รายงานการวิจัย

ความไม่ชอบน้ำและการตกตะกอนรวมกลุ่มของ *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7 และ *Listeria monocytogenes*

ณฐนนท์ ตราชู[1] และ กาญจนา จำปามี[2]

Abstract

Trachoo, N. and Chumpamee, K.
Hydrophobicity and aggregation of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes*
Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(2) : 377-383

Physicochemical properties such as hydrophobicity and ability to aggregate play an important role in the attachment of microorganisms to environmental surfaces and intestinal tissues of humans and animals leading to gastroenteritis in hosts. The objective of this research was to determine relative hydrophobicity and aggregation properties of major foodborne pathogens including *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes* LM18, LM32, LM msu1 and LM msu2. Relative hydrophobicity as determined by the microbial adhesion to hydrocarbon (MATH test) of *E. coli* 0157:H7 was 19.30% indicating that substances on its cell surfaces were more hydrophobic than other pathogens and thus could be extracted more by the hydrocarbon, hexadecane. *C. jejuni* had relative hydrophobicity of 4.15% while the four strains of *L. monocytogenes* had relative hydrophobicity ranging from 3.79% to 16.23%. Aggregation of *C. jejuni*, *E. coli* and *L. monocytogenes* LM18, LM32, LM msu1 and LM msu2 were 45%, 21.25%, 12.51%, 13.09%, 31.27% and 41.22%, respectively.

Key words : hydrophobicity, aggregation, biofilm

Department of Food and Nutrition Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44000

[1]Ph.D.(Food Science and Technology), [2]วท.บ.(เทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์), ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

Corresponding e-mail: nathanon.t@msu.ac.th

รับต้นฉบับ 21 มิถุนายน 2547 รับลงพิมพ์ 27 กันยายน 2547

บทคัดย่อ

ณฐนนท์ ตราชู และ กาญจนา จำปามี

ความไม่ชอบน้ำและการตกตะกอนรวมกลุ่มของ *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7 และ *Listeria monocytogenes*

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(2) : 377-383

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์เกาะติดบนพื้นผิววัสดุหรือผนังลำไส้คนและสัตว์ ซึ่งอาจนำไปสู่การเกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร คือ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) และการตกตะกอนรวมกลุ่ม (aggregation) ของเชื้อ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงคุณสมบัติความไม่ชอบน้ำและการตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อ *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7 และ *Listeria monocytogenes* สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 และ LM msu2 และจากการทดลองพบว่าค่าความไม่ชอบน้ำโดยวิธี Microbial Adhesion to Hydrocarbon (MATH test) ของ *E. coli* 0157:H7 มีค่า 19.30% แสดงว่ามีส่วนที่สามารถรวมตัวกับ hydrocarbon phase ได้ดีและมีความไม่ชอบน้ำสูงและอาจเกาะติดกับพื้นผิวได้ดีกว่าเชื้ออื่น ส่วนเชื้อ *C. jejuni* มีความไม่ชอบน้ำเพียง 4.15% เชื้อ *L. monocytogenes* ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่ามีค่าความไม่ชอบน้ำแตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.79% ถึง 16.23% การตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อซึ่งแสดงถึงการเกาะรวมกันเองของเชื้อและบอกถึงการเพิ่มจำนวนขึ้นได้ในบริเวณที่มีการเกาะติด พบว่า *C. jejuni*, *E. coli* และ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 และ LM msu2 มีค่าตกตะกอนรวมกลุ่มได้ 45%, 21.25%, 12.51%, 13.09%, 31.27% และ 41.22% ตามลำดับ

