جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بـــــررســـــی تشکیـــل بیـــــوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز بر سطوح مختلف

منیژه مهدوی*
دکتر محمد جلالی**
دکتر روحا کسری کرمانشاهی***

* کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مربی دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
** دکترای میکروبیولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه
*** دکترای میکروبیولوژی، استاد دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ وصول: ۱۳۸۶/۳/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۱/۱۰

مؤلف مسئول : دکتر محمد جلالی
پست الکترونیک: Jalali@mui.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: لیستریا مونوسیتوژنز یک باکتری عامل عفونت‌های غذایی است. این باکتری به فراوانی در طبیعت و مواد غذایی گوناگون یافت می‌شود و موجب سپتیسمی، مننژیت، سقط جنین و عفونت‌های غذایی می‌گردد. لیستریا مونوسیتوژنز همچنین بر بسیاری سطوح در تماس با مواد غذایی و تجهیزات پزشکی تشکیل بیوفیلم می‌دهد. تشکیل بیوفیلم باکتری‌ها بر روی چنین سطوحی به عنوان یک منبع بالقوه آلودگی در نظر گرفته می‌شود که امکان انتقال باکتری‌ها و شیوع بیماری‌ها را افزایش می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز بر سطوح مختلف بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت تجربی در سال ۱۳۸۵ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه اصفهان انجام گردید. ابتدا هیدروفوبیسیتی سطح سلول لیستریا مونوسیتوژنز با روش اتصال میکروبی به هیدروکربن تعیین گردید. سپس بیوفیلم آن بر سطوح استیل، پلی‌اتیلن و شیشه در مدت زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۲۰ ساعت تشکیل داده شد و با روش دراپ پلیت شمارش گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار اکسل و مینی‌تب و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و توکی کرامر مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: لیستریا مونوسیتوژنز با هیدروفوبیسیتی (۸۵ درصد) توانایی تشکیل بیوفیلم بر سه سطح ذکر شده را دارد. میزان تشکیل بیوفیلم آن بر سطح استیل با اختلاف معنی‌داری بیشتر از سایر سطوح بود($p<0/05$) .

نتیجه‌گیری: تشکیل بیوفیلم لیستریا بر سطوح مورد استفاده در وسایل پزشکی و غذایی امکان انتقال این باکتری را افزایش داده که از نظر بهداشتی و انتقال بیماری بسیار حایز اهمیت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استیل زنگ‌نزن، بسته‌بندی مواد غذایی، بیوفیلم، لیستریا مونوسیتوژنز، هیدروفوبیسیتی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

لیستریا مونوسیتوژنز اغلب از طریق مواد غذایی آلوده به انسان منتقل و باعث ایجاد لیستریوزیس در انسان می‌گردد. این باکتری علاوه بر ایجاد علایم معمول می‌تواند عامل عفونت غذایی منجر به مننژیت، سپتیسمی و سقط جنین در زنان باردار گردد(۱). از طرفی در موارد اپیدمیک عفونت غذایی میزان مرگ و میر ۳۰ تا ۴۰ درصد و در افراد مستعد تا ۷۵ درصد هم گزارش شده است(۲). لیستریا به طور معمول در محیط اطراف انسان و طبیعت یافت می‌شود و تاکنون مطالعات گسترده‌ای این باکتری را از مواد غذایی گوناگون شامل؛ گوشت و فراورده‌های آن، شیر و لبنیات و سبزیجات جدا نموده‌اند(۳). لیستریا مونوسیتوژنز یک باکتری سرمادوست است و لذا در دمای پایین یخچالی قادر به رشد و تکثیر است و نگهداری مواد غذایی، به ویژه مواد غذایی خام در یخچال مشکلی را حل نمی‌نماید(۴).

