

Study of Biofilm Forming Bacteria in Urban Drinking Water and the Inhibitory Methods

Zahra Salehi Reyhani¹ and Zahra Khoshnood^{2*}

1- MSc. Student in Microbiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Dezful Branch, Dezful, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Dezful Branch, Dezful, Iran.

* Corresponding Author, Email: Zkhoshnood@gmail.com

Received: 7/10/2017

Revised: 26/12/2017

Accepted: 17/1/2018

Abstract

The maintenance of health and quality of drinking water is one of the major priorities in water supply systems. Formation of biofilm in water pipelines, tanks and domestic water purifiers is one of the important concerns in this regard. Viruses, bacteria and protozoa could easily transport with water flow among which, some certain bacteria have the ability to attach to the surfaces and form biofilms. Formation and growth of the biofilm could negatively affect the water flow, quality and health. Biofilm forming bacteria eject compounds which protect them against the damaging factors and through this process biofilm become resistant to degradation. Some of the biofilm creating bacteria also have pathogenic capabilities even in humans, which is crucially important in maintenance of the health of drinking water. Due to the importance of knowing the biofilm forming communities in urban drinking water supply, the present paper investigated the biofilm and its major bacterial agents and removal methods.

Keywords: Biofilm, Coli form, Drinking water, Escherichia coli, Microbial Pollution.

بررسی باکتری‌های تولیدکننده بیوفیلم در آب شرب شهری و روش‌های مقابله با آنها

زهرا صالحی ریحانی^۱ و زهرا خوشنود^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، دزفول، ایران.

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، دزفول، ایران.

* نویسنده مسئول، ایمیل: Zkhoshnood@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۱۵

تاریخ اصلاح: ۱۳۹۶/۱۰/۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۷

چکیده

حفظ بهداشت و کیفیت آب آشامیدنی یکی از مهم‌ترین اولویت‌ها در سیستم‌های آب‌رسانی به‌شمار می‌رود. تشکیل بیوفیلم بر روی سطوح لوله‌های انتقال آب، مخازن و دستگاه‌های خانگی تصفیه آب، یکی از مشکلات قابل توجه و مهم در این رابطه است. ویروس‌ها، باکتری‌ها و پروتوزوآها به‌وسیله آب منتقل می‌شوند. در این میان، برخی باکتری‌ها توانایی چسبیدن به سطوح و تولید بیوفیلم را دارند. رشد و گسترش بیوفیلم می‌تواند علاوه بر ایجاد اختلال در فرآیند جریان آب، بر کیفیت آشامیدنی و بهداشتی آن نیز تاثیر منفی داشته باشد. باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم به‌کمک ترشح ترکیبات محافظتی از خود در برابر عوامل آسیب‌رسان محافظت می‌کنند و بدین ترتیب بیوفیلم در برابر تخریب مقاوم می‌شود. برخی باکتری‌هایی که قابلیت تولید بیوفیلم دارند، توانایی بیماری‌زایی در انسان را نیز دارند که این موضوع در حفظ کیفیت و بهداشت آب آشامیدنی اهمیت بالایی دارد. به‌دلیل اهمیت شناخت جوامع تشکیل‌دهنده بیوفیلم در سیستم‌های آب شرب شهری، مقاله حاضر به معرفی بیوفیلم، مهم‌ترین باکتری‌های تشکیل‌دهنده آن و روش‌های مقابله با آنها می‌پردازد.

کلمات کلیدی: بیوفیلم، اشرشیا کلی، کلی‌فرم، آب شرب، آلودگی میکروبی.

باکتری‌های فرصت‌طلب و بیماری‌زا فراهم کنند (Percival et al., 1998). در مقاله حاضر به معرفی بیوفیلیم و مهم‌ترین باکتری‌های تشکیل‌دهنده جوامع بیوفیلیمی در سیستم‌های آب‌رسانی با تاکید بر آب شرب شهری پرداخته می‌شود.

۲- شناخت بیوفیلیم

لایه‌ی لزجی که در سطوح مرتبط با آب شکل می‌گیرد، بیوفیلیم است. این لایه تجمعی از میکروارگانیسم‌های موجود در آب است که توانایی چسبیدن به سطوح را داشته و به دور خود لایه‌های محافظی ترشح می‌کنند که آن‌ها را در برابر جریان‌ات آب و ... محافظت می‌کند (Van der Wende and Characklis, 1990). درحقیقت بیوفیلیم گروهی از سلول‌های میکروبی است که با شبکه‌ای از کانال‌های داخلی در ماتریکس گلیکوپروتئینی و پلی‌ساکاریدی خارج سلولی به نام ماده پلی‌مریک خارج سلولی (EPS) در ارتباط هستند. ماده پلی‌مریک خارج سلولی از پلی‌ساکارید، پروتئین، فسفولیپید، تیکوئیک اسید و دیگر مواد پلی‌مریک هیدراته با ۸۵ تا ۹۵ درصد آب تشکیل شده است (Chmielewski and Frank, 2003).

نام بیوفیلیم برای اولین بار به اجتماعات میکروبی نسبت داده شد (Costerton et al., 1978; 1995). در اصل، بیوفیلیم بیانگر جامعه‌ای از میکروارگانیسم‌ها است که در آن ارتباطات درونی بین گروه‌های متفاوت وجود دارد. بیوفیلیم می‌تواند از یک گونه^۱ و یا گونه‌های مختلف میکروبی تشکیل شود که می‌توانند بر روی سطوح متفاوتی از زنده تا غیرزنده تشکیل شوند (شکل ۱). میکروارگانیسم‌ها همچنین می‌توانند اجتماعات طبیعی را در فضای مابین آب و هوا تشکیل دهند. به این ترتیب کلیه سطوحی که با آب در تماس هستند، شامل سطوح زنده (سطح بدن جانداران) یا غیرزنده (لوله‌های آب، دستگاه‌های مرتبط با جریان‌ات آب، پایه اسکله‌ها، بدنه کشتی‌ها و ...) اغلب توسط لایه بیوفیلیم پوشیده می‌شوند. نوع میکروارگانیسم‌های موجود در این لایه و تعداد آن‌ها مشخصاً به منبع آب، جنس و مهندسی سطوح، شدت جریان‌ات آبی، شرایط فیزیکی‌وشیمیایی (دما، pH، شوری و ...)، نوع فرآیندهای تصفیه‌ای و ... وابسته است (Berry and Raskin, 2006) (جدول ۱).

