



ISSN: 1608-9391
e-ISSN: 2664-2786

Received:23/12/2019
Accepted:18/10/2020

قابلية جراثيم *Staphylococcus spp.* المعزولة من اللحوم المفرومة على الالتصاق وتكوين الاغشية الحيوية على سطحي الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ

آلاء حسين طه المولى

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

E-mail: almolaa19@gmail.com

الملخص

تضمن البحث عزل وتشخيص 19 عزلة جرثومية من 10 عينات (5 عينات من اللحم المفروم و5 عينات من مسحات المفارم) اذ تم تشخيص 15 عزلة تابعة لعائلة Micrococcaceae منها 8 عزلات تابعة للجنس *Staphylococcus spp.* اعتمادا على الخصائص المظهرية والاختبارات الكيموحيوية وبهدف التحري عن قابلية جراثيم عائلة Micrococcaceae على تكوين الاغشية الحيوية، استخدمت طريقتان هما طريقة الانبوب وطريقة اكار احمر الكونغو، اذ بينت النتائج ان جميع العزلات والبالغ عددها 15 عزلة تمتلك القابلية على تكوين الاغشية الحيوية ونسبة 100% بالاعتماد على طريقة الانبوب مقارنة بنتائج اختبار اكار احمر الكونغو التي اعطت 13 عزلة من مجموع 15 عزلات وبنسبة 86.6% من العزلات العائدة لعائلة Micrococcaceae نتيجة موجبة للاختبار وكانت اعلى نسبة لتكوين الاغشية الحيوية تعود إلى جراثيم *Staphylococcus spp.* إذ اعطت جميع العزلات والبالغة 8 عزلات نتيجة موجبة لكلا الاختبارين وبنسبة 100%، وعند اجراء مقارنة لقابلية الالتصاق لجراثيم *Staphylococcus spp.* على سطح شريحة الالمنيوم بشريحة الفولاذ المقاوم للصدأ باعتبارها المواد الداخلة في تصنيع مفارم اللحم بينت نتائجنا ان قابلية الالتصاق وتكوين الاغشية الحيوية كانت اكثر على سطح شريحة الالمنيوم مقارنة بشريحة الفولاذ المقاوم للصدأ في اختبار العكورة باستخدام الامواج فوق الصوتية وعند التحري عن العدد الكلي للجراثيم الملتصقة على شريحتي الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ بعد تعريضهما للموجات فوق الصوتية، تبين ان عدد الوحدات المكونة للمستعمرات / CFU / سم² لشريحة الالمنيوم هي $10^6 \times 97$ فيما تبين ان عدد الوحدات المكونة للمستعمرات / سم² لشريحة الفولاذ المقاوم للصدأ هي $10^5 \times 172$ مما يعزز نتائج مقارنة العكورة.

الكلمات الدالة: الغشاء الحيوي، *Staphylococcus spp.*، شرائح، الفولاذ المقاوم للصدأ، الالمنيوم.

المقدمة

تمتلك الاحياء المجهرية الممرضة القابلية على تكوين الاغشية الحيوية على الاغذية فضلا عن السطوح الملامسة لها عند توفر الظروف المناسبة لذلك والاعشية الحيوية عبارة عن نظام بيئي مايكروبي معقد يتكون اما من نوع واحد او عدة انواع مضمورة في مادة أساس خارج خلوية ذات مكونات مختلفة (Galie *et al.*, 2018)، ان وجود الاغشية الحيوية في أماكن تصنيع الغذاء يضر بالصحة العامة ويعتمد خطورة ذلك على الانواع الجرثومية المسببة لتلك التركيب الحية الثلاثية الابعاد، إذ تم ربط العديد من التفشيات الوبائية للأمراض المتولدة عن الغذاء بقابلية الجراثيم على الالتصاق وتكوين الاغشية الحية (Ma *et al.*, 2019)، تبقى الاغشية الحيوية المشكلة الاصعب في مجال التعامل مع اللحوم لكون العديد منها لها قابلية الالتصاق على اللحوم والسطوح الملامسة لها والتي من الصعب ازلتها وتعقيمها بشكل جيد وملاتم فضلا عن مقاومة خلايا الاغشية الحيوية للتعقيم مقارنة بالخلايا الحرة من نفس النوع (Wang, 2019)، ويعلب نوع السطح الملامس للأغذية وهيئته دوراً واضحاً في حدوث التلوث ونتاج الاغشية الحيوية اذ تسمح السطوح المتأكلة بتراكم الاوساخ فضلا عن صعوبة تنظيفها مقارنة بالسطوح الملساء كما ان العيوب المتواجدة على السطح تساهم بحماية الجراثيم والوساخ من الازالة اثناء عمليات التنظيف مما يعطي فرصة للجراثيم بالبقاء واعادة النمو ونتاج الغشاء الحيوي (Czaczyk and Mysza, 2011).