แผ่นชีวะ (biofilm) คือชั้นของจุลินทรีย์ที่เกาะติดบนผิววัสดุ การเกิดแผ่นชีวะเป็นปรากฏการณ์ที่จุลินทรีย์ใช้ในการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดในธรรมชาติ จุลินทรีย์ที่อาศัยในแผ่นชีวะได้รับประโยชน์หลายประการ เช่น เป็นแหล่งเก็บกักอาหารและความชื้น รายงานวิจัยชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์หลายชนิดที่อาศัยอยู่ในแผ่นชีวะหรือในรูปแบบของแผ่นชีวะจะมีอัตราการรอดชีวิตจากสารฆ่าเชื้อและสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นานขึ้น (Trachoo, 2003; Trachoo *et al*., 2002) การเกาะติดถือเป็นปรากฏการณ์แรกในการเกิดแผ่นชีวะบนผิววัสดุ ในแง่ของความปลอดภัยในอาหารแผ่นชีวะเป็นแหล่งปนเปื้อนของเชื้อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้ การเกาะติดของจุลินทรีย์บนผิวของสิ่งไม่มีชีวิตเช่น แก้ว โลหะ ไม้ หรือหินมีความแตกต่างไปจากการเกาะติดบนสิ่งมีชีวิต เช่น เยื่อบุผนังลำไส้หรือผิวหนังภายนอกและภายในของคนและสัตว์ ทั้งนี้การเกาะติดของจุลินทรีย์บนผิวของสิ่งไม่มีชีวิตขึ้นอยู่กับคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของจุลินทรีย์และผิววัสดุ องค์ประกอบของของเหลวที่อยู่รอบข้างซึ่งจะปรับสภาพและอาจเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของผิววัสดุได้ ผิวเซลล์ของจุลินทรีย์กำหนดคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของจุลินทรีย์เนื่องจากประกอบด้วยโปรตีน (cell surface proteins) หลายชนิด ส่วนชนิดและปริมาณของโปรตีนเหล่านี้อาจเปลี่ยนแปลงไปได้ถ้าได้รับการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม (Chmielewski and Frank, 2003)

คุณลักษณะทางเคมีกายภาพส่งผลต่อการเกาะติดของเซลล์แบคทีเรียบนผิววัสดุ (Mattila-Sandholm and Wirtanen, 1992) อัตราการเจริญ สารอาหาร อุณหภูมิ และเวลาในการเจริญเติบโต ต่างก็ส่งผลต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพบนผิวเซลล์ของแบคทีเรีย ผิวของแบคทีเรียมีประจุโดยรวมแล้วเป็นลบและมีความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) อย่างไรก็ดีความไม่ชอบน้ำบนผิวเซลล์นี้สามารถเปลี่ยนแปลงไปได้ตามช่วงอายุของเซลล์ โดยปกติในขณะที่แบคทีเรียมีอัตราการเจริญสูงขึ้นความไม่ชอบน้ำบนผิวเซลล์จะลดลง (Boulange-Peterman, 1996) ได้มีการทดสอบความไม่ชอบน้ำของเซลล์ *Listeria* และ *Yersinia* พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดสามารถเกาะติดได้ดีขึ้นเมื่อมีเมตาบอลิซึมในเซลล์สูง (Hood and Zottola, 1997) การเกาะติดของแบคทีเรียแต่ละชนิดอาจจะขึ้นอยู่กับทั้งความไม่ชอบน้ำบนผิวเซลล์ และ/หรือประจุโดยรวมที่ผิวเซลล์ เช่น ในกรณีของ *Staphylococcus epidermidis*

จะขึ้นอยู่กับทั้งความไม่ชอบน้ำบนผิวและประจุโดยรวมที่ผิวเซลล์ ส่วน *Escherichia coli* จะขึ้นอยู่กับประจุโดยรวมบนผิวเซลล์ โดยจะเกาะติดได้ดีขึ้นเมื่อมีประจุลบลดลง ส่วนสปอร์ของแบคทีเรียสามารถเกาะติดได้ดีกว่าเซลล์แบคทีเรียเพราะมีความไม่ชอบน้ำสูงกว่า (Chmielewski and Frank, 2003)

