V. Zaiko**[1], **Olesya. A. Stakhanova**[1], **Grigorij. N. Rogov**[2]
[1]Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow
[2]All-Russian Research Institute of Butter and Cheese Production, Gorbatov Federal Scientific Center for Food Systems, Uglich

ORIGINAL ARTICLE

This research featured the resistance of isolates of Pseudomonas spp. to disinfectants. The samples were isolated from a dairy product with visible sensory changes, i.e., blue discoloration, as well as from objects of dairy production environment. As a result, five strains in planktonic and biofilm states were tested for disinfectant tolerance. Most isolates demonstrated more tolerance as biofilms than as plankton. The disinfectant tolerance in Pseudomonas brenner, Pseudomonas synxantha, and Pseudomonas libanensis correlated with their ability to form biofilms. Antibacterial activity against biofilm is an important indicator when choosing an optimal preventive disinfectant for dairy production facilities. The research results make it necessary to reconsider the current approaches to sanitary treatment in the food industry.

Keywords: biofilms, disinfection, tolerance, food spoilage, dairy products

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Campbell, C. G.** Invited review: The consumer and dairy food waste: An individual plus policy, systems, and environmental perspective / C. G. Campbell, G. L. Feldpausch // Journal of Dairy Science. 2022. V. 105. № 5. P. 3736–3745. https://doi.org/10.3168/jds.2021-20994
2. **Conrad, Z.** Relationship between food waste, diet quality, and environmental sustainability / Z. Conrad [et al.] PloS one. 2018. V. 13. № 4. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195405
3. **Chierici, M.** Strain diversity of Pseudomonas fluorescens group with potential blue pigment phenotype isolated from dairy products / M. Chierici [et al.] // Journal f food protection. 2016. V. 79. № 8. P. 1430–1435. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-589
4. **Ranieri, M. L.** Bacterial ecology of high-temperature, short-time pasteurized milk processed in the United States / M. L. Ranieri, K. J. Boor // Journal of Dairy Science. 2009. V. 92. № 10. P. 4833–4840. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2181
5. **Martin, N. H.** Symposium review: Effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality / N. H. Martin, K. J. Boor, M. Wiedmann // Journal of Dairy Science. 2018. V. 101. № 1. P. 861–870. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13339
6. **Reichler, S. J.** Pseudomonas fluorescens group bacterial strains are responsible for repeat and sporadic postpasteurization contamination and reduced fluid milk shelf life / S. J. Reichler [et al.] // Journal of Dairy Science. 2018. V. 101. № 9. P. 7780–7800. https://doi.org/10.3168/jds.2018-14438
7. **López-Fandiño, R.** Proteolysis during storage of UHT milk: differences between whole and skim milk / R. López-Fandiño // Journal of Dairy Research. 1993. V. 60. №. 3. P. 339–347. https://doi.org/10.1017/s0022029900027680
8. **Cousin, M. A.** Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review / M. A. Cousin // Journal of Food Protection. 1982. V. 45. № 2. P. 172–207. https://doi.org/10.4315/0362-028X-45.2.172
9. **Griffiths, M. W.** Post-pasteurization contamination – the major cause of failure of fresh dairy products / M. W. Griffiths, J. D. Phillips, D. D. Muir // Hannah Res. 1984. V. 1984. P. 77–87. https://doi.org/10.1016/S0723-2020(96)80024-5
10. **Moseley, W. K.** Pinpointing post-pasteurization contamination / W. K. Moseley // Journal of Food Protection. 1980. V. 43. № 5. P. 414. https://doi.org/10.4315/0362-028X-43.5.414
11. **Schröder, M. J. A.** Origins and levels of post pasteurization contamination of milk in the dairy and their effects on keeping quality / M. J. A. Schröder // Journal of Dairy Research. 1984. V. 51. № 1. P. 59–67. https://doi.org/10.1017/S0022029900023323
12. **Wiedmann, M.** Molecular and phenotypic characterization of Pseudomonas spp. isolated from milk / M. Wiedmann // Applied and Environmental Microbiology. 2000. V. 66. № 5. P. 2085–2095. https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2085-2095.2000
13. **Rossi, C.** Biofilm formation, pigment production and motility in Pseudomonas spp. isolated from the dairy industry / C. Rossi [et al.] / Food Control. 2018. V. 86. P. 241–248. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.018
14. **Caputo, L.** Pepsin-digested bovine lactoferrin prevents Mozzarella cheese blue discoloration caused by Pseudomonas fluorescens / L. Caputo [et al.] // Food Microbiology. 2015. V. 46. P. 15–24. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.021