تشمل المواد الداخلة في تصنيع السطوح الملامسة للأغذية المطاط والنايلون وهذه المواد تستخدم غالبا في صناعة الاشرطة المطاطية واجزاء صغيرة من الادوات والوانى المختلفة بينما يستخدم الفولاذ المقاوم للصدأ Stainless-steel بشكل شائع في تصنيع معظم السطوح الملامسة للأغذية، تتعرض جميع السطوح المتكونة من هذه المواد للتآكل مع الاستخدام المتكرر مما يزيد من احتمالية تراكم الاوساخ والجراثيم فتشكل بذلك ملجأ لها، ان معدل خشونة الفولاذ المقاوم للصدأ ليس له علاقة بالالتصاق الجرثومي الا انه يكون على علاقة وثيقة بتراكم الاوساخ مما يعطي فرصة مستقبلية لحدوث الالتصاق (Ma *et al.*, 2019)، ومما تقدم وأهمية المواد الداخلة في تصنيع السطوح الملامسة للأغذية جاء هذا البحث ليركز على التحري عن قابلية جراثيم *Staphylococcus spp.* المعزولة من عينات اللحوم المفرومة ومسحات المفارم على الالتصاق وتكوين الاغشية على سطحي مادتي الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ باعتبارها المادتين الداخلتين في تصنيع المفارم وهي من الادوات ذات الصلة المباشرة بالاستخدام المتكرر واليومي للحم المفروم.

المواد وطرائق العمل

*عينات المسحات من مفارم اللحم

جمعت (5) عينات من مسحات المفارم المستخدمة لفرم اللحم في محلات القصابة، ثم اخذت مسحات من المناطق المتراكمة فيها بقايا اللحم المفروم والصعبة الوصول اليها أثناء التنظيف ومن ثم وضعت المسحات في أنابيب معقمة حاوية على 10سم³ من وسط ماء البيبتون المعقم والحاوية على 5 خرزات Beads لغرض تفكيك الاغشية الحيوية biofilms لحين ايصالها الى المختبر. بعد ايصال العينات الى المختبر تم رج الأنابيب الحاوية على الخرزات والمسحات جيدا ومن ثم تم إجراء سلسلة تخفيف عشرية على العينة وصولاً الى التخفيف 10^{-6} باستخدام وسط ماء البيبتون ونقل 1سم³ من كل تخفيف الى أطباق معقمة ثم أضيف وسط الاكار المغذي المبرد الى 50.45 م° ومزجت محتويات الطبق باليد بحركة شبيهة بالرقم 8 لغرض مزج الوسط مع التخفيف ثم تركت الأطباق لحين التصلب، حضنت الأطباق في الوسط مع التخفيف ثم تركت الأطباق لحين التصلب، حضنت في 37 م° لمدة 24 ساعة، كما تم تلقح كل من وسط اكار الدم، وسط اكار الماكونكي، وسط اكار الملح والمانيتول، ووسط اكار السترمايد ومن ثم حضنت الأطباق في 37 م° لمدة 48 ساعة (Roberts and greenwood, 2003).

عينات اللحم المفروم

تم جمع (5) عينات من اللحم المفروم باستخدام نفس المفارم التي أخذت منها المسحات، ثم وزن 25 غم من عينات اللحم المفروم ووضعت في داخل قناني جافة ومعقمة ذات غطاء محكم لحين ايصالها الى المختبر، ثم خففت مع 225 سم³ من وسط ماء الببتون للحصول على التخفيف 10^{-1} ثم مزجت العينات باستخدام المجانس (blender) وتحت ظروف تعقيم. نقل 1 سم³ من التخفيف 10^{-1} للعينة واجري عليه سلسلة من التخفيف العشرية، ثم نقل 1 سم³ من كل تخفيف الى أطباق معقمة وأضيف اليها وسط الاكار المغذي، و تم مزجت محتويات الطبق وتركت الاطباق لحين التصلب ثم حضنت الأطباق في 37 م° لمدة 24 ساعة كما تم تلقيح كل من وسط اكار الدم، وسط اكار الماكونكي، وسط اكار الملح والمانيتول، ووسط اكار الستراميد وحضنت الاطباق في 37 م° لمدة 48 ساعة (Soepraniondo et al., 2019).