مکانیسم ارتباطی سلول به سلول در توده‌های بیوفیلیم که برای

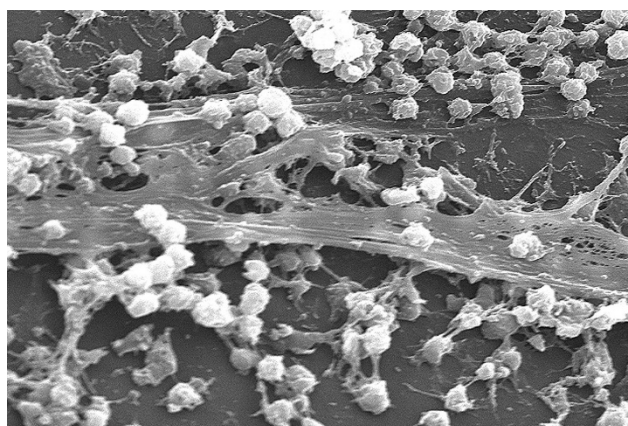
امروزه یکی از مسایل مهم در حفاظت بهداشت عمومی و سلامتی افراد جامعه تامین آب آشامیدنی سالم برای مصرف‌کنندگان است. اگرچه با روش‌های گوناگون در تصفیه آب می‌توان به آبی با کیفیت مطلوب از نظر ظاهری، میکروبی و شیمیایی دست یافت، اما حفظ این کیفیت در سیستم انتقال آب تا زمان مصرف نیز از اهمیت بالایی برخوردار است (Percival et al., 1998). کیفیت آب آشامیدنی در شیر آب مصرف‌کنندگان متأثر از خطوط توزیع، منابع ذخیره و دستگاه‌های خانگی نصب شده توسط مصرف‌کنندگان بوده و نگرانی‌هایی در ارتباط با نقصان کیفیت آب و بروز آلودگی‌های ثانویه میکروبی و شیمیایی در حین عملیات انتقال و توزیع آب وجود دارد (Mirhendi and Nikaeen, 2004).

امروزه روشن شده است که انواع بیماری‌های باکتریایی^۱، تک‌یاخته‌ای^۲، ویروسی^۳، انگلی^۴ و حتی قارچی^۵ می‌توانند باعث آلودگی افراد سالم از طریق آب شوند. از این‌رو برای پیشگیری از انتقال این بیماری‌ها از طریق آب معمول است که طی مراحل تولید تا مصرف آب، آن را تحت کنترل و پایش بهداشتی و کیفی قرار دهند (نبی‌زاده و فائزی رازی، ۱۳۷۵؛ محوی، ۱۳۷۵). تشکیل بیوفیلیم بر روی سطوح لوله‌های انتقال آب، مخازن و دستگاه‌های خانگی تصفیه آب یکی از مشکلات قابل توجه و مهم در این رابطه است. بیوفیلیم یا غشاهای بیولوژیک که یکی از قدیمی‌ترین اشکال تداوم حیات روی کره زمین می‌باشند، لایه بسیار نازکی از میکروارگانیسم‌ها هستند که به سطوح چسبیده و رشد می‌کنند (Szymanska, 2003).

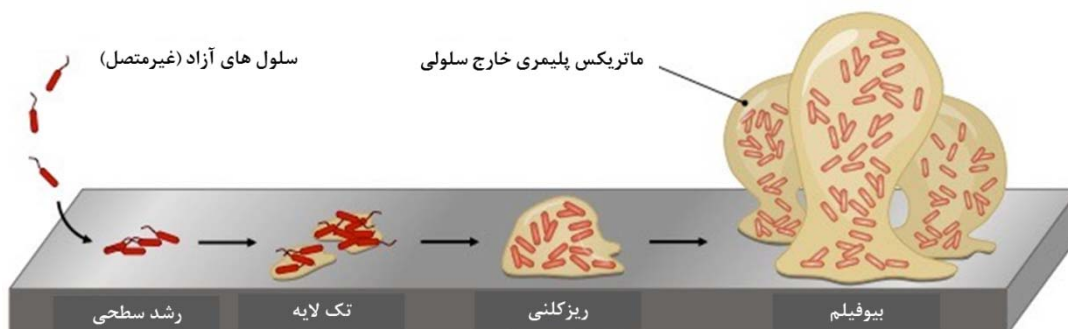
اگر چه رشد و توسعه بیوفیلیم در بعضی از سیستم‌ها مطلوب است، اما مشکلات و نگرانی‌های زیادی در ارتباط با بیوفیلیم پزشکی، صنعت و سیستم آبی وجود دارد (Costerton et al., 1987). افزایش مقاومت اصطکاکی مایعات در سیستم‌های آبی (Flemming, 2002) ایجاد پدیده رسوب بیولوژیک (Flemming, 2002) و ایجاد مزه و بو در آب از مشکلات مربوط به رشد و توسعه بیوفیلیم هستند (Mirhendi and Nikaeen, 2004). نگرانی مهم در ارتباط با وجود بیوفیلیم در سیستم‌های آبی مقاومت میکروارگانیسم‌های بیوفیلیم نسبت به گندزدایی است که موجب می‌شود بیوفیلیم‌ها پناهگاه مناسبی را برای رشد

می‌سازد (Hentzer and Givskov, 2003). به سیگنال‌های کوئوروم سنسینگ، خودالقاگر^۹ گفته می‌شود چرا که توسط خود سلول‌ها تولید شده و مولکول‌های سنتز شده، اغلب به طور مثبت بر سنتز خود تاثیر می‌گذاردند (Deep et al., 2011).