میزان مرگ و میر ناشی از لیستریوزیس، دوز نسبتاً پایین باکتری جهت ایجاد عفونت، فراوانی آن در طبیعت و آلودگی بسیاری از انواع مواد غذایی، باعث گردیده است تا تلاش‌های فراوانی در جهت روشن شدن مکانیسم‌های انتقال آن به مواد غذایی صورت گیرد. میکروارگانیسم‌ها قادرند به سطوح مختلف چسبیده و در مدت کوتاهی رشد و تکثیر نموده و توده‌ای به نام بیوفیلم تشکیل دهند. بیوفیلم می‌تواند در شرایط مناسب به وسیله اغلب میکروارگانیسم‌ها از جمله؛ میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فاسد کننده مواد غذایی تشکیل شود(۵). در حقیقت بیوفیلم، گروهی از سلول‌های میکروبی است که با شبکه‌ای از کانال‌های داخلی در ماتریکس گلیکوپروتئینی و پلی‌ساکاریدی خارج سلولی به نام مادهٔ پلی‌مریک خارج سلولی در ارتباط هستند. مادهٔ پلی‌مریک خارج سلولی از پلی‌ساکارید، پروتئین، فسفولیپید، تیکوییک اسید و دیگر مواد پلی‌مریک هیدراته با ۸۵ تا ۹۵ درصد آب تشکیل شده است و نقش انتقال مواد غذایی، اتصال به سطوح و مقاومت به بیوسایدها را دارد. بیوفیلم در سیستم‌های آب صنعتی، تجهیزات پزشکی و صنایع غذایی تشکیل می‌گردد(۶). در صنایع غذایی اتصال باکتری‌های پاتوژن و فاسد کننده مواد غذایی با سطوح در تماس با مواد غذایی در فرایندهای تولید و بسته‌بندی آنها و نهایتاً، تشکیل بیوفیلم‌های میکروبی، می‌تواند منبع بالقوهٔ آلودگی محصولات و فراورده‌های غذایی و انتقال بیماری‌ها باشد(۷). همچنین تشکیل بیوفیلم روی وسایل، تجهیزات و دستگاههای پزشکی باعث آلودگی و در نتیجه انتقال عفونت‌های بیمارستانی می‌گردد(۸).

میکروارگانیسم‌ها در نتیجهٔ تماس با سطوح آلوده به راحتی می‌توانند انتقال یابند. رشد باکتری‌ها به حالت بیوفیلم بر روی سطوح، شستشو و از بین بردنشان را مشکل می‌کند. زیرا سلول‌های بیوفیلم در مقایسه با سلول‌های آزاد، به بیوسایدها و ضدعفونی کننده‌ها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند، به طوری که در سال ۱۹۹۶ تحقیقی در فرانسه نشان داد که ۴۰/۵ درصد از عفونت‌های غذایی در ارتباط با آلودگی وسایل و موادی است که خطر تشکیل بیوفیلم در آنها وجود دارد(۹).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

با توجه به این که در ایران اطلاعات اندکی در رابطه با تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح در تماس با فراورده‌های غذایی و پزشکی وجود داشت، هدف این تحقیق بررسی تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز با منشاء غذایی بر سطوح مختلف بود. سطوح به کار رفته در این پژوهش در صنایع غذایی و پزشکی استفاده می‌گردد و مطالعهٔ روند چسبندگی لیستریا بر آنها در کمک به کنترل عفونت حایز اهمیت است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی در سال ۱۳۸۵ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه اصفهان انجام گردید. بدین منظور از باکتری لیستریا مونوسیتوژنز با منشاء غذایی که از انستیتو رازی تهیه گردیده بود، استفاده شد.

ابتدا برای سنجش هیدروفوبیسیتی سطح سلول از آزمایش اتصال باکتری‌ها به هیدروکربن [۱] اکتان استفاده شد(۱۰). به همین منظور ابتدا یک کشت ۱۸ تا ۲۰ ساعته از لیستریا مونوسیتوژنز در لوله حاوی محیط کشت تریپتیکاز سوی براث در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تهیه گردید. سپس به منظور جمع‌آوری سلول‌های باکتریایی به وسیله دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی دور ریخته شد و به سلول‌های ته‌نشین شده، بافر فسفات اضافه گردید. کدورت سوسپانسیون میکروبی از طریق مقایسه با استاندارد نیم مک‌فارلند معادل 10^8 واحد تشکیل کلنی به میلی‌لیتر[۲] تنظیم شد. در مرحلهٔ بعد، ۳/۵ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به لولهٔ کووت اضافه شد و جذب نوری آن در ۶۴۰ نانومتر خوانده شد. این جذب نوری به عنوان جذب نوری اولیه گزارش شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از هیدروکربن اکتان به کووت اضافه شد و این لوله به مدت ۲ دقیقه به وسیله دستگاه ورتکس با دور متوسط گردید. عمل ورتکس کردن برای افزایش سطح اتصال باکتری‌های موجود در سوسپانسیون و هیدروکربن اکتان می‌باشد. سپس لولهٔ کووت به مدت ۱۵ دقیقه در یک محل بدون حرکت قرار داده شد تا دو فاز آبی و آلی از هم جدا شوند. با گذشت زمان دو فاز آبی و آلی مجزا شده، جذب نوری فاز آبی در طول موج ۶۴۰ نانومتر قرائت گردید و به عنوان جذب نوری ثانویه ثبت شد. نتایج حاصله به صورت نسبت سلول‌هایی که از فاز آبی خارج شده‌اند گزارش شد. این نسبت از فرمول زیر محاسبه گردید(۱۱).