حساب العدد الكلي للجراثيم

تم حساب الوحدات المكونة للمستعمرات Colony forming unit (CFU) لكل غم فيما يخص عينات اللحم بينما تم حساب عدد الوحدات المكونة للمستعمرات لكل سم² بالنسبة لعينات مسحات المفارم بالاعتماد على ما ورد في (Roberts and greenwood, 2003).

التشخيص

انتخبت المستعمرات المنفردة والنامية على أوساط العزل الأولي وهي وسط اكار الدم، وسط اكار الماكونكي، وسط اكار الملح والمانيتول، وسط اكار الستراميد، ووسط EMB ثم أجريت عليها مجموعة من الاختبارات المظهرية والكيميوجيوية والتي شملت صبغة كرام، اختبار الكتاليز، الاوكسيديز، الاندول، اختبار اليوريا، واختبار TSI. التحري عن قابلية الجراثيم على تكوين الأغشية الحيوية

تم اختبار 15 عزلة من العزلات التابعة لعائلة Micrococcaceae لغرض التحري عن قابليتها على تكوين الأغشية الحيوية بعد أن تم تحضير مزارع فتية بتلقيحها على وسط الاكار المغذي والتحصين عند 37 م° لمدة 24 ساعة وتم اعتماد طريقتين للتحري عن تكوين الأغشية الحيوية وهي طريقة الانبوب Tube method التي اجريت اعتمادا على ما ذكره (Avila-Novoa et al., 2018) وطريقة وسط أكار الكونغو الأحمر (Congo red agar medium) واللذان اجرينا اعتمادا على ما ذكره (Hassan et al., 2011).

مقارنة قابلية جراثيم *Staphylococcus pp.* على تكوين الاغشية الحيوية على شريحتي الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ

اختبرت قابلية جراثيم *Staphylococcus spp.* على الالتصاق وتكوين الاغشية الحيوية على شريحتين مصنعين محلياً وبأبعاد وسمك متساوي احدهما شريحة المنيوم والاخرى شريحة فولاذ مقاوم للصدأ كما موضح في الصورة (1) لتحديد اي منهما الافضل للتصنيع اعتمادا على ما ورد في (Movassagh et al., 2010; Møretrø et al., 2003)، إذ تم تصنيع شريحتين أحدهما من مادة الالمنيوم والاخرى من الفولاذ المقاوم للصدأ وبأبعاد 4 سم² وسمك 1 ملم محلياً، ثم عوملت الشريحتين بالأسيتون للتخلص من اي شوائب زيتية أو دهنية ملتصقة على الشرائح ومن ثم غسلت بالماء المنزوع الايونات وتركت فيه لمدة ربع ساعة للتخلص من الأسيتون أو أي بقايا شوائب أخرى. عقت الشرائح في الموصدة عند 15 م° لمدة 30 دقيقة، وحضر طبقين من اطباق بتري المعقمة ووضع في كل منهما 20 سم³ من وسط Tryptic soy broth المعقم ومن ثم تم تعليم الاطباق، ثم نقل 2 مل من المزرعة الجرثومية النامية على وسط Tryptic soy broth لمدة 24 ساعة وبدرجة 37 م° الى كل من الاطباق المعقمة بعد مقارنتها مع انابيب مكفرلاند (0.5).

رفعت كل شريحة باستخدام ملقط معقم ونقلت الى الطبق الخاص بتلك الشريحة وتحت ظروف تعقيم، ثم غلفت الاطباق باستخدام ورق المنيوم معقم وحضنت في درجة حرارة الغرفة لمدة 4 أيام، بعد ذلك رفعت الشرائح وغسلت بمحلول PBS للتخلص

من الخلايا غير الملتصقة ووضعت في اطباق حاوية على 20 سم³ من وسط Tryptic soy broth جديد وحضنت ايضاً في درجة حرارة الغرفة لمدة 48 ساعة.

رفعت الشرائح مرة اخرى وغسلت جيداً بمحلول PBS ووضعت في قناني معقمة حاوية على ماء مقطر معقم بحجم 50 سم³ ثم عرضت للموجات فوق الصوتية لغرض فصل الاغشية الحيوية. تم ملاحظة الفرق في عكورة الماء المقطر بعد التعريض للموجات فوق الصوتية، ثم اجريت سلسلة تخافيف عشرية للماء المقطر المغمور فيه الشريحتين الموضوعتين في الماء المقطر وصولاً الى تخفيف 10⁻⁷ ثم تم نقل 1 سم³ من كل تخفيف الى طبق بتري معقم واذيف اليها وسط Tryptic soy agar المبرد الى 45-50 م° ثم مزجت محتويات الطبق وتركت الاطباق لحين التصلب ثم حضنت الاطباق في 37 م° لمدة 24 ساعة ثم تم اجراء التعداد عليها (Iñiguez-Moreno et al., 2018).