کنترل عملکردهای سلولی به کار می‌رود (Rumbaugh, 2011). در واقع تراکم و قدرت انتشار پایین ماتریکس پلی‌ساکاریدی موجود در بیوفیلم، شرایط ایده‌آلی را برای تجمع سیگنال‌ها و القای تولید فاکتورهای ویروالانس^۸ به واسطه کوئوروم سنسینگ فراهم نموده و باکتری‌ها را آماده حمله به میزبان



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی از باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Biofilm>)



شکل ۲- تصویر شماتیک از ساختار و ارتباطات موجود در بیوفیلم.

جدول ۱- عوامل موثر بر شکل‌گیری و رشد بیوفیلم در سیستم‌های انتقال آب

نوع اثر	عامل موثر
سطح بیشتر، اثر مثبت بر شکل‌گیری بیوفیلم	مساحت سطح
موثر بر تشکیل بیوفیلم توسط باکتری‌های هوازی	دسترسی به اکسیژن
سطوح پلاستیکی قابلیت بیشتری در تشکیل بیوفیلم دارند.	جنس سطح
تخلخل بیشتر، اثر مثبت بر شکل‌گیری بیوفیلم	میزان تخلخل سطح
باکتری‌های دارای زوائد چسبنده یا قابلیت ترشح ترکیبات پلی‌ساکاریدی توانایی بالاتری در تولید بیوفیلم دارند.	باکتری‌های موجود در آب
دماهای خیلی پایین یا خیلی بالا قابلیت رشد بیوفیلم را محدود می‌کنند.	دما
بر نوع باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم موثر است.	شوری
افزایش زمان موجب افزایش ضخامت بیوفیلم می‌شود.	زمان
در دسترس بودن نوترینت‌های ضروری اثر مثبت بر تشکیل و رشد بیوفیلم دارد.	نوترینت‌های محلول
جریان‌های شدید و ناگهانی می‌توانند موجب آسیب به ساختار بیوفیلم شوند.	شدت جریان

۳- باکتری‌های متداول تشکیل‌دهنده بیوفیلم

کلی‌فرم‌ها مهم‌ترین باکتری‌های شاخص مورد استفاده در آزمایش باکتریولوژیک آب هستند که از سال ۱۹۱۴ توسط اداره بهداشت عمومی آمریکا به‌عنوان شاخص آلودگی آب آشامیدنی معرفی شدند (Tallon et al., 2005). امروزه متداول‌ترین روش برای سنجش کیفیت میکروبی آب آشامیدنی استفاده از آزمون وجود یا عدم وجود باکتری‌های گروه کلی‌فرم کل و کلی‌فرم مدفوعی است (Zazouli and Bazrafshan, 2009). گروه کلی‌فرم‌های کل^۱ عبارت هستند از باکتری‌های میله‌ای شکل هوازی و بی‌هوازی اختیاری (شکل ۳)، متعلق به گروه باکتری‌های گرم منفی و فاقد اسپور^{۱۱} که قادرند در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد با تولید اسید و گاز، قند لاکتوز را تخمیر کنند و لزوماً همه آن‌ها منشأ مدفوعی ندارند (Zazouli and Bazrafshan, 2009).

از دیگر گونه‌های مهم شناخته شده می‌توان به انتروباکتریاسه اشاره کرد که به‌عنوان شاخص بهداشتی وجود آلودگی ثانویه مورد بررسی قرار می‌گیرند (Rokni, 1999). اشرشیاکلی عضو خانواده انتروباکتریاسه بوده و قادر به تخمیر لاکتوز و تولید اسید و گاز هستند. جنس *Escherichia* شامل شش گونه است که جنس اشرشیاکلی ۵ گونه شاخص آن است (Johnson et al., 1984; Bokkenhenuser and Mosenthal, 1981). اشرشیاکلی معمول‌ترین ارگانیزم هوازی در دستگاه گوارش انسان و برخی از حیوانات دیگر بوده و شاخص آلودگی مواد غذایی و آب به مدفوع است (شکل ۴). طبق گزارش‌های موجود اشرشیاکلی از طریق آب، گوشت، شیر و فرآورده‌های آن به

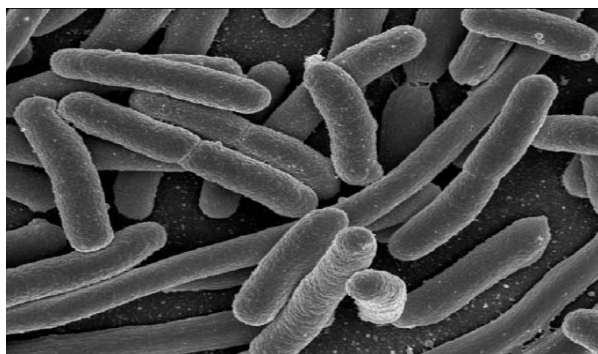
انسان منتقل می‌شود. مواد غذایی پخته چنانچه مجدداً آلوده نشوند عاری از آلودگی هستند، زیرا این باکتری در حرارت ۵۵ درجه سانتی‌گراد از بین می‌رود (Rokni, 1999; Barot, 1988; Daust and Pivniek, 1976; Johnson et al, 1984).

۴- خطرات سلامتی و زیست‌محیطی بیوفیلم

یکی از مواردی که در فرآیند تصفیه آب مورد توجه قرار می‌گیرد، تعداد باکتری‌های کلی‌فرم است که شاخصی از آلودگی آب به میکروب‌های بیماری‌زا به‌شمار می‌رود و در آب آشامیدنی تصفیه شده، نباید از حد مشخصی بیشتر باشد. این در حالی است که بیوفیل‌ها قابلیت به‌دام انداختن و جلب کلی‌فرم‌ها را دارند و این امر می‌تواند در برنامه‌های بهداشتی پایش آب شرب ایجاد اختلال کند (Keevil, 2002).