ความสามารถในการเปียก (wettability) ของผิววัสดุหรืออาจแสดงได้ในรูปของพลังงานอิสระบนผิววัสดุ (free surface energy) มีอิทธิพลต่อการเกาะติดของเชื้อแบคทีเรีย ผิววัสดุที่มีพลังงานอิสระบนผิววัสดุมาก ได้แก่ สแตนเลสและแก้ว มักจะมีความไม่ชอบน้ำต่ำ (more hydrophilic) แบคทีเรียสามารถเกาะติดและสร้างแผ่นชีวะบนวัสดุเหล่านี้ได้ง่ายกว่าวัสดุที่มีความไม่ชอบน้ำสูงๆ เช่น เทฟลอน (Teflon), ไนลอน (nylon) , buna-N และฟลูออริเนท โพลิเมอร์ (fluorinated polymers) เป็นต้น (Blackman and Frank, 1996) *L. monocytogenes* สามารถเกาะติดบนสแตนเลสได้เร็วกว่ายาง buna แม้ว่าการเกาะติดบนสแตนเลสจะไม่แข็งแรงเท่ากับการเกาะบนยาง buna การทำความสะอาดพื้นผิวอาจเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพของผิววัสดุไปได้ เช่น การทำความสะอาดด้วยด่างหรือกรดอย่างแรงทำให้ผิววัสดุมีความไม่ชอบน้ำต่ำลง ในขณะที่การใช้กรดอ่อนๆ ทำให้เกิดความไม่ชอบน้ำบนผิววัสดุสูงขึ้น โครเมี่ยมออกไซด์ (chromium oxide) อาจเกิดขึ้นเมื่อผิวสแตนเลสสัมผัสกับอากาศหรือน้ำ เมื่อมีสารอินทรีย์มาเกาะชั้น chromium oxide นี้จะส่งเสริมการเกาะติดของแบคทีเรีย โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียสามารถจะเกาะบนผิววัสดุที่มีความชอบน้ำ (hydrophilic surfaces) ได้มากกว่าผิววัสดุที่มีความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic surfaces) อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญของเชื้อหลังการเกาะติดเพื่อสร้างแผ่นชีวะนั้นเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วจนทำให้ความสำคัญของเรื่องนี้ลดลงไป นอกจากนี้ยังมีการพบอีกว่าแบคทีเรียจะสร้างแผ่นชีวะแบบสม่ำเสมอชั้นเดียวบนผิววัสดุที่มีความชอบน้ำ เช่น แก้ว แต่จะสร้างแผ่นชีวะแบบเป็นกลุ่มก้อนและหนาบนผิววัสดุที่มีความไม่ชอบน้ำ เช่น nylon และดีบุก จะเห็นได้ว่าความไม่ชอบน้ำมีความสำคัญต่อการเกาะติดของแบคทีเรียในการเกิดแผ่นชีวะ

ความสามารถในการตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์จัดว่าเป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดการเกาะติดบนเนื้อเยื่อของตัวให้อาศัย (host) หรือระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็นชนิดเดียวกันหรือต่างชนิด (Buswell *et al*., 1997) ได้มีการศึกษาเรื่องการตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากมาเป็นเวลาหนึ่ง อย่างไรก็ดีความเข้าใจในเรื่องนี้ของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคมากับอาหารยังมีน้อยอยู่ ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความไม่ชอบน้ำและความสามารถในการตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคมากับอาหารที่สำคัญได้แก่ *C. jejuni*, *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes*

วิธีการทดลอง

1. เชื้อจุลินทรีย์ *C. jejuni* ATCC 29428 (human isolate) ได้รับมาจาก New Zealand Reference Culture Collection, Wellington, New Zealand เชื้อ *E. coli* 0157:H7 (meat plant isolate) และเชื้อ *L. monocytogenes* (environmental isolates) สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 และ LM msu2 ได้รับมาจาก Department of Food Technology and Nutrition's culture collection มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.เมือง จ.มหาสารคาม

2. การเลี้ยงเชื้อจากเชื้อแช่เยือกแข็ง ทำการเพาะเชื้อ *C. jejuni*, *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 และ LM msu2 โดยนำเชื้อที่แช่แข็งที่ -22ºC เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลี้ยงเชื้อ *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptone soya broth (TSB; HiMedia, Bombay) บ่มที่ 37ºC เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจาก TSB ลงใน tryptone soya agar (TSA; HiMedia) บ่มที่ 37ºC เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ส่วนเชื้อ *C. jejuni* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ semisolid-brucella (HiMedia) ที่เติม ferrous sulfate, sodium metabisulfite, pyruvic acid (FBP; Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo) ซึ่งเตรียมโดยละลาย sodium pyruvate 6.25 กรัม ในน้ำกลั่น 10-20 มล. เทใส่ volumetric flask 100 มล. เติม ferrous sulfate และ sodium metabisulfite อย่างละ 6.25 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น กรองด้วยแผ่นกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.22 ไมโคร-

เมตร ใช้ 4 มล. ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว 1000 มล. การบ่มเชื้อ *C. jejuni* ทำที่ 42ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะบรรยากาศ microaerobic ซึ่งประกอบด้วยออกซิเจน 5% คาร์บอนไดออกไซด์ 10% และไนโตเจน 85% (CampyGen™, Oxoid, Hamsshire, England) ทำการถ่ายเชื้อทั้งสามเช่นนี้ 3 ครั้ง แล้วนำเชื้อมาศึกษาความไม่ชอบน้ำโดยวิธี MATH test และการตกตะกอนรวมกลุ่ม