B: شريحة الالمنيوم

A: شريحة الفولاذ المقاوم للصدأ

الصورة 1: شريحتي الفولاذ والالمنيوم المستخدمتين في تجربة تنمية الغشاء الحيوي

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

بينت نتائج زرع عينات مسحات المفارم واللحم المفروم على وسط الاكار المغذي وبعد مدة تحضين هوائي 24-48 ساعة عند درجة حرارة 37 م° وجود تلوث جرثومي عالي لكلا النوعين من العينات اذ ان العدد الكلي للجراثيم انحصر بين 10³-10⁸ وحدة مكونة للمستعمرات لكل غرام او لكل سم² وتتقارب نتائجنا هذه مع نتائج الباحث Ali وجماعته (2010) والتي بين فيها وجود تلوث جرثومي عالي في 340 عينة من اللحوم وعينات المسحات المأخوذة من الادوات الملامسة للحوم ومن ضمنها المفارم وبتعداد ينحصر بين 10⁸-10¹⁰ وحدة مكونة للمستعمرات لكل غرام او لكل سم²، كما تتفق مع نتائج الباحث العكيدي (2012) التي بين فيها وجود تلوث جرثومي عالي للحوم الحمراء باختلاف انواعها في مدينة الموصل وبنسبة 100% في اللحم المفروم وبنسب أقل للأنواع الاخرى.

تضمنت دراستنا ايضاً عزل وتشخيص 19 عزلة جرثومية من عينات مسحات المفارم واللحم المفروم والبالغ عددها 10 عينات و (الجدول 1) يوضح الجراثيم المعزولة فضلاً عن النسبة المئوية لعزلها.

الجدول 1: العزلات الجرثومية ونسب عزلها من العينات

العزلة الجرثومية	العدد (نسبة العزل %)
<i>Micrococcus spp.</i>	7 (36.9)
<i>Staphylococcus.spp.</i>	8 (42.1)
<i>Bacillus spp.</i>	1 (5.2)
<i>Pseudomonas spp.</i>	1 (5.2)
<i>Serratia spp.</i>	1 (5.2)
<i>E.coli</i>	1 (5.2)

نتائج التحري عن قابلية الجراثيم على تكوين الاغشية الحيوية

بينت نتائج التحري عن قابلية جراثيم عائلة *Micrococaceae* على تكوين الاغشية الحيوية باستخدام طريقة الانبوب ظهور النتيجة الموجبة بدلالة ظهور ترسب بنفسجي بشكل طبقة غشائية على جدران وقعر الانابيب المستخدمة في الاختبار وكما هو موضح في الصورة (2)، وجاء ذلك مطابق لما ذكره الباحث Hassan وجماعته (2011) من ان نتيجة اختبار الانبوب تعد موجبة عند ظهور غشاء مرئي على جدران وقعر الانبوب.



الصورة 2: طريقة الانبوب Tube method

اظهرت نتائج التحري عن الاغشية الحيوية بالاعتماد على طريقة احمر الكونغو ان العزلات المكونة للغشاء الحيوي ظهرت بمستعمرات سوداء براقية فيما بدت العزلات غير المكونة للاغشية الحيوية بمستعمرات وردية او حمراء والضعيفة منها بدت بشكل مستعمرات سوداء مع حواف وردية وكما هو موضح في الصورة (3). وهذا مطابق لما ذكره الباحثان Cunha و Oliveira (2010) من ان الجراثيم المكونة للاغشية الحيوية تبدو بمستعمرات ذات مظهر اسود جاف او براق باعتماد طريقة وسط احمر الكونغو فيما وصفت الجراثيم الغير مكونة للاغشية الحيوية باستخدام الطريقة نفسها بانها مكونة لمستعمرات وردية او حمراء.