درصد سلول‌های متصل به هیدروکربن = $(A1-A2)/A1 \times 100$

A1 = جذب نوری اولیه[۳]

A2 = جذب نوری نهایی[۴]

λ = ۶۴۰ نانومتر

بعد از آن بیوفیلم باکتری بر سطوح مختلف شیشه، پلی‌اتیلن و استیل زنگ‌نزن تشکیل داده شد. ابتدا باکتری را در محیط تریپتیکاز سوی براث فعال کرده و به مدت ۱۸ تا ۲۰ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه کرده و به کدورت معادل استاندارد

1-Microbial Adhesion To Hydrocarbon(MATH)
2-Colony Forming Unit (CFU)/ml
3-Initial OD
4-Final OD

۰/۵ مک‌فارلند رسانده شد. سپس یک میلی‌لیتر از آن را به یک ارلن، حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط تریپتیکاز سوی براث و ۲ اسلاید شیشه‌ای که با اتانل ۹۶ درصد تمیز و ضد عفونی شده بودند، اضافه گردید. سپس ارلن‌ها در دمای آزمایشگاه و روی شیکر با دور ۱۰۰ قرار داده شدند. در نهایت، بعد از گذشت مدت زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۲۰ ساعت اسلایدهای شیشه‌ای از ارلن خارج شدند و یک اسلاید برای رنگ‌آمیزی با کریستال ویوله و اسلاید دیگر برای شمارش باکتری‌های متصل به اسلاید به کار رفت. مراحل تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح استیل و پلی‌اتیلن نیز به همین صورت انجام گرفت(۱۲).

در ضمن برای استریل کردن سطوح استیل[۱]، کوپن‌های به اندازهٔ ۵ × ۱/۲ سانتی‌متر تهیه گردید و در استون قرار گرفتند تا از عدم حضور هر گونه گریس و یا روغنی بر روی سطح آنها اطمینان حاصل شود. سپس آنها در یک شویندهٔ قلیایی غوطه‌ور شدند و سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. در نهایت کوپن‌های استیل همراه با آب مقطر اتوکلاو گردیدند(۱۲). برای استریل نمودن سطوح پلاستیکی که در اندازه‌های۵×۲ بریده شده بودند، ابتدا در شویندهٔ قلیایی غوطه‌ور گردیدند و با آب مقطر شستشو داده شدند، سپس حدود نیم ساعت در زیر اشعهٔ اولتراویولت قرار گرفتند. اسلایدهای شیشه‌ای نیز با اتانول (۹۶ درصد) ضدعفونی و سپس اتوکلاو شدند.

در نهایت برای شمارش باکتری‌ها از روش دراپ پلیت استفاده گردید(۱۳). بدین منظور از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده، سری رقت تهیه شد. برای تهیهٔ این سوسپانسیون، سواب کشیده شده به سطحی که بیوفیلم باکتری تشکیل شده بود، در آب مقطر ورتکس گردید و سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون با رقت مشخص را برداشته و در یک قسمت از چهار قسمت پلیت‌های پالکام (محیط کشت اختصاصی لیستریا، مرک آلمان) پخش شد. این عمل پنج مرتبه برای یک رقت مشخص انجام گردید.

پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس برای شمارش تنها رقتی که تعداد کلنی در آن در هر قطره بین ۳ تا ۳۰ کلونی بود، انتخاب و شمارش گردید. با توجه به فرمول زیر تعداد باکتری‌ها در واحد سطح محاسبه گردید:

$Log(CFU/cm^2)=Log\{(CFU$ (رقت مورد نظر ۱۰) (حجم قطره/میانگین Cm^2 سطح مورد نظر/ $10 \cdot mL$)$\}$

اختلاف بین داده‌ها، با آنالیز واریانس[۲] و آزمون مقایسه‌ای توکی کرامر[۳] به وسیله نرم‌افزار اکسل [۴] و مینی‌تب [۵] مورد بررسی قرار گرفت. در آنالیزهای آماری اعدادی که دارای سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ داشتند، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