3. ศึกษาความไม่ชอบน้ำโดยวิธี Microbial adhesion to hydrocarbon (MATH test) (Rosenberg, *et al*., 1980) ทำการเลี้ยงเชื้อ *C. jejuni* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ brucella agar slant ที่เติมด้วยสาร FBP ตามที่อธิบายข้างต้น บ่มที่อุณหภูมิ 42ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะบรรยากาศ microaerobic ส่วนเชื้อ *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 เลี้ยงใน TSA slant บ่มที่ 37ºC เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นเติมด้วย 0.1% peptone water ที่ฆ่าเชื้อมาแล้ว เขย่า ปรับค่า OD_{600i} Cell suspension อยู่ในช่วง 0.8-1.0 ปริมาณ 3 มล. ใส่ในหลอดทดลองที่ปลอดเชื้อ เติม hexadecane 3 มล. เขย่าด้วยวอร์เท็คให้เข้ากัน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำส่วนล่างมาวัดค่า OD_{600af} บันทึกผลการทดลองและคำนวณ % ความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity)

$$\%\text{Hydrophobicity} = \frac{OD_{600i} - OD_{600af}}{OD_{600i}} \times 100$$

4. การศึกษาการตกตะกอนรวมกลุ่ม (Misawa and Blaser, 2000) ดูด 0.1% peptone water 3 มล. ใส่ในหลอด brucella agar slant และ TSA slant ที่มีเชื้อ *C. jejuni*, *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 เขย่าด้วยวอร์เท็ค แล้วดูด Cell suspension ใส่ในหลอดทดลองที่ปลอดเชื้อ นำไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ปรับค่า OD ให้อยู่ในช่วง 0.8-1.0 (OD_{600i}) ดูด 5 มล. ใส่ในหลอดทดลองที่ปลอดเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ที่ 4ºC เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำส่วนบนมาวัดค่า OD_{600af} บันทึกผลการทดลอง และคำนวณ % การรวมกลุ่มตกตะกอน (aggregation)

$$\%\ \text{Aggregation} = \frac{OD_{600i} - OD_{600af}}{OD_{600i}} \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการทดลอง พบว่า *E. coli* 0157:H7 มีคุณสมบัติความไม่ชอบน้ำสูงสุด (Table 1) ความไม่ชอบน้ำมีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด (Chmielewski and Frank, 2003) โดยทั่วไปแล้วเมื่อเซลล์แบคทีเรียมีค่าความไม่ชอบน้ำสูงเซลล์จะสามารถเกาะติดผิววัสดุได้ดีขึ้น อีกนัยหนึ่งเซลล์ที่อยู่ในอาหารเหลว (planktonic cells) จะมีค่าความไม่ชอบน้ำต่ำ ส่วนการเกาะติดบนพื้นผิวของเซลล์แบคทีเรียเปรียบเทียบกับสปอร์ของแบคทีเรียชนิดเดียวกันพบว่าสปอร์ที่มีความไม่ชอบน้ำสูงสามารถเกาะติดบนพื้นผิวได้ดีกว่าเซลล์ธรรมดา (Peng *et al*., 2001; Wiencek *et al*., 1990) จากรายงานการศึกษาการเกาะติดของ *E. coli* หลายสายพันธุ์คือ K51, H8, O14, O111 และ F-18 พบว่าสายพันธุ์ที่มีค่าความไม่ชอบน้ำสูงจะเกาะติดกันดีกว่าสายพันธุ์ที่มีค่าความไม่ชอบน้ำต่ำ (Zita and Hermansson, 1997) อย่างไรก็ดีจากรายงานการวิจัยอีกฉบับซึ่งศึกษาการเกาะติดบนผิววัสดุคนละชนิดรายงานว่าการเกาะติดของเชื้อ *E. coli* 0157:H7 บนเนื้อวัวไม่มีความเกี่ยวข้องกับค่าความไม่ชอบน้ำ (Li and McLandsborough, 1999) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าอิทธิพลของค่าความไม่ชอบน้ำของเชื้อแบคทีเรียขึ้นอยู่กับชนิดวัสดุที่เชื้อจะไปเกาะติดด้วย เมื่อเปรียบเทียบความไม่ชอบน้ำของเชื้อ *L. monocytogenes* ทั้ง 4 สายพันธุ์จากการทดลองพบว่า *L. monocytogenes* สายพันธุ์ LM32 มีความไม่ชอบน้ำสูงสุด และสายพันธุ์ msu2 มีความไม่ชอบน้ำต่ำสุด แสดงให้เห็นว่าแม้จะเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน แต่ต่างสายพันธุ์ ก็มีความไม่ชอบน้ำแตกต่างกันด้วย ซึ่งตรงกับการทดลองของ Zita and Hermansson (1997) ที่พบว่า *E. coli* ต่างสายพันธุ์มีความไม่ชอบน้ำและประจุรวมบนผิวเซลล์แตกต่างกันด้วย และการมี fimbriae ก็เป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ความไม่ชอบน้ำของ *E. coli* เพิ่มขึ้นเช่นกัน รายงานการวิจัยเกี่ยวกับแผ่นชีวะของ *L. monocytogenes* พบว่าเชื้อ *L. monocytogenes* สามารถเกาะติดบนพื้นผิววัสดุได้ดียิ่งขึ้นถ้าอยู่ในอาหารที่มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบ (Chmielewski and Frank, 2003) และความไม่ชอบน้ำ *L. monocytogenes* จะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ลดลง (Briandet