الصورة 3: النمو على وسط اكار احمر الكونغو

A: النتيجة الموجبة لتكوين الاغشية الحيوية لعزلة من *Staphylococcus spp.*

B: النتيجة السالبة لتكوين الاغشية الحيوية لعزلة من *Micrococcus spp.*

بالاعتماد على نتائج اختباري الانبوب و اكار احمر الكونغو بينت النتائج ان جميع العزلات العائدة لعائلة Micrococcaceae البالغة عددها (15) عزلة وبنسبة 100% بالاعتماد على طريقة الانبوب مقارنة بنتائج اختبار اكار احمر الكونغو التي فيها اعطت 13 عزلة من مجموع 15 عزلة وبنسبة (86.6%) من العزلات العائدة لعائلة Micrococcaceae نتيجة موجبة للاختبار، كما موضح في الجدول (2).

الجدول 2: نتائج تكوين الغشاء الحيوي لعائلة Micrococcaceae

طريقة الانبوب		طريقة أكار أحمر الكونغو		العدد	العزلات
النسبة المئوية	العزلات الموجبة	النسبة المئوية	العزلات الموجبة		
100	7	71.4	5	7	<i>Micrococcus spp.</i>
100	8	100	8	8	<i>Staphylococcus spp.</i>
%100	15	86.6	13	15	العدد الكلي (Micrococcaceae)

من ملاحظة نتائجنا يتبين قلة حساسية طريقة اكار احمر الكونغو مقارنة بطريقة الانبوب مما يدل على كفاءة طريقة الانبوب في التحري عن تكوين الاغشية الحيوية وتتوافق هذه النتائج مع نتائج دراسة الباحثة العمري وآخرون (2013) والتي اجريت على العزلات السريرية والتي بينت فيها ان اعلى نسبة لتكوين الاغشية الحيوية هي بالاعتماد على طريقة الانبوب اذ كانت النسبة 93.3% مقارنة بطريقة اكار احمر الكونغو اذ كانت النسبة 20%.

تبين في دراستنا عن التحري عن تكوين الاغشية الحيوية ان لجراثيم *Staphylococcus spp.* قابلية عالية على تكوين الاغشية الحيوية وبالاعتماد على كلا الطريقتين وبنسبة 100%.

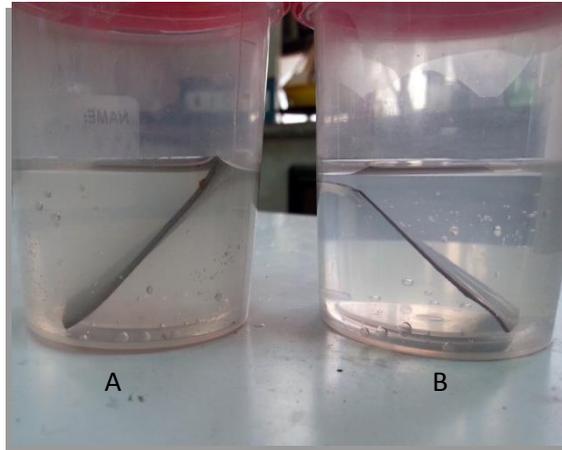
تعد جراثيم *Staphylococcus ssp.* من العوامل الجرثومية الاساسية للأمراض المتولدة عن الغذاء في الانسان والتي يمكن ان تسبب التسمم الغذائي عن طريق انتاجها للذيفانات المعوي ويعتبر الانسان هو الحامل الرئيسي لها في كل من الانف، والحجرة، والجلد لذلك فان العاملين في مجال الصناعات الغذائية يعدون المصدر الاساسي لتلوث الغذاء بها كما ان قابليتها على

تكوين الاغشية الحيوية يسمح لها بالمقاومة والبقاء في البيئات غير المناسبة كالسطوح المستخدمة في الصناعات الغذائية وبالتالي تعزيز حدوث التلوث الغذائي (Gutiérrez et al., 2012).

وقد اشار الباحث Gibson وجماعته (1995) في دراسته التي اجريت للتحري عن الجراثيم الملتصقة في 17 موقع في بيئات تصنيع الاغذية ان جراثيم *Staphylococci* و *Pseudomonas spp.* و *Enterobacter spp.* هي اكثر الجراثيم المعزولة شيوعا من تلك المواقع فيما اشار الباحث Gutiérrez وجماعته (2012) الى ان جرثومة *S.aureus* تتواجد في العديد من السطوح الملامسة للأغذية في معامل اللحوم والاغذية البحرية ومعامل الالبان اذ من بين 442 عينة شملتها دراسته في تلك المواقع لاحظ وجود جرثومة *S.aureus* بنسبة 6.17% في تلك العينات.