هیدروفوبیسیتی لیستریا مونوسیتوژنز با آزمون اتصال میکروبی به هیدروکربن (۸۵ درصد) محاسبه شد. آزمون‌های تشکیل بیوفیلم نشان داد که این باکتری بر روی هر سه سطح تشکیل بیوفیلم داده

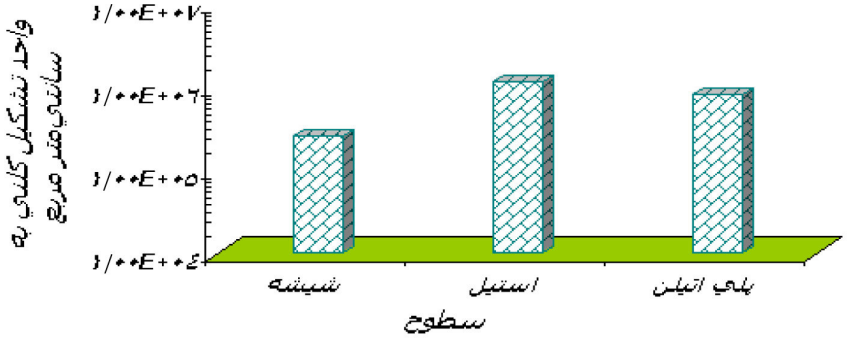
1-Type 304 no 2B
2-ANOVA
3-Tukey-Kramer
4-Excel
5-Minitab

است، البته میزان آن بر روی سطح استیل و سپس بر روی پلی‌اتیلن و شیشه با اختلاف معنی‌داری بیشتر بود($p<۰/۰۵$).

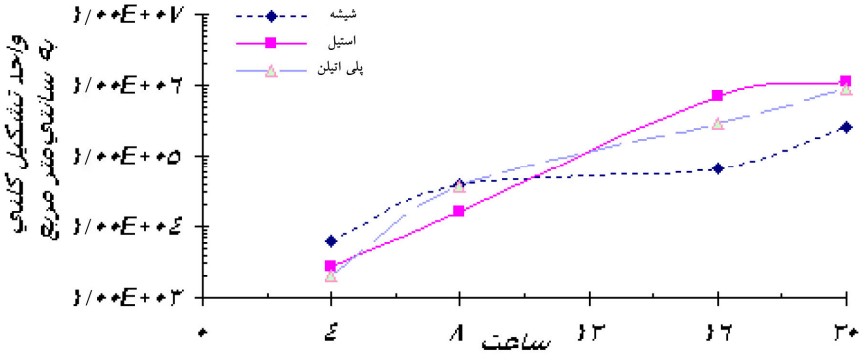
نمودار ۱، میزان تشکیل بیوفیلم بر روی سه سطح استیل، شیشه و پلی‌اتیلن به ترتیب $۱/۱۵\times ۱۰^{۶}$، $۲/۵\times ۱۰^{۵}$ و ۸×۱۰^{۵} است.

میزان تشکیل بیوفیلم لیستریا بر روی هر سه سطح در ساعت‌های اولیه ۴ و ۸ ساعت به علت رشد کُند لیستریا بسیار کم بود، ولی در زمان‌های ۱۶ و ۲۰ ساعت با افزایش رشد، بالاتر رفت. آنالیزهای آماری نشان دادند که میزان تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز در ساعت‌های متفاوت بر روی سطح شیشه‌ای دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشد، اما در سطح استیل، بین زمان‌های ۲ تا ۱۶ ساعت و در سطح پلی‌اتیلن، بین زمان‌های ۸ تا ۱۶ ساعت معنی‌دار است (نمودار ۲). همچنین اتصال لیستریا مونوسیتوژنز در تماس کوتاه دو ساعته بر روی سه سطح استیل، پلی‌اتیلن و شیشه، معنی‌دار نیست، ولی در مدت زمان‌های طولانی‌تر دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

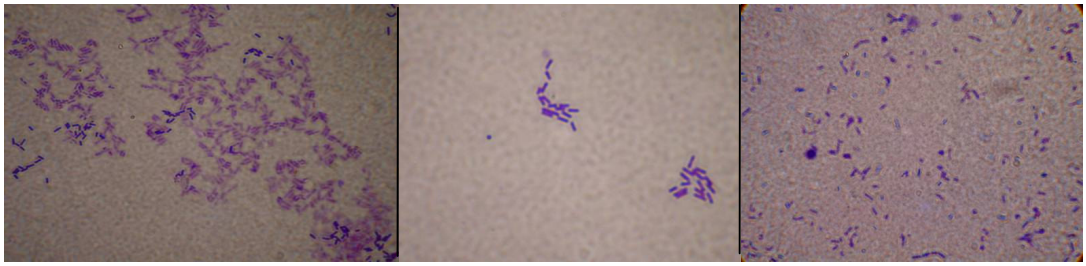
در تصویر ۱ نیز مراحل منجر به تشکیل بیوفیلم همراه با افزایش زمان اتصال، تشکیل میکروکلنی و در نهایت بیوفیلم بالغ نشان داده شده است.