از سوی دیگر مشخص شده است که از جمله باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم، باکتری‌های فرصت‌طلبی هستند که در افراد سالم قادر به ایجاد بیماری نبوده، اما در افرادی که سیستم ایمنی ضعیفی دارند (سال‌مندان، نوزادان، بیماران سرطانی، بیماران تحت شیمی‌درمانی، بیماران مبتلا به ایدز، بیماران سوختگی یا پیوند عضو و ...) قادر به ایجاد بیماری هستند. از جمله این باکتری‌های فرصت‌طلب می‌توان به کلبسیلا اشاره کرد که قادر به تولید کپسول پلی‌ساکاریدی به دور خود است که آن را در برابر فرآیندهای ضدعفونی‌کننده حفظ می‌کند (Rompre et al., 2002).

همچنین ثابت شده است که بیوفیلم شکل گرفته در لوله‌های انتقال آب می‌تواند حاوی باکتری‌های بیماری‌زایی



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ الکترونی از باکتری میله‌ای شکل اشرشیاکلی.

(منبع: https://en.wikipedia.org/wiki/Pathogenic_Escherichia_coli)



شکل ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی از باکتری‌های میله‌ای شکل کلی‌فرم

(منبع: <https://wiki.epfl.ch/biodesign-realworld/background/coliform>)

باشد که مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. این امر می‌تواند یک معضل جدی در سیستم‌های آب‌رسانی به‌شمار رود (Berry and Raskin, 2006). علاوه بر این مشخص شده است که برخی باکتری‌ها می‌توانند در آب‌های ضد عفونی شده نیز زنده بمانند. از جمله روش‌های این باکتری‌ها برای دور ماندن از بقایای مواد ضد عفونی‌کننده (مانند کلر) می‌توان به چسبیدن به سطوح، تولید کپسول‌ها و پوشش‌های پلی‌ساکاریدی، تجمع، تغییرات ژنتیکی و ... اشاره کرد که همگی در ساختار بیوفیلم مشاهده می‌شوند (Wingender and Flemming, 2004).

۵- یافته‌های تشکیل بیوفیلم در آب‌های شرب شهری

بیوفیلم ممکن است در بخش‌های مختلف یک سیستم آب‌رسانی، از محل تصفیه‌خانه گرفته، تا مخازن، لوله‌های انتقال آب، دستگاه‌های تصفیه آب خانگی و ... تشکیل شود (شکل ۵). تاکنون مطالعات مختلفی در زمینه‌ی بررسی باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم در شرایط مختلف محیطی صورت گرفته است. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای بر روی لوله‌های آب یونیت‌های دندان‌پزشکی که آب شهری در آن‌ها جریان داشته است، مهم‌ترین باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم استافیلوکوک اورئوس تشخیص داده شد (صفوی و همکاران، ۱۳۸۴). در مطالعه مشابه دیگری بر روی بیوفیلم یونیت‌های دندان‌پزشکی مورد استفاده با آب شرب شهری نشان داده شد که باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک) و گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا) علی‌رغم عدم آلودگی آب ورودی، قادر به تولید بیوفیلم در این لوله‌ها هستند (هنرمند و همکاران، ۱۳۸۸).

در مطالعه دیگری که توسط Boe-Hansen et al. (2003) صورت گرفت، با استفاده از یک مدل سیستم آب‌رسانی شهری نشان داده شد که آب شرب شهری حاوی میکروارگانیسم‌هایی است که قابلیت تشکیل بیوفیلم بر سطح این لوله‌ها را دارند. این در حالی است که مطالعه Bomo et al. (2004) نشان می‌دهد که بیوفیلم موجود در لوله‌های انتقال آب شرب می‌تواند حاوی باکتری آئروموناس باشد. از سوی دیگر Anand et al. (2014) بیان کردند که باکتری‌های موجود در بیوفیلم قابلیت کاتالیزوری واکنش‌های شیمیایی و میکروبی منجر به

خوردگی در سیستم‌های لوله‌کشی و مخازن را دارند. در تحقیقات بر روی جداسازی باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم از سیستم توزیع آب در آفریقای جنوبی، به‌حضور سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا و انتروباکتر اشاره شده است (September et al., 2007). همچنین در مطالعه‌ای که توسط نبی‌زاده اصل و ولی‌زاده (۱۳۹۵) انجام گرفت، مشخص شد که باکتری باسیلوس سوبتیلیس قابلیت تشکیل بیوفیلم بر سطح لوله‌های انتقال آب از جنس پلی‌وینیل‌کلراید، پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن‌گلایکول را دارا است. در تحقیق دیگری که بر روی آب شیرین‌کن‌های شهر قم انجام شده است نشان داده شد که ۶٪ آب تصفیه شده دارای آلودگی میکروبی است. یکی از دلایل این آلودگی میکروبی، تشکیل لایه‌ی بیوفیلم بر روی فیلترهای دستگاه بیان شده است (Yari et al., 2007). همچنین در مطالعه‌ی بیوفیلم لوله‌های انتقال آب در کشورهای فرانسه، انگلیس، پرتغال و لاتویا مشخص شد که لوله‌های آهنی قابلیت تشکیل بیوفیلمی را دارند که مهم‌ترین باکتری موجود در آن، اشرشیاکلی است (Juhna et al., 2007).

در مطالعه‌ای که به‌منظور معرفی روش‌های جدید بررسی کیفیت آب صورت‌گرفته نشان داده شد که علاوه بر مطالعه معمول نمونه‌های آب در برنامه‌های پایش سیستم‌های آب‌رسانی، مطالعه‌ی بیوفیلم شکل گرفته در لوله‌های انتقال آب می‌تواند نقش مهمی در تعیین سلامت آب آشامیدنی داشته باشد. در این مطالعه نشان داده شد که در حالی که نمونه آب مورد بررسی از نظر محتوای باکتریایی (اشرشیاکلی) مطابق استانداردهای اروپا می‌باشد، اما بیوفیلم موجود در لوله‌ها حاوی مقادیر قابل توجهی از این باکتری است که در صورت تغییر در شدت جریان آب ممکن است در لوله‌ها گسترش یافته و منجر به آلودگی و اثرات نامطلوب آن شود (Techneau, 2009). براساس استاندارد آب آشامیدنی ایران و سازمان جهانی بهداشت، کلیه آب‌های آشامیدنی باید فاقد باکتری شاخص کلی‌فرم بوده و تا حدود ۳ باکتری در ۹۵ درصد موارد در شبکه آب آشامیدنی می‌تواند باشد (موسسه ملی استاندارد ایران، ۱۳۷۶).