et al., 1999) ความไม่ชอบน้ำของแบคทีเรียอาจเปลี่ยนแปลงไปได้เมื่อมีการเจริญแบบแผ่นชีวะ *C. jejuni* ที่อยู่ในรูปแผ่นชีวะจะมีความไม่ชอบน้ำต่ำกว่า *C. jejuni* ที่อยู่ในรูปแขวนลอยในอาหารเหลว (Dykes *et al.,* 2003) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า เนื่องจาก *C. jejuni* ซึ่งมีความไม่ชอบน้ำต่ำ (ดังแสดงใน Table 1 ของรายงานการวิจัยนี้) จะต้องปรับตัวโดยการเปลี่ยนชนิดหรือองค์ประกอบของสารที่อยู่บนผิวเซลล์เพื่อทำให้สามารถเกาะติดได้ดีขึ้น ซึ่งชนิดและองค์ประกอบของสารต่างๆ บนผิวเซลล์เหล่านี้ส่งผลต่อความไม่ชอบน้ำของเชื้อ *C. jejuni* ด้วย ดังเคยมีรายงานการวิจัยในทำนองเดียวกันว่าเชื้อ *C. jejuni* ที่ถูกทำให้กลายพันธุ์และไม่สามารถสร้าง high molecular weight glycan บนผิวเซลล์ได้ จะมีความไม่ชอบน้ำที่ผิวเซลล์ลงลดด้วย (Bacon *et al*., 2001)

ผลการศึกษาการตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อ *C. jejuni*, *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 และ LM msu2 แสดงใน Table 2 พบว่า *C. jejuni* และ *L. monocytogenes* LM msu2 มีการตกตะกอนรวมกลุ่มสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการตกตะกอนของเชื้อ *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 ซึ่งบ่งชี้ว่าเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการเกาะรวมกลุ่มกันได้ดีและอาจแสดงถึงความสามารถในการสร้างแผ่นชีวะที่หนาได้ดี อย่างไรก็ตามการเกิดแผ่นชีวะของเชื้อจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อนและอาจเกิดจากหลายปัจจัย การตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น คุณสมบัติที่เหมือนกันของผิวเซลล์ ในกรณีที่มีจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งชนิด

Table 1. Relative hydrophobicity of *C. jejuni*, *E. coli* 0157:H7 and *L. monocytogenes* LM18, LM32, LM msu1 and LM msu2 as determined by microbial adhesion to hydrocarbon

Microorganism	% Hydrophobicity* (Mean±SD)
C. jejuni	4.15±2.47
E. coli 0157:H7	19.30±4.07
L. monocytogenes LM18	12.25±1.11
L. monocytogenes LM32	16.24±0.85
L. monocytogenes msu1	8.05±3.52
L. monocytogenes msu2	3.79±0.57

***Means of four replications**

Table 2. Relative aggregation of *C. jejuni*, *E. coli* 0157:H7 and *L. monocytogenes* LM18, LM32, LM msu1 and LM msu2