نتائج المقارنة في التحري عن قابلية جراثيم *Staphylococcus spp.* على تكوين الاغشية الحيوية على شريحتي الالمنيوم والفلوآد المقاوم للصدأ

بينت نتائج المقارنة في مدى قابلية الجراثيم على الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي على شريحتي الالمنيوم والفلوآد المقاوم للصدأ المحليتي الصنع ان جرثومة *Staphylococcus spp.* تمتلك القدرة على الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي على شريحة الالمنيوم أكثر من قابليتها على الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي على شريحة الفلوآد المقاوم للصدأ بعد الاعتماد على نتائج ظهور العكورة العالية بعد تعريض الشريحتين المغمرتين بالماء المقطر للموجات فوق الصوتية وكما هو موضح في الصورة (4).



الصورة 4: A: الماء المقطر الحاوي على شريحة الالمنيوم بعد التعريض للموجات فوق الصوتية
B: الماء المقطر على شريحة الفلوآد المقاوم للصدأ بعد التعريض للموجات فوق الصوتية

اذ تدل تلك العكورة العالية المرئية للماء المقطر الحاوي على شريحة الالمنيوم مقارنة بالماء المقطر الخالي من العكورة المرئية والحواي على شريحة الفلوآد المقاوم للصدأ على ان كثافة الخلايا الملتصقة المكونة للغشاء الحيوي التي انفصلت عن شريحة الالمنيوم بعد المعاملة بالموجات فوق الصوتية هي اكثر من كثافة الخلايا المنفصلة عن شريحة الفلوآد المقاوم للصدأ، قد يعود السبب في ذلك الى خشونة سطح شريحة الالمنيوم مقارنة بسطح شريحة الفلوآد المقاوم للصدأ الاقل خشونة لوجود طبقة الاوكسايد السطحية الملساء، اذ اشار الباحثان Day و DeQueiroz (2007) من ان طبيعة ودرجة خشونة سطح المواد المستخدمة في تكوين سطوح الالتصاق فضلا عن العوامل الاخرى المتمثلة بدرجة الحرارة، الاس الهيدروجيني والمغذيات تمتلك تأثيرا على عملية الالتصاق للجراثيم على السطوح وتكوين اغشية حيوية معقدة، فيما اشار الباحث Cheung وجماعته (2000) في دراسته الى ان الغشاء الحيوي للعنقوديات الذهبية من جنس *Staphylococcus* المتكون على مادة الالمنيوم هو اسمك من

ذلك المتكون على سطح مادة الفولاذ المقاوم للصدأ باستخدام اطباق مصنوعة من الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ مما عزى ذلك الى الاختلاف في الارتباط الكيميائي مع ذرات السطح.

تم استخدام الموجات فوق الصوتية في دراستنا لغرض فصل الخلايا الملتصقة على سطح الشريحتين قيد الاختبار، اذ اشار الباحث Bjercan وجماعته (2009) في دراسته لتبيان أفضل الطرق لفصل الاغشية الحيوية الملتصقة على سطحي الفولاذ المقاوم للصدأ والتيتانيوم هي طريقة التعريض للموجات فوق الصوتية.

لغرض التأكد من نتائج المقارنة في دراستنا تم التحري عن العدد الكلي للجراثيم الملتصقة على شريحتي الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ بعد تعريضهما للموجات فوق الصوتية، بينت النتائج ان عدد الوحدات المكونة للمستعمرات CFU لكل سم² لشريحة الالمنيوم هي $10^6 \times 97$ فيما تبين ان عدد الوحدات المكونة للمستعمرات لكل سم لشريحة الفولاذ المقاوم للصدأ هي $10^5 \times 172$ مما يعزز نتائج مقارنة العكورة، بالاعتماد على هذه النتائج يمكن القول ان جراثيم *Staphylococcus spp.* يمكنها تكوين اغشية حيوية على سطوح مادتي الالمنيوم والفولاذ المقاوم للصدأ باعتبارهما المادتين الداخلتين في تصنيع ادوات فرم اللحم مما يزيد من مخاطر تلوث اللحم اثناء عملية الفرغ وزيادة حمله الجرثومي الذي قد يؤدي بدوره الى زيادة احتمالية تعرضه للفساد او التسبب بحدوث اصابات التسمم الغذائي وبالأخص عند استخدام مادة الالمنيوم لكونها المادة المعززة للالتصاق الجرثومي مقارنة بمادة الفولاذ المقاوم للصدأ اعتمادا على نتائج دراستنا وكونها المادة الاكثر شيوعا على مستوى القطر ومحافظة نينوى في تصنيع ادوات فرم اللحم، وقد اشارت العديد من الدراسات وباستخدام المجهر الالكتروني الماسح الى ان الممرضات المحمولة بالغذاء وكذلك المسببة للفساد الغذائي تمتلك القابلية على التراكم كأغشية حيوية على سطوح مادة الفولاذ المقاوم للصدأ، والالمنيوم، والمطاط والمواد البلاستيكية الاخرى المستخدمة في تصنيع الادوات الداخلة في معامل الاغذية (Blackman and Frank, 1996; Notermans et al., 1991) من الجدير بالذكر الى ان دراستنا تعد من الدراسات النادرة على مستوى القطر في هذا المجال اذ تم التطرق الى استخدام مادة الفولاذ على وجه الخصوص لكونها من المواد النادرة التداول عالميا في الوقت الحالي في مجال صناعة الاغذية لغرض تسليط الضوء على اهمية العناية في اختيار المواد الداخلة في تصنيع السطوح الملامسة للأغذية للتقليل من احتمالية التلوث وتكوين الاغشية الحيوية.