طی تحقیقی که بر روی بیوفیلمی که در آب سردکن‌ها تشکیل می‌شود، نشان داده شد این آلودگی می‌تواند ناشی از مواردی چون آلودگی آب ورودی، اتصالات نامناسب آب سردکن و یا وجود درز در بدنه آب سردکن باشد (عالی‌پور و زارع، ۱۳۸۷). همچنین نتایج تحقیقی توسط Benoit در شهری

ضد عفونی کننده‌ی موثر گام نخست در ممانعت از شکل‌گیری بیوفیلم در سیستم‌های آبرسانی به‌شمار می‌رود (van der Kooij, 2000). یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای از بین بردن بیوفیلم موجود در لوله‌های آب، انجام دوره‌ای فرآیند فلاشینگ^{۱۲} یا شستشوی تحت فشار لوله‌ها است که موجب کنده شدن بیوفیلیم‌ها می‌شود. هرچند که این روش به دلیل هزینه‌بردار بودن و نیاز به قطع جریان معمول آبرسانی و حضور پرسنل و ... روشی پرهزینه به‌شمار می‌رود. جلوگیری از خوردگی لوله‌ها و تعویض لوله‌های آسیب‌دیده نیز یکی دیگر از راه‌های موثر کنترل بیوفیلیم‌ها است، چرا که محل‌های دچار خوردگی سطوح مناسبی برای اتصال بیوفیلیم به‌شمار می‌روند (USEPA, 1992). پایش مداوم و کنترل میزان نوترینت‌های موجود در آب که شرایط را برای رشد میکروب‌ها فراهم می‌کنند از دیگر راه‌های جلوگیری و مبارزه با بیوفیلیم در سیستم‌های آبرسانی است (USEPA, 1992).

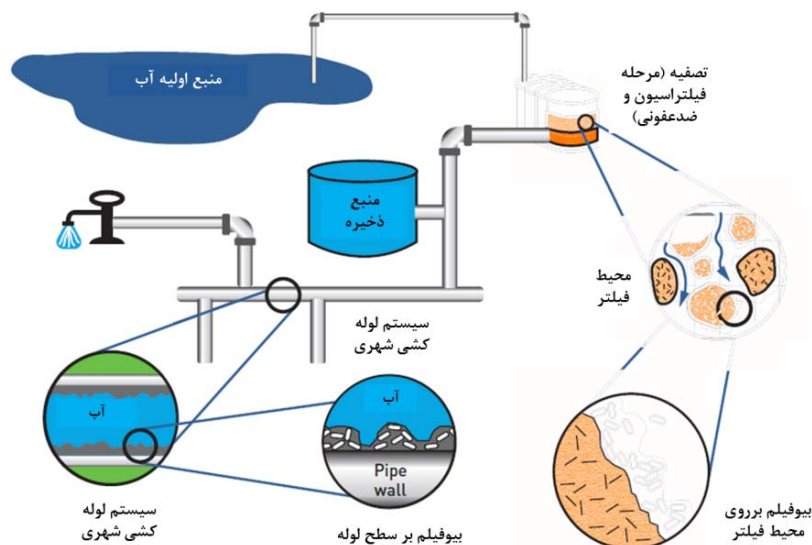
Dwivedi and Singh (2015) به‌منظور راه‌کاری در کنترل بیوفیلیم باکتریایی، به بررسی توان تشکیل بیوفیلیم ۳۰ سویه Streptococcus پرداختند و نهایتاً به‌منظور حذف بیوفیلیم ۱۸ سویه که بیوفیلیم قوی و متوسط داشتند از دو ترکیب امبلین و پیپرین استفاده کردند. نتایج نشان از تأثیر معنی‌دار ضد بیوفیلیمی این ترکیبات بود. هرچند که لازم به ذکر است این روش به دلیل مضرات ترکیبات شیمیایی برای انسان، به‌منظور استفاده در خطوط تولید صنایع غذایی پیشنهاد نمی‌شود. در مطالعه دیگری

در شمال آمریکا که در آن آلودگی میکروبی آب سردکن‌ها را با آب بطری‌های پخش شده بررسی کرده بود نشان داد که ۲۲ درصد از آب سردکن‌های مورد مطالعه دارای آلودگی میکروبی بوده است (Levesgue et al., 1994).

نتیجه آزمایش‌های شمارش پلیت‌هتروفیک نشان داده که اگر چه در دستگاه آب سردکن مخازنی برای ذخیره آب موجود است اما صاف و یکدست بودن سطوح فلزی این مخازن و جنس آن‌ها که ورقه فولاد ضدزنگ است مانع از رشد بیوفیلیم می‌شود. مطالعات انجام شده بر روی سطوح مختلف نشان داد که باکتری‌ها بر روی سطوح و یا لوله‌های پلاستیکی پلیمری نظیر لاتکس، پلی‌یورتان و پلی‌وینیل کلراید نسبت به سطوح شیشه‌ای و استیل (فولاد ضدزنگ) آسان‌تر چسبیده و رشد و توسعه می‌یابند (Rogers, 1994; Williams, 1996). به‌علاوه میکروسکوپ الکترونی نشان داد که احتمالاً سطوح موج‌دار در تجمع بیوفیلیم تأثیر دارند (Kettering, 2002).