نمودار۱: مقایسهٔ تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز بر سطوح مختلف



نمودار۲: مقایسهٔ تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز بر سطوح مختلف در زمان‌های متفاوت



(الف) (ب) (پ)

تصویر ۱: الف) اتصال (لام ۴ ساعته)، ب) تشکیل میکروکلنی(لام ۱۶ ساعته) و پ) تشکیل بیوفیلم بالغ باکتری لیستریا مونوسیتوژنز(لام ۲۰ ساعته) بر روی سطح

بحث و نتیجه‌گیری

در بسیاری از فرایندهای پزشکی و صنعتی تا زمانی که باکتری‌ها به صورت پلانکتونیک هستند، مشکل تلقی نمی‌گردند، زیرا سلول‌های بیوفیلم در مقایسه با سلول‌های آزاد، به بیوسایدها و ضدعفونی کننده‌ها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند. در سایر زمینه‌ها هم اگر بتوان از اتصال میکروب‌ها به سطوح جلوگیری کرد، ضدعفونی سطح و از بین بردن باکتری‌ها بسیار آسان‌تر خواهد بود. به هر حال به نظر می‌رسد که نوع سطح از عوامل مهم در تشکیل بیوفیلم باکتری‌ها باشد(۱۴). هدف از این مطالعه بررسی تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز بر سطوح مختلف بود.

در نتایج این تحقیق، باکتری مورد نظر با اختلاف معنی‌داری بیشترین میزان تشکیل بیوفیلم را بر روی سطح استیل نسبت به سایر سطوح نشان داد. این نتیجه از نظر این که جنس اکثر سطوح تماس با غذا در دستگاههای فراوری مواد غذایی از استیل زنگ‌نزن می‌باشد، دارای اهمیت است. همین موضوع در مورد بسیاری از وسایل پزشکی نیز صادق است.

لیستریا مونوسیتوژنز می‌تواند بر سطوح مختلف تشکیل بیوفیلم دهد و نیز اتصال آن در مدت کوتاه ۲۰ دقیقه به سطوح استیل، شیشه، پلی‌پروپیلن و پلاستیکی گزارش شده است(۱۴). لیستریا مونوسیتوژنز از قفسه‌های چوبی اتاقهای تهیهٔ پنیر و سطوح محیطی مانند نوارهای نقاله، آبگذرهای کف، تانک‌های ذخیره و واگن‌های دستی جداسازی شده است. در همهٔ این سطوح انتظار تشکیل بیوفیلم می‌رود(۱۵). گرچه لیستریا مونوسیتوژنز از بسیاری محل‌های تشکیل بیوفیلم در تجهیزات مواد غذایی جداسازی شده است، اما مدرک مستقیمی مبنی بر ارتباط حضور بیوفیلم‌های حاوی پاتوژن با شیوع بیماری وجود ندارد. به احتمال زیاد رشد این باکتری در دستگاهها، سطح آلودگی عمومی آنها را بالا می‌برد و حداقل نشان‌دهندهٔ به کارگیری روش‌های نامناسب شستشو می‌باشد. به‌طور مثال مطالعهٔ برخی اپیدمی‌های لیستریوزیس غذایی نشان‌دهندهٔ آلودگی بعد از تولید مواد غذایی‌ای؛ مانند پنیر، شیر، هات‌داگ و بستنی است(۱۶).