Microorganism	% Aggregation* (Mean±SD)
C. jejuni	45.60±2.55
E. coli 0157:H7	21.25±1.77
L. monocytogenes LM18	12.51±1.13
L. monocytogenes LM32	13.09±2.72
L. monocytogenes LM msu1	31.27±3.63
L. monocytogenes LM msu2	41.22±4.82

***Means of four replications**

(species) พลังงานจลน์ (kinetic energy) คุณสมบัติการเคลื่อนที่ของเชื้อ (motility) และการผ่าเหล่า (mutantation) (Misawa and Blaser, 2000) เมื่อจุลินทรีย์เกิดการผ่าเหล่าทำให้การทำงานของโปรตีนภายในเซลล์เปลี่ยนไปและอาจทำให้การตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อเปลี่ยนแปลงไปเช่นกัน เช่น *C. jejuni* และ *E. coli* 0157:H7 ที่เกิดการผ่าเหล่าในยีนส์ *lux*S ซึ่งมีผลทำให้ยีนส์ *fla*A ที่ทำหน้าที่ในการสร้างโปรตีน flagellin และการเคลื่อนที่เกิดการผ่าเหล่าด้วยจึงทำให้การเคลื่อนที่ของเชื้อลดลงและการตกตะกอนรวมกลุ่มลดลงด้วย (Jeon *et al*., 2003)

ค่าการตกตะกอนรวมกลุ่มของเชื้อ *L. monocytogenes* ทั้ง 4 สายพันธุ์มีความแตกต่างกัน โดยค่าเฉลี่ยการตกตะกอนรวมกลุ่มของ LM18 และ LM32 มีค่า 12.51% และ 13.09% ซึ่งต่ำกว่า LM msu1 และ LM msu2 ที่มีค่า 31.27% และ 41.22% ตามลำดับ ข้อมูลนี้เมื่อเทียบกับค่าความไม่ชอบน้ำของ *L. monocytogenes* ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า LM18 และ LM32 มีค่าความไม่ชอบน้ำสูงกว่า LM msu1 และ LM msu2 และกรณีเดียวกันที่น่าสนใจ พบว่าเชื้อ *C. jejuni* ซึ่งมีค่าความไม่ชอบน้ำต่ำจะมีค่าการตกตะกอนรวมกลุ่มสูง จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของเชื้อ *C. jejuni* และ *L. monocytogenes* ที่ส่งผลให้เกิดความไม่ชอบน้ำบนผิวเซลล์จุลินทรีย์สูงขึ้นอาจจะทำให้จุลินทรีย์ชนิดนั้นมีความสามารถตกตะกอนรวมกลุ่มได้ลดลง

ในการทดลองนี้พบว่าเชื้อ *E. coli* 0157:H7 ซึ่งมีค่าความไม่ชอบน้ำและค่าการตกตะกอนรวมกลุ่มที่สูงกว่า *L. monocytogenes* แต่จากผลการทดลองก่อนหน้านี้ (ข้อมูลยังไม่ได้ทำการตีพิมพ์) พบว่า *L. monocytogenes* (5 log cell/cm^2) สามารถสร้างแผ่นชีวะบนพลาสติกได้ดีกว่า *E. coli* 0157:H7 (4.4 log cell/cm^2) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการเกาะติดและสร้างแผ่นชีวะของเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้มากกว่าความไม่ชอบน้ำและการตกตะกอนรวมกลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของคณะนักวิจัยจากนิวซีแลนด์ซึ่งสรุปว่าความไม่ชอบน้ำของเชื้อ *Streptococcus* ไม่มีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการเกาะติดบนผิวเหล็กสแตนเลส (Flint *et al*., 1997) ส่วน *C. jejuni* นั้นไม่พบว่าสามารถสร้างแผ่นชีวะได้ที่สภาวะแวดล้อมตามธรรมชาติได้ (Trachoo *et al*., 2002)