۶- روش‌های کنترل بیوفیلیم در سیستم‌های توزیع آب و آب شرب

سازمان محیط‌زیست آمریکا (EPA) استانداردها و پروتکل‌هایی را برای پایش و از بین بردن بیوفیلیم‌های شکل گرفته در سیستم‌های توزیع آب شرب منتشر کرده است (USEPA, 1992). انجام روش مناسب تصفیه آب و استفاده از ترکیبات



شکل ۵- تصویر سیستم آبرسانی و محل‌هایی که امکان تشکیل بیوفیلیم دارند. (MSU, Center for Biofilm Engineering, 1999)

۷- بحث

نتایج مطالعات مختلف تاکنون مشخص کرده است که بیوفیلیم‌ها از گستره وسیعی از باکتری‌ها شکل می‌گیرند و مبارزه با آن‌ها به منظور حفظ سلامت آب آشامیدنی در سیستم‌های توزیع آب نیازمند توجه به فاکتورها و روش‌های مختلفی است. همچنین نشان داده شده است که یکی از دلایل تشکیل میزان بیوفیلیم زبری سطح مورد نظر است به طوری که چسبیدن باکتریایی در مجاورت یک سطح خشن بهتر از یک سطح صاف صورت می‌پذیرد. زیرا در سطوح خشن به دلیل پستی و بلندی‌های زیاد افزایش سطح وجود دارد که می‌تواند باعث جذب بیشتر باکتری‌ها شود. در یک بررسی نشان داده شد که متوسط چگالی جمعیت سلول‌های چسبیده در سطح شیشه صاف کمتر از سطح شیشه خراش‌دار است (Characklis et al., 1990). به این دلیل بیان شده است که مبارزه با خوردگی در سیستم‌های انتقال آب یکی از روش‌های مقابله با بیوفیلیم است. در مطالعه مهدوی و همکاران (۱۳۸۷)، سویه *Salmonella enteritidis* مورد استفاده با هیدروفوبیسیته ۷۳٪ روی سطح شیشه‌ای نسبت به استیل و پلی‌اتیلن، قدرت تشکیل بیوفیلیم بیشتری از خود نشان داد و از آنجا که سطوح شیشه‌ای و استیل نسبت به سطوح پلی‌اتیلن، هیدروفیل تر هستند، می‌توان به نقش مهم جاذبه‌ی ناشی از هیدروفوبیسیته سطح باکتری و سطح هیدروفیل در تشکیل بیوفیلیم پی‌برد. همچنین، هیدروفوبیسیته بالای بین سطح باکتری و سطح شیشه‌ای با ایجاد نیروی دافعه از اتصال باکتری و در نهایت، تشکیل بیوفیلیم روی این سطح جلوگیری می‌کند. بنابراین محققین نتیجه‌گیری کردند که پدیده‌های اتصال و تشکیل بیوفیلیم باکتریایی از یک عامل تأثیر نمی‌پذیرند، به طوری که هیدروفوبیسیته بالا برای تشکیل بیوفیلیم لازم هست، اما کافی نیست. در این تحقیق مسئله دیگری که مورد توجه قرار گرفت جنس سطوح و رابطه آن با میزان چسبیدن باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلیم بود که شاید بتوان مطلب را به وسیله آب‌گریزی و آب‌دوستی سطوح توجه کرد (Zottola, 1994). نتایج نشان داد که باکتری‌ها به سطوح پلاستیک که آب‌گریز هستند نسبت به سطوح آب‌دوست شیشه و فلزاتی نظیر روی، بیشتر می‌چسبند.

(Nan et al., 2015) با افزودن عنصر مس دوظرفیتی به ساختار آلیاژی استیل ضدزنگ، سبب ممانعت از چسبیدن باکتری *Staphylococcus aureus* به سطح استیل شدند. آنان علت این امر را ممانعت مس برای چسبیدن پلی‌ساکارید خارج سلولی به سطح اعلام کردند، زیرا که باکتری‌هایی که دارای سطح سلولی هیدروفوب هستند نسبت به باکتری‌هایی که دارای سطح سلولی هیدروفیل هستند، در اتصال به سطوح دارای خاصیت هیدروفوبیستی بالا، موفق تر می‌باشند. نتایج بررسی‌های Gunduz and Tuncel (2006) بر روی بیوفیلیم جداسازی شده از خط تولید بستنی نشان داد که بیشترین باکتری‌های گرم منفی به خانواده *Enterobacteriaceae* تعلق داشته است. آن‌ها گونه‌های *Shigella*، *Citrobacter*، *Enterobacter*، *Proteus* و *Escherichia* را شناسایی کردند. سایر باکتری‌های گرم منفی جداسازی شده در تحقیق آن‌ها، *Aeromonas*، *Pseudomonas* و *Moraxell* بود. باکتری‌های گرم مثبت شناسایی شده عبارت بودند از: *Staphylococcus*، *Bacillus*، *Listeria* و *Lactic acid bacteria* نظیر *Streptococcus* و *Leuconostoc*. آن‌ها اظهار داشتند که بیشترین مشکل را *Listeria* و *Shigella* ایجاد می‌کنند. در این پژوهش نیز باکتری‌های *Shigella* و *Staphylococcus* شناسایی شدند.

(Adetunji et al., 2014) در پی یافتن روشی به منظور کنترل بیوفیلیم باکتریایی، به بررسی تأثیر زمان گرم‌خانه‌گذاری بر میزان سرعت رشد و گسترش بیوفیلیم پرداختند. آنان با افزایش زمان گرم‌خانه‌گذاری از ۱۸ تا ۷۲ ساعت برای باکتری‌های *Listeria*، *Staphylococcus* و *Escherichia coli monocytogenes* نشان دادند که نه تنها با افزایش زمان گرم‌خانه‌گذاری، جمعیت میکروبی کاهش نمی‌یابد بلکه افزایش حجم بیوفیلیم توسط این باکتری‌ها اتفاق می‌افتد.

مطالعات (Rivardo et al., 2009) بر روی بیوسورفکتانت *Bacillus subtilis* و *Bacillus licheniformis* بر روی بیوفیلیم *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* سبب کاهش ۹۷٪ و ۹۰٪ بیوفیلیم شد. تشکیل بیوفیلیم یکی از مهم‌ترین مسائل عملیاتی در غشاء‌های فیلتراسیون در طول بازه‌های زمانی طولانی شستشو محسوب می‌شود، به گونه‌ای که در سیستم‌های اولترافیلتراسیون و فیلتر غشائی اسمز معکوس امکان روپرو شدن با بیوفیلیم‌های تکامل‌یافته وجود دارد (Anand et al., 2014).