15. **Cenci-Goga, B. T.** Evolution under different storage conditions of anomalous blue coloration of Mozzarella cheese intentionally contaminated with a pigment-producing strain of Pseudomonas fluorescens / B. T. Cenci-Goga [et al.] // Journal of Dairy Science. 2014. V. 97. № 11. P. 6708–6718. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8611
16. **Carrascosa, C.** Blue pigment in fresh cheese produced by Pseudomonas fluorescens / C. Carrascosa [et al.] // Food Control. 2015. V. 54. P. 95–102. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.039
17. **Cherif-Antar, A.** Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant / A. Cherif-Antar [et al.] // Dairy Science & Technology. 2016. V. 96. P. 27–38. https://doi.org/10.1007/s13594-015-0235-4
18. **Knight, G. A.** Innovation, organizational capabilities, and the born-global firm / G. A. Knight, S. T. Cavusgil // Journal of International Business Studies. 2004. V. 35. P. 124–141. https://doi.org/10.1057/palgrave.jibs.8400071
19. **Ronimus, R. S.** A RAPD-based comparison of thermophilic bacilli from milk powders / R. S. Ronimus [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2003. T. 85. V. 1–2. P. 45–61. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00480-4
20. **Macleod, S. M.** Species interactions in mixed-community crystalline biofilms on urinary catheters / S. M. Macleod, D. J. Stickler // Journal of Medical Microbiology. 2007. V. 56. № 11. P. 1549–1557. https://doi.org/10.1099/jmm.0.47395-0
21. **Ivnitsky, H.** Bacterial community composition and structure of biofilms developing on nanofiltration membranes applied to wastewater treatment / H. Ivnitsky [et al.] // Water Research. 2007. V. 41. № 17. P. 3924–3935. https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.021
22. **Friedlander, A.** Preventing biofilm formation by dairy-associated bacteria using peptide-coated surfaces / A. Friedlander [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2019. V 10. P. 1405. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01405
23. **O'Toole, G.** Biofilm formation as microbial development / G. O'Toole, H. B. Kaplan, R. Kolter // Annual Reviews in Microbiology. 2000. V. 54. № 1. P. 49–79. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49
24. **Rozman, U.** Reduced susceptibility and increased resistance of bacteria against disinfectants: A systematic review / U. Rozman // Microorganisms. 2021. V. 9. № 12. P. 2550. https://doi.org/10.3390/microorganisms9122550
25. **Wang, H.** Biofilm formation by meat-borne Pseudomonas fluorescens on stainless steel and its resistance to disinfectants / H. Wang // Food Control. 2018. V. 91. P. 397–403. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.035
26. **Dogan, B.** Genetic diversity and spoilage potentials among Pseudomonas spp. isolated from fluid milk products and dairy processing plants / B. Dogan, K. J. Boor // Applied and Environmental Microbiology. 2003. V. 69. № 1. P. 130–138. https://doi.org/10.1128/AEM.69.1.130-138.2003
27. **Zarei, M.** High biofilm-forming Pseudomonas strains isolated from poultry slaughterhouse surfaces: Their importance in the persistence of *Salmonella* enteritidis in slaughterhouses / M. Zarei // International Journal of Food Microbiology. 2023. V. 390. P. 110126. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110126
28. **Bryers, J. D.** Biofilms II Process analyses and applications / J. D. Bryers. – John Wiley & Sons: New York, 2000. – P. 45–88.
29. **Wang, H.** Biofilm formation by meat-borne Pseudomonas fluorescens on stainless steel and its resistance to disinfectants / H. Wang [et al.] / Food Control. 2018. V. 91. P. 397–403. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.035
30. **Jha, P. K.** Formation and resistance to cleaning of biofilms at air-liquid-wall interface. Influence of bacterial strain and material / P. K. Jha [et al.] // Food Control. 2020. V. 118. P. 107384. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107384
31. **Wang, R.** Mixed biofilm formation by Shiga toxin–producing Escherichia coli and *Salmonella* enterica serovar Typhimurium enhanced bacterial resistance to sanitization due to extracellular polymeric substances / R. Wang // Journal of Food Protection. 2013. V. 76. № 9. P. 1513–1522. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-077
32. **Yushina, Y. K.** Evaluation of approaches to increase the effectiveness of various disinfectants against biofilm communities of different ages / Y. K. Yushina // Theory and practice of meat processing. 2024. V. 8. № 4. P. 273–281. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-4-273-281