در این تحقیق هیدروفوبیسیتی بسیار بالای این باکتری (۸۵ درصد) از دلایل تمایل زیاد این سویهٔ ایرانی برای تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح می‌باشد. محققین زیادی به نقش و اهمیت هیدروفوبیسیتی بالا برای اتصال باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم اشاره کرده‌اند. سرکا و همکاران (۲۰۰۵)[۱] ارتباط بین هیدروفوبیسیتی و اتصال باکتری‌ها را تأیید کردند(۱۷). فرانک(۲۰۰۱)[۲] نشان داد که باکتری‌ها برای تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح بر اساس خصوصیات سطحی مانند وجود کپسول، فیمبریه و هیدروفوبیسیتی سطح سلول انتخاب می‌شوند(۱۸)، اما کائه و همکاران (۲۰۰۵)[۳] نظری برخلاف این دارند. آنها گزارش کردند که هیدروفوبیسیتی لیستریا مونوسیتوژنز که با روش اتصال میکروبی به هیدروکربن اندازه‌گیری شده بود، ارتباطی با میزان اتصالش به سطوح شیشه‌ای ندارد(۱۵). در این مطالعه سویهٔ لیستریا مونوسیتوژنز مورد استفاده با هیدروفوبیسیتی (۸۵ درصد) بر روی سطح استیل قدرت تشکیل بیوفیلم بیشتری از خود نشان داد و از آنجایی که سطوح استیل نسبت به سطوح پلی‌اتیلن و شیشهٔ هیدروفیل‌ترهستند، می‌توان به نقش مهم جاذبهٔ ناشی از هیدروفوبیسیتی سطحی باکتری و سطح هیدروفیل در تشکیل بیوفیلم پی برد.

در مطالعهٔ حاضر نشان داده شد که لیستریا مونوسیتوژنز توانایی تشکیل بیوفیلم بر روی هر سه سطح مورد آزمایش را دارد. تصور می‌شود این توانایی در محیطهای غذایی نقش منبع آلودگی مواد غذایی را دارد(۱۹). نوروود و همکاران[۴] (۱۹۹۹) توانایی اتصال بیش از ۱۰۰ سویهٔ این باکتری را به سطوح استیل گزارش کردند(۲۰). کالموکوف و همکاران[۵] (۲۰۰۱) بیان کردند این باکتری نمی‌تواند تشکیل بیوفیلم دهد، اما به راحتی می‌تواند به سطوح متصل شود(۲۱). این تفاوت نظریات به احتمال زیاد از تفاوت ذاتی سویه‌های مورد آزمایش ناشی می‌شود، به طوری که بروکی و همکاران[۶](۲۰۰۳) با روش میکروتیتر پلیت و سنجش تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز، نشان دادند که بین میزان تشکیل بیوفیلم سویه‌های مختلف این باکتری اختلاف معنی‌دار وجود دارد(۲۲). همچنین هاروی و همکاران[۷](۲۰۰۷) با همین روش در بررسی تشکیل بیوفیلم سویه‌های مختلف لیستریا مونوسیتوژنز که از منابع غذایی، محیطی، موجود زنده و نمونه‌های کلینیکی بودند، تفاوت تشکیل بیوفیلم بین سویه‌های مختلف این باکتری را نشان دادند(۲۳) و دی‌جرجیویک و همکاران[۸](۲۰۰۲) با روش مشابهی نشان دادند که سویه‌های اپیدمیک بیماری‌زای غذایی لیستریا مونوسیتوژنز و جداسازی شده از موارد بیمار انسانی و حیوانی بالاترین میزان تشکیل بیوفیلم را نسبت به

1-Cerca et al
2-Frank
3-Chae et al
4- Norwood et al
5-Kalmokoff et al
6-Boruki et al
7-Harvey et al
8-Djorjvic et al

سویه‌های دیگر این باکتری دارند(۱۹). سویهٔ ایرانی مورد استفاده در این تحقیق بر روی هر سه سطح و به میزان بیشتر بر روی سطح استیل، تشکیل بیوفیلم داد.

مشاهدهٔ مراحل تشکیل بیوفیلم از اتصال تا مرحلهٔ تشکیل میکروکلنی و در نهایت بیوفیلم بالغ لیستریا مونوسیتوژنز بر روی سطح شیشه‌ای، بیانگر توانایی تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز را بر سطوح می‌باشد و یافته‌های این مطالعه در ارتباط با توانایی تشکیل بیوفیلم باکتری مذکور را تایید می‌کند.