داورخواه ربانی، م.، ارشادی، ا.، و زارعی، ا.، (۱۳۷۸)، «بررسی کیفیت باکتری شناسایی آب آشامیدنی عمومی شهر کاشان در تابستان ۱۳۷۷»، مجموعه مقالات دومین سمینار کشوری بهداشت محیط تهران، ۵۴۲-۵۴۸.

دهقانی، م. ه.، قادرپوری، م.، فضلزاده دوپیل، م.، و گل مهدی، س.، (۱۳۸۸)، «بررسی کیفیت میکروبی آب آشامیدنی روستاهای شهرستان سقز»، فصلنامه سلامت و محیط، ۲(۲)، ۱۳۲-۱۳۹.

رخش خورشید، ع.، جعفری مدرک، م.، کرد مصطفی پور، ف.، و قنبری، م.، (۱۳۸۰)، «بررسی میزان آلودگی آب شرب در شهر زاهدان»، مجموعه مقالات چهارمین همایش کشوری بهداشت محیط، یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۲۸-۳۶.

رضی، ف.، (۱۳۸۸)، کنترل کیفیت در آزمایشگاه‌های پزشکی، انتشارات نوید شیراز.

شاه منصوری، م.، فرخزاده، ح.، یوسفی، ح.، ع.، و محمودی، م.، (۱۳۸۰)، «بررسی شاخص‌های آلودگی بیولوژیکی در منابع آب آشامیدنی شهرستان مبارکه»، مجموعه مقالات چهارمین همایش بهداشت محیط یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۶۸۱-۶۸۹.

رکنی، ن.، (۱۳۷۸)، اصول سلامت مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران.

زازولی، م.، و بذرافشان، ا.، (۱۳۸۸)، فناوری آب و فاضلاب، انتشارات سمت، تهران، ایران.

صفوی، م.، قائم مقامی، ا.، امینزاده، م.، علوی، ک.، و طاهری، س.، (۱۳۸۴)، «بررسی تاثیر بیلپرون بر کاهش کلنی‌های تعدادی از باکتری‌های محیطی آلوده‌کننده مجاری آب یونیت‌های دندانپزشکی»، مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان، ۱۷(۴)، ۷۶-۸۴.

محو، ا.، (۱۳۷۵)، جنبه‌های بهداشتی و زیباشناختی کیفیت آب، انتشارات بال گستر، مشهد.

میرهندي، ش.، و نیک‌آئین، م.، (۱۳۸۳)، میکروبیولوژی فاضلاب، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

نبيزاده، ر.، و فائزی رازی، د.، (۱۳۷۵)، رهنمودهای کیفیت آب آشامیدنی، مؤسسه علمی و فرهنگی نص، تهران.

نبيزاده اصل، س.، و ولیزاده، ر.، (۱۳۹۵)، مقایسه روش‌های جداسازی بیوفیلم‌های باکتریایی تشکیل شده بر سطوح لوله‌های انتقال آب و وسایل استفاده شده در شيردوشي در دامداری‌ها»، نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۸(۱)، ۱۸-۲۵.

موسسه ملی استاندارد ایران، (۱۳۷۶)، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب آشامیدنی، شماره ۱۰۵۳، تهران، ایران.

هنرمند، م.، شهرکی، ش.، فرهاد ملاشاهی، ل.، قلی‌پور، ر.، و

با توجه به موارد ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که شکل‌گیری بیوفیلم‌ها در سیستم‌های آبرسانی امری معمول و اجتناب‌ناپذیر است که در صورتی که با عوامل دیگری همچون آسیب‌دیدگی و خوردگی لوله‌ها، عدم انجام تصفیه کارآمد و ... همراه شود می‌تواند دربرگیرنده باکتری‌های بیماری‌زایی باشد که ممکن است برای مصرف‌کنندگان آب مشکلات بهداشتی به‌بار آورد.

در مجموع می‌توان گفت مواد سنتتیک بر پایه هیدروکربن‌ها (مانند ظروف پلاستیکی) بیشتر در معرض تشکیل بیوفیلم و ایجاد آلودگی هستند. به‌طور کلی هر چه خلل و فرج میکروسکوپی سطوح کمتر باشد احتمال چسبیدن پایدار باکتری‌ها به آن‌ها کم‌تر بوده و بنابراین تشکیل بیوفیلم‌ها نیز کمتر صورت می‌پذیرد. بنابراین لوله‌های زنگ‌زده و فرسوده و وسایل پلاستیکی قدیمی و خش‌دار می‌توانند احتمال آلودگی میکروبی را بالا برده و مشکلاتی ایجاد نمایند. طراحی مناسب شبکه آبرسانی از عوامل مهم در کنترل بیوفیلم است. با توجه به روش‌های بررسی شده برای جداسازی باکتری‌ها در این تحقیق می‌توان پیشنهاداتی مانند استفاده از مواد پاک‌کننده، حذف لکه‌های حاوی میکروارگانیسم‌ها از روی سطوح توسط آب سرد و گرم و به‌کارگیری عوامل شیمیایی و در نهایت ضدعفونی را برای حذف کامل بیوفیلم‌ها ارایه کرد. همچنین در پاک‌سازی از طریق عوامل پاک‌کننده شیمیایی و نیروهای فیزیکی، استفاده از درجه حرارت بالا می‌تواند اثربخش باشد.