الاستنتاجات

ان التصاق جراثيم *Staphylococcus spp.* وتكوين الاغشية الحيوية اقوى وأكثف على مادة الالمنيوم عند المقارنة مع مادة الفولاذ المقاوم للصدأ مما يعزز افضلية استخدام الفولاذ المقاوم للصدأ كبديل عن الالمنيوم في تصنيع السطوح الملامسة للاغذية لما له اهمية وعلاقة وثيقة بالصحة العامة.

الشكر والتقدير

انقدم بالشكر والثناء على قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل، التي اجري في مختبراتها العلمية تجارب هذا البحث، كما انقدم بالشكر الى الدكتورة اميرة محمود الراوي لدعمها لي في اجراء وانجاز هذا البحث لكل ما قدمته لي من ارشاد ومعلومات قيمة طيلة فترة انجاز البحث.

المصادر العربية

العكيدي، انغام جبار علوان (2012). عزل وتشخيص السلالة E.coli O157:H7 من اللحوم المحلية في محافظة نينوى. مجلة علوم الرفادين، 23(4)، 79-94.
العمرى، عائشة وميض رمزي؛ الراوي، اميرة محمود؛ رؤوف، وعد محمود (2013). التحري عن تكوين الاغشية الحيوية في بعض الجراثيم المرضية باستخدام طريقتين الانبوب واكار احمر الكونغو، مجلة علوم الرفادين، 42(6)، 55-65.

المصادر الاجنبية

- Ali, N.H.; Farooqui, A.; Khan, A.; Khan, A.Y.; Kazmi, S.U. (2010). Microbial contamination of raw meat and its environment in retail shops in Karachi, Pakistan. *J. Infect. Dev. Ctries.*, **4**(6), 382-388.
- Avila-Novoa, M.G.; Iniguez-Moreno, M.; Soks-Velgazques, G.A.; Gonzalez-Gomez, J.P.; Guerrero-Medina, P.J.; Gutierrez-Lomeli, M. (2018). Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from food contact surfaces in the dairy in dusty of Jalisco. *Mexico J. Food Quality*, **2018**, 8.
- Bjercan, G.; Witse, E.; Bergh, K. (2009). Sonication is superior to scraping for retrieval of bacteria in biofilm on titanium and steel surfaces in vitro. *Acta. Orthopaedica.*, **80**(2), 245-250.
- Blackman, I.C.; Frank, J.F. (1996). Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces. *J. Food Prot.*, **59**, 827-831.
- Cheung, H.Y.; Sun, S.Q.; Sreedhar, B.; Ching, W.M.; Tanner, P.A. (2000). Alterations in extracellular substances during the biofilm development of *Pseudomonas aeruginosa* on aluminum plates. *J. Appl. Microbiol.*, **89**(1), 100-6.
- Chmielewski, R.A.N.; Frank, J.F. (2003). Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2**, 22-23.
- DeQueiroz, G.A.; Day, D.F. (2007). Antimicrobial activity and effectiveness of a combination of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide in killing and removing *Pseudomonas aeruginosa* biofilms from surfaces. *J. Appl. Microbiol.*, **103**(4), 794-802.
- Galie, S.; Gareia-Gatieroz, C.; Migueleze, E.M.; Villar, C.J.; Lombo, F. (2018). Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiol.*, **9**, 898.
- Gibson, H.; Taylor, J.H.; Hall, K.E.; Holah, J.T. (1995). Biofilm and their detection in the food industry. R & D Report no.1. Chipping campden, UK: Compden and Chloeyood Food Research Association.
- Gutiérrez, D.; Delgado, S.; Vázquez-Sánchez, D.; Martínez, B.; Cabo, M.L.; Rodríguez, A.; Herrera, J.J.; García, P. (2012). Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, **78**(24), 8547-8554.
- Hassan, A.; Usman, J.; Kaleem, F.; Omair, M.; Khalid, D.; Iqbal, M. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz. J. Infect. Dis.*, **15**(4), 305-311.
- Iñiguez-Moreno, M.; Gutierrez-Lomele, M.; Guerrero-Medina, P.J.; Avila-Novoa, M.G. (2018). Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella spp.* under mono and dual-species condition and their sensitivity to cetrimonium bromide, peracetic acid and sodium hypochlorite. *Brazilian J. Microbiol.*, **49**, 310-319.
- Ma, Z.; Bumunang, E.W.; Stanford, K.; Bie, X.; Niu, Y.D.; McAllister, T.A. (2019). Biofilm formation by shiga toxin-producing *Escherichia coli* on stainless steel coupons as affected by temperature and incubation time. *Microorganisms*, **7**(95), 111.
- Mørretrø, T.; Hermansen, L.; Holck, A.L.; Sidhu, M.S.; Rudi, K.; Langsrud, S. (2003). Biofilm formation and the presence of the intercellular adhesion locus *ica* among *Staphylococci* from food and food processing environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(9), 5648-6555.
- Movassagh, M.H.; Karami, A.R.; Shayegh (2010). Biofilm formation of *Escherichia coli* O₁₁₁ on food contact Stainless steel and high-density polyethylene surfaces. *Global Veterin.*, **4**(5), 447-449.
- Myszka, K.; Czaczy, K. (2011). Bacterial Biofilms of Food Contact Surface – A Review. *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, **3**(61), 173-180.