برسفورد و همکاران[1] (۲۰۰۱) اتصال لیستریا مونوسیتوژنز را به سطوح استیل، پلاستیک و پلیمرها در تماس کوتاه دو ساعت بررسی کردند. هیچ اختلاف معنی‌داری بین تعداد باکتری‌های متصل به سطوح مختلف در زمان دو ساعت دیده نشد، اما در مدت زمان بیشتر، تشکیل بیوفیلم این باکتری معنی‌دار بود و همچنین اتصال به سطوح پلاستیکی به طور معنی‌داری بسیار بیشتر از سایر سطوح بود(۱۲). در این تحقیق نیز نتایج مشابهی به دست آمد، اما با این تفاوت که لیستریا مونوسیتوژنز مورد آزمایش در این تحقیق بر سطوح استیل با اختلاف معنی‌داری میزان تشکیل بیوفیلم بیشتری داشت. علت تفاوت در نتایج احتمالاً به نوع سویه و سطوح مورد استفاده و همچنین شرایط محیطی متفاوت مانند؛ اکسیژن، دما، رطوبت و pH بستگی دارد. با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر در صورت حضور لیستریا در محیط‌های در ارتباط با مواد غذایی و یا مراکز درمانی، تشکیل بیوفیلم اجتناب‌ناپذیر است. به نظر می‌رسد جلوگیری از تشکیل بیوفیلم با مطالعهٔ بیشتر شرایط تشکیل بیوفیلم نقش مهمی را در کنترل بیماری‌های ناشی از این باکتری ایفا می‌کند. بر این اساس بعضی از مطالعات برای ساخت سطوحی است که به باکتری‌ها اجازهٔ تشکیل بیوفیلم ندهد یا حتی مانع تشکیل بیوفیلم به وسیله آنها شود(۲۴). به طور مثال دنس و همکاران[2](۲۰۰۱) برای ایجاد سطوح ضد باکتریایی با استفاده از تکنولوژی پلاسما، نقره را بر روی پلیمرهای پلاستیکی قرار دادند و کاهش تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز بر چنین سطوحی را مشاهده کردند(۲۵). ساخت سطوح ضد باکتریایی مشابه و استفاده از آنها در وسایل پزشکی و بسته‌بندی مواد غذایی پیشنهاد می‌گردد که تا حد زیادی از بروز بیماری‌ها می‌تواند جلوگیری می‌کند.

از آنجایی که از بین بردن بیوفیلم باکتری‌های تشکیل شده بر روی سطوح، بسیار مشکل است و بیوفیلم‌ها منبع بالقوهٔ آلودگی منجر به فساد مواد غذایی و انتقال عوامل بیماری‌ها می‌باشند، بنابراین مبارزه با ایجاد شدن آنها در مراکز پزشکی برای سلامت عمومی جامعه حایز اهمیت می‌باشد. کنترل بیوفیلم‌ها تنها با استفادهٔ از مطالعات میکروبیولوژی و بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم انواع باکتری‌ها بر

1-Bresford et al
2-Denes et al

سطوح متفاوت میسر خواهد بود. نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری بیماری‌زای غذایی لیستریا مونوسیتوژنز بر روی سطوحی که به فراوانی در محیط‌های غذایی و پزشکی استفاده می‌گردد، توانایی تشکیل بیوفیلم دارد. همچنین به کارگیری پروتکل دقیق و عملی شستشو و ضدعفونی در این مراکز علاوه بر پایش مداوم جهت حضور بیوفیلم‌ها، ضروری به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان به خاطر حمایت هایش سپاسگزاریم.

Biofilm Formation of Listeria monocytogenes on Various Surfaces

Mahdavi M[*],
Jalali M[**],
Kasra kermanshahi R[***].

[*]MA in Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan , Isfahan, Iran
[**]Associate Professor of Microbiology, Department of Nutrition, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences Isfahan, Iran
[***]Professor of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan , Isfahan, Iran

KEYWORDS:
Stainless Steel,
Food Packaging,
Biofilm,
Listeria monocytogenes,
Hydrophobicity

Received: 28/3/1386
Accepted: 10/11/138**6**

Coresponding Author: Jalali M
Email: Jalali@mui.ac.ir

ABSTRACT:

Introduction & Objective: *Listeria monocytogenes* is considered as a ubiquitous foodborne pathogen which can lead to serious infections, especially in newborns, elderly, pregnant, and immunocompromised people. The organism has been isolated from many foods and may cause meningitis, septicemia and abortion in pregnant women. Also *L. monocytogenes* forms biofilms on many food contact surface materials and medical devices. Development of biofilms on many surfaces is a potential source of contamination of foods that may lead to spoilage or transmission of foodborne pathogens.

Materials & Methods: Biofilm formation of *L. monocytogenes* (RITCC 1293 serotype 4a) was investigated. Hydrophobicity of *L. monocytogenes* was measured by MATH method. Then biofilm formation of the organism was assessed at 2, 4, 8, 16 and 20 hours on stainless steel (type 304 no 2B), polyethylene and glass by drop plate method.