สรุปผลการทดลอง

ความไม่ชอบน้ำและการตกตะกอนรวมกลุ่มของแบคทีเรีย เชื้อ *C. jejuni*, *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes* สายพันธุ์ LM18, LM32, LM msu1 และ LM msu2 มีค่าแตกต่างกัน ความหลากหลายของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพบนผิวเซลล์นี้ยังพบได้ใน *L. monocytogenes* แต่ละสายพันธุ์อีกด้วย คุณสมบัติทางเคมีกายภาพนี้มีผลต่อการเกาะติดและเกิดแผ่นชีวะบนผิววัสดุและความหนาของแผ่นชีวะ อย่างไรก็ดีในการทดลองนี้พบว่าความไม่ชอบน้ำ และการตกตะกอนรวมกลุ่มของ *E. coli* 0157:H7 และ *L. monocytogenes* ไม่มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับปริมาณเชื้อบนแผ่นชีวะ แสดงให้เห็นว่าความไม่ชอบน้ำไม่ใช่เป็นสาเหตุสำคัญเพียงอย่างเดียวที่ทำให้เชื้อเกาะติดบนพื้นผิววัสดุแต่การเกาะติดของเชื้ออาจขึ้นอยู่กับคุณสมบัติบนผิวเซลล์อื่นๆ ของเชื้อและผิววัสดุที่เกาะติด

เอกสารอ้างอิง

Bacon, D.J., Szymanski, C.M., Burr, D.H., Silver, R.P., Alm, R.A., and Guerry, P. 2001. A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. Mol. Microbiol., 40: 769-777.

Blackman, I.C., and Frank, J.F. 1996. Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces. J. Food Prot., 59: 827-831.

Boulange-Peterman, L. 1996. Processes of bioadhesion on stainless steel surfaces and cleanability: a review with special reference to the food industry. Biofouling, 10:275-300.

Briandet, R., Meylheuc, T., Maher, C., and Bellon-Fontaine, M. N. 1999. *Listeria monocytogenes* Scott A: cell surface charge, hydrophobicity, and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. Appl. Environ. Microbiol., 65: 5328-5333.

Buswell, C.M., Herlihy, Y.M., Marsh, P.D., Keevil, C.W., and Leach, S.A. 1997. Coaggregation amongst aquatic biofilm bacteria. J. Appl. Microbiol., 83: 477-484.

Chmielewski, R.A.N., and Frank, J.F. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2: 22-32.

Dykes, G.A., Sampathkumar, B., and Korber, D.R. 2003. Planktonic or biofilm growth affects survival, hydrophobicity and protein expression patterns of a pathogenic *Campylobacter jejuni* strain. Int. J. Food Microbiol., 89: 1-10.

Flint, S.H., Brooks, J.D., and Bremer, P.J. 1997. The influence of cell surface properties of thermophilic streptococci on attachment to stainless steel. J. Appl. Microbiol., 83: 508-517.

Hood, S.K., and Zottola, E.A. 1997. Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems. Int. J. Food Microbiol., 37: 145-153.

Jeon, B., Itoh, K., Misawa, N., and Ryu, S. 2003. Effects of quorum sensing on flaA transcription and autoagglutination in *Campylobacter jejuni*. Microbiol Immunol, 47: 833-839.

Li, J., and McLandsborough, L.A. 1999. The effects of the surface charge and hydrophobicity of *Escherichia coli* on its adhesion to beef muscle. Int. J. Food Microbiol., 53: 185-193.

Mattila-Sandholm, T., and Wirtanen, G. 1992. Biofilm formation in the industry: a review. Food Rev. Int., 8: 573-603.

Misawa, N., and Blaser, M.J. 2000. Detection and characterization of autoagglutination activity by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun., 68: 6168-6175.

Peng, J.S., Tsai, W.C., and Chou, C.C. 2001. Surface characteristics of *Bacillus cereus* and its adhesion to stainless steel. Int. J. Food Microbiol., 65: 105-111.

Rosenberg, M., Gutnick, D., and Rosenberg, E. 1980. Adherence of bacteria to hydrocarons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. FEMS Microbiol. Lett., 9: 29-33.

Trachoo, N. 2003. Biofilms and the food industry. Songklanakarin J. Sci. Technol., 25: 807-815.

Trachoo, N., Frank, J.F., and Stern, N.J. 2002. Survival of *Campylobacter jejuni* in biofilms isolated from chicken houses. J. Food Prot., 65: 1110-1116.

Wiencek, K.M., Klapes, N.A., and Foegeding, P.M. 1990. Hydrophobicity of *Bacillus* and *Clostridium* spores. Appl. Environ. Microbiol., 56: 2600-2605.

Zita, A., and Hermansson, M. 1997. Effects of bacterial cell surface structures and hydrophobicity on attachment to activated sludge flocs. Appl. Environ. Microbiol., 63: 1168-1170.