- Notermans, S.; Dormans, J.A.M.A.; Mead, G.C. (1991). Contribution of surface attachment to the establishment of microorganisms in food processing plants: A review. *Biofouling*, **5**, 1-16.
- Oliveira, A.; Cunha, M.L. (2010). Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative Staphylococci. *BMC. Res. Notes.*, **3**, 260-267.
- Roberts, D.O.; Greenwood, M. (2003). "Practical Food Microbiology". 3rd ed. Blackwell publishing Ltd. USA. pp. 66-67.
- Soepranianondo, K.; Wardhana, D.K.; Budiarto; Diyantoro (2019). Analysis of bacterial contamination and antibiotics residue of beef meat from city slaughterhouses in East Java province. *Indonesia Veterin. World.*, **12**, 243-248.
- Wang, R. (2019). Biofilms and meat safety: A Mini-Review. *Internat. Food Protect.*, **18**, 120-127.
-

The Ability of *Staphylococcus spp.* Isolated from Minced Meat to Adhere and form Biofilm on the Aluminum and Stainless-Steel Surfaces

Alaa H. Al-Mola

Department of Biology / College of Science / University of Mosul

ABSTRACT

The research included isolation and diagnosis of 19 bacterial isolate from 10 samples (minced meat and meat mincer), as 15 isolates belonging to the Micrococcaceae were diagnosed including 8 *Staphylococcus spp.* Isolates depending on the phenotypic properties and biochemical test, and in order to investigate the bacterial ability of the Micrococcaceae family to the formation of biofilms, two methods are used, the tube method and the Congo red agar method, as the results showed that all of the 15 isolates possess the ability to form biofilms as 100% depending on The tube method compared to the results of the Congo red agar test, which gave 13 positive result of 15 isolates in ratio 86.6% of the Micrococceae family. The highest rate of biofilm formation attributed to the *Staphylococcus spp.* which it gives 8 positive result for both tests as 100%. When comparing the adhesiveness of *Staphylococcus spp.* on the surface of the aluminum and stainless steel coupons as the materials used in the manufacture of meat mincers, our results showed that the adhesion and formation of biofilms were high on the surface of the aluminum coupons compared to the stainless steel coupons in the turbidity test using sonication and when investigating the total number of bacteria attached to the aluminum and steel coupons after exposing them to sonication, it was found that the number of units forming colonies CFU / cm² for the aluminum coupons is 97×10^6 , while it was found that CFU / cm² of stainless steel coupons is 172×10^5 , which enhances the turbidity comparison results.

Keywords: Biofilms, *Staphylococcus spp.*, Coupons, Stainless steel, Aluminum