

## آلودگی انتروباکتریاسه در آب آشامیدنی چاه‌های شهرستان رومشکان

اسماعیل بادپرو<sup>۱</sup>، ابراهیم بادپرو<sup>۲\*</sup>، محسن میرزایی<sup>۳</sup>

۱- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد، واحد بروجرد، بروجرد، ایران.

۲- استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد، واحد بروجرد، بروجرد، ایران.

یافته / دوره هجدهم / شماره ۱ / بهار ۹۵ / مسلسل ۶۷

### چکیده

دریافت مقاله: ۹۴/۱۱/۱۳ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۲/۲۵

\* **مقدمه:** آب یک مایع حیاتی است که توسط عوامل متعدد بیولوژیکی مانند انگل، قارچ، ویروس و باکتری آلوده می‌شود. انتروباکتریاسه‌ها بخصوص اشرشیاکلی از مهم‌ترین شاخص‌های آلودگی آب با مدفوع می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی انتروباکتریاسه‌ها در آب آشامیدنی چاه‌های شهرستان رومشکان می‌باشد.

\* **مواد و روش‌ها:** تعداد ۱۶۰ نمونه ۲/۵ لیتری آب جمع‌آوری و در اسرع وقت و تحت شرایط مطلوب دمایی به آزمایشگاه انتقال و در آنجا با عبور از فیلترهای ۰/۴۵ میکرونی تغلیظ گردید. سپس کلنی‌های انفرادی تشکیل شده در محیط کشت مک‌کانکی، برای تعیین نوع باکتری روی دیگر محیط‌های افتراقی انتقال یافتند.

\* **یافته‌ها:** تعداد ۱۸ مورد (۱۱/۲۵٪) از آب آشامیدنی چاه‌ها به اشرشیاکلی آلوده بودند که در اکثر موارد با سایر انتروباکتریاسه‌ها مانند انتروباکتر، سیتروباکتر و کلبسیلا توأم بود. این آلودگی‌ها با فاصله چاه‌های فاضلاب و درب‌های معیوب چاه‌ها رابطه معنی‌داری داشتند.

\* **بحث و نتیجه‌گیری:** هر چند میزان آلودگی نسبت به بعضی مطالعات انجام شده پایین‌تر بود ولی بر اساس استاندارد WHO بسیار بالاست. پیشنهاد می‌شود پیش از آنکه بیماری‌های منتقله از آب چاه‌ها اپیدمیک شوند دست‌اندرکاران با لوله‌کشی و یا راه‌های ممکن اقدام نمایند.

\* **واژه‌های کلیدی:** آب آشامیدنی چاه‌ها، انتروباکتریاسه، اشرشیاکلی، آلودگی.

\* آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی.

پست الکترونیک: ebrahim.badparva@yahoo.com

## مقدمه

آب که مایع حیات است و خداوند در سوره انبیاء آیه ۳۰ بر این نکته تأکید فرموده به صور مختلفی مانند دریا، رودخانه و چشمه در سطح زمین یا آب‌های زیر زمینی در طبیعت وجود دارد (۱).

افزایش جمعیت، صنعتی شدن و گسترش شهرنشینی، استفاده بی‌رویه از زمین و استقرار مناطق مسکونی با تراکم جمعیتی بالا در محل‌های نامناسب باعث مسائل زیست محیطی می‌شود که آلودگی منابع آبی هم یکی از پیامدهای مهم آن به شمار می‌رود (۳-۱).

آلودگی آب را این‌چنین تعریف نموده‌اند که هر عاملی اعم از شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی که موجب تغییر خواص و نقش آب در مصارف ویژه‌اش گردد، گویند و هر منبعی برای آلودگی به عوامل و راه‌های آلوده کننده خاصی نیاز دارد و از عوامل بیولوژیکی آلوده کننده آب می‌توان به انگل‌های تک یاخته و پر یاخته، قارچ‌ها، ویروس‌ها و باکتری‌ها اشاره نمود که بعضی از آن‌ها بیماری‌زا بوده و به همین دلیل به آن‌ها بیماری‌های منتقله توسط آب گفته می‌شوند (۶-۴).

از جمله باکتری‌های بیماری‌زا که توسط آب منتقل می‌شوند می‌توان به ویبریوکلرا عامل بیماری وبا، سالمونلا تیفی عامل بیماری تب روده، شیگلا عامل بیماری شیگلوز و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس عامل بیماری سل اشاره نمود که اکثراً پاتوژن روده‌ای بوده و اساساً به صورت مدفوعی-دهانی منتقل می‌شدند (۹-۷)، مهم‌ترین گروه از باکتری‌ها که معرف آلودگی مدفوعی آب محسوب می‌شوند و در این زمینه هم کاربرد وسیعی دارند باکتری‌های کلی فرم بخصوص اشریشیاکلی می‌باشند که برای ارزیابی آب به کار می‌روند این گروه از باکتری‌ها که به حالت کومنسال در دستگاه گوارشی وجود دارند و جزء فلور طبیعی روده انسان و حیوانات خونگرم محسوب می‌شوند به عنوان معرف اختصاصی آلودگی مدفوعی آب پیشنهاد شده‌اند

(۱۳-۱۰) هر چند وجود آن‌ها در جاهای دیگر بدن مانند مجاری ادراری، کیسه صفراوی، زخم‌ها و غیره، خصوصاً در افراد با ضعف سیستم ایمنی حالت پاتوژن پیدا می‌کنند (۱۴).

هدف از این مطالعه بررسی آلودگی باکتریایی انتروباکتریاسه‌ها در آب آشامیدنی چاه‌های شهرستان رومشکان بود که در نیمه اول سال ۱۳۹۴ با استفاده از تست‌های تشخیصی-تفکیکی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

الف: روش نمونه‌گیری: این تحقیق که یک مطالعه توصیفی-مقطعی بود که در نیمه اول سال ۱۳۹۴ بر روی نمونه‌های ۲/۵ لیتری از ۱۶۰ چاه آب آشامیدنی شهرستان رومشکان که بر اساس فرمول و بعد از کسب اجازه از مالکان و تکمیل پرسش‌نامه حاوی سه سری سؤال (۱- سؤالات فاصله‌ای: فاصله چاه‌های آب تا چاه‌های فاضلاب، طولیله دام‌ها و لانه پرندگان، ۲- نوع درب چاه: معیوب، فلزی و یا سیمانی ۳- وجود یا عدم وجود دام یا پرند در محل نمونه‌گیری