Results: Results indicated that *L. monocytogenes* with 85% of hydrophobicity formed biofilm on each of three surfaces. Biofilm formation on stainless steel surfaces was significantly more than other surfaces ($p<0.05$).

Conclusion: The ability of biofilm formation of *L. monocytogenes* on medical devices and food containers is very important as far as hygiene and disease outbreaks are concerned.

REFERENCES:

1.Farber JM, Peterkin PI. Listeria monocytogenes, a foodborne pathogen. Microbiol Rev 1991; 55: 476-511.
2.Aguado v, Vitas AI, Garcia-Jalon I. Characterization of L. monocytogenes and L. Innocua from a vegtable processing plant by RAPD and REA. Int J Food Microbiol 2004; 90(3): 341-7.
3.Bell C. Listeria, A practical approach to the organism and its control in foods. 2nd ed. London: Blackwell Pub; 2005; 50.
4.Hof H, Rocourt J. Is any strain of L. monocytogenes detected in food a health risk? Int J food Microbiol 1992; 16(3): 173-81.
5.Costerton JW, Leweandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms: annual reviews. J Microbiol 1995; 49: 711-745.
6.Chmielewski RAN, Frank JF. Biofilm formation and control in food processing facilities. Food Sci 2003; 2: 22-32.
7.Bryers JD. BiofilmsI L. Process analysis and application. 1st ed. New York: John Wiley and Sons; 2000; 327-60.
8.McLean RJC, Nickel JC, Olson ME. Biofilm associated urinary tract infections. In: Lappin-Scott HM, Costerton JW (editors). Microbial biofilms. Cambridge: Cambridge University Press;1995; 95.
9.Cunliffe D, Smart CA, Alexander C, Vulfson EN. Bacterial adhesion at synthetic surfaces. J Appl Environ Microbiol 1999; 65: 4995-5002.
10.Mozes N, Rouxhet PG. Methods for measuring hydrophobicity of microorganisms. J Microbial Methods 1987; 6: 99– 112.
11.Rosenberg M, Gutnick D, Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. FEMS Microbiol Lett 1980; 9: 29–33.
12.Bresford MR, Andrew PW, Shama G. Listeria monocytogenes adheres to many materials found in food processing environments. J Appl Environ Microbiol 2001; 90: 1000-5.
13.Herigstad B, Hamilton M, Heersink J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. J Microbiol Methods 2001; 44: 121–9.
14.Mafu AA, Roy D, Savoie L, Roy R. Efficiency of sanitizing agents for destroying Listeria monocytogenes on contaminated surfaces. J Dairy Sci 1990; 73: 3428-32.
15.Chae MS, Scgraft H. Cell viability of listeria monocytogenes biofilms. Food microbial 2001; 18: 103-12.
16.Gilbert P, Mcbain AJ, Richard AH. Formation of microbial biofilm in hygienic situatins: a problem of control. Int Biodeter Biodegrad 2003; 51: 245-8.
17.Cerca N, Pier B. Quantitative analysis of adhesion and biofilm formation on hydrophilic and hydrophobic surfaces of clinical isolates of Staphylococcus epidermidis. J Res microbiol 2005; 156: 506-14.
18.Frank JF. Microbial attachment to food and food contact surfaces. Adv Food Nutr Res 2001; 43: 319-69.
19.Djorjvic D, Wiedmann M, McLandsbourgh. Microtiter plate assay for assessment of Listeria monocytogenes boifilm formation. J Appl Environ Microbiol 2002; 68: 2950-8.
20.Norwood DE, Gilmour A. Adherence of Listeria monocytogenes strains to stainless steel coupons. J Appl Microbiol 1999; 86: 576–82.
21.Kalmokoff ML, Austin JW, Wan XD, Sanders G, Banerjee S, Farber JM, et al. Adsorption, attachment and biofilm formation among isolates of Listeria monocytogenes using model conditions. J Appl Microbiol 2001; 91:725–34.
22.Borucki KP, White D, Loge DF, Call R. Variation in biofilm formation among strains of Listeria monocytogenes. J Appl Environ Microbiol 2003; 12: 7336-42.
23.Harvey J, Keenan KP, Gilmour A. Assesing biofilm formation by Listeria monocytogenes strains. J Food Microbiol 2006; 24: 380-92.
24.Meyer B. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. Int Biodeter Biodegrad 2003; 51: 249-53.
25.Denes FS, Dong B, Jiang H. Plasma enhancing deposition of antibacterial layers to inhibit biofilm formation. Food Res Inst 2001. 32-5.