۹- پی‌نوشت‌ها

- 1- Bacterial
- 2- Protozoan
- 3-Virus
- 4- Parasitic
- 5- Fungal
- 6- Biofilm
- 7- Single species
- 8- Virulence
- 9- Autoinducer
- 10- Total coliform
- 11- Spore
- 12- Flushing

- Deep, A., Chaudhary, U., and Gupta, V., (2011), "Quorum and bacterial pathogenicity, from molecules to disease", *Journal of Laboratory Physicians*, 3(1), 4-11.
- Flemming, H., (2002), "Biofouling in water system-cases, causes and countermeasures", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(6), 629-640.
- Johnson, K., (1984), "Bacillus cereus foodborne illness: an update", *Journal of Food Protection*, 4, 145-153.
- Juhna, T., Birzniece, D., Larsson, S., Zulenkovs, D., Shapiro, A., Azevedo, N.F., Menard-Szczebara, F., Castagnet, S., Feliers, C., and Keevil, C.W., (2007), "Detection of *Escherichia coli* in biofilms from pipe samples and coupons in drinking water distribution networks", *Applied Environmental Microbiology*, 73(22), 7456-7464.
- Keevil, C.W., (2002), "Pathogens in environmental biofilms", In: *Encyclopedia of Environmental Microbiology*, Bitton, G. (ed.), Wiley, New York, 16, 2339-2356.
- Percival, S., Knapp, J.S., Edyvean, R., and Wales, D., (1998), "Biofilms, mains water and stainless steel", *Water Research*, 32, 2187-2193.
- Rivardo, F., Turner, R., Allegrone, G., Ceri, H., and Martinotti, M., (2009), "Antiadhesion activity of two biosurfactants produced by *Bacillus* spp. prevents biofilm formation of human bacterial pathogens", *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 83(3), 541-553.
- Rogers, J., Dowse, H., Dennis, P., Lee, J., and Keevil, C., (1994), "Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth on *Legionella pneumophila* in potable water system", *Applied Environmental Microbiology*, 60(6), 1842-1851.
- Rompre, A., Servais, P., Baudart, J., de-Roubin, M., and Laurent, P., (2002), "Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches", *Journal of Microbiological Methods*, 49, 31-54.
- September, S., Els, F., Venter, S., and Brozel, V., (2007), "Prevalence of bacterial pathogens in biofilms of drinking water distribution systems", *Journal of Water Health*, 5(2), 219-227.
- Simona, L., Linda, M., and Talis, J., (2009), "Applicability of biofilm sampling for detection of pathogens in drinking water distribution networks", *Data from Coupons and Concentration Methods*, D3.6.8.3., 48-59.
- Szymanska, J., (2003), "Biofilm and dental unit قاندى، م.، (۱۳۸۸)، «بررسی میزان آلودگی باکتریایی آب یونیت‌های دانشکده دندانپزشکی زاهدان»، طبیب شرق، ۱۱(۴)، ۵۳-۶۱.
- Adetunji, V.O., Kehinde, A.O., Bolatito, O.K., and Chen, J., (2014), "Biofilm formation by *Mycobacterium bovis*: Influence of surface kind and temperatures of sanitizer treatments on biofilm control", *BioMed Research International*, 25(2), 16-23.
- Anand, S., Singh, D., Avadhanula, M., and Marka, S., (2014), "Development and control of bacterial biofilms on dairy processing membranes", *Comparative Review of Food Science and Food Safety*, 13(1), 18-33.
- Barot, M., (1988), "Loction of *Campylobacter jejuni* in infected chicken livers", *Journal of Clinical Microbiology*, 17, 291-295.
- Berry, D., Xi, C., and Raskin, L., (2006), "Microbial ecology of drinking water distribution systems", *Current Opinions in Biotechnology*, 17, 297-302.
- Boe-Hansen, R., Martiny, A.C., Arvin, E., and Albrechtsen, H.J., (2003), "Monitoring biofilm formation and activity in drinking water distribution networks under oligotrophic conditions", *Water Science and Technology*, 47(5), 91-97.
- Bomo, A.M., Storey, M.V., and Ashbolt, N.J., (2004), "Detection, integration and persistence of aeromonads in water distribution pipe biofilms", *Journal of Water and Health*, 2(2), 83-96.
- Characklis, W.G., McFeters, G.A., and Marshall, K.C., (1990), "Physiological ecology in biofilm systems", In: *Biofilms*, W.G. Characklis, W.G., and Marshall K.C. (eds.), John Wiley & Sons, New York, 341-394.
- Costerton, J., Cheng, K., Geesey, G., Ladd, T., Nickel, J., Dasgupta, M., and Marrie, T., (1987), "Bacterial biofilm in nature and disease", *Annual Review on Microbiology*, 41, 435-463.
- Chmielewski, R., and Frank, J., (2003), "Biofilm formation and control in food processing facilities", *Food Science*, 2, 22-32.
- Costerton, J., Geesey, G., and Cheng, K., (1978), "How bacteria stick", *Scientific American*, 238, 86-95.
- Costerton, J., Lewandowski, Z., Caldwell, D., Korber, D., and Lappinscott, H., (1995), "Microbial biofilms", *Annual Reviews of Microbiol*, 49, 711-745.
- Daust, S., and Pivniek, H., (1976), "Small infections doses of salmonella", *Lancet*, 1, 866.

- watlines”, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 10, 151-157.
- U.S. EPA. U.S. Environmental Protection Agency, (1992), “Control of biofilm growth in drinking water distribution systems”, EPA/625/R-92/001, Washington, D.C.
- van der Kooij, D., (2000), “The unified biofilm approach: A framework for addressing biological phenomena in distribution systems”, *International Distribution Research Symposium*, Denver, CO. 53.
- Van der Wende, E., and Characklis, W.G., (1990), “Biofilms in potable water distribution systems”, In: *Drinking Water Microbiology*, McFeters, G.A. (ed.), Springer-Verlag, New York, 115-135.
- Williams, J., Andrew, N., and Santiago, J., (1996), “Microbial contamination of dental unit waterlines: Current preventive measures and emerging options”, *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 17, 691-708.
- Wingender, J., and H. Flemming, (2004), “Contamination potential of drinking water distribution network biofilms”, *Water Science and Technology*, 49, 277-286.
- Yari, A., Safdari, M. and Hadadian, L., (2007), “Chemical and physical and microbial quality evaluation of treated water by desalination in Qom during 2002”, *Qom Medical Journal*, 1, 45-54.
- Zottola, E.A., (1994), “Microbial attachment and biofilm formation: A new problem in food industry”, *International Journal of Food Microbiology*, 23(2), 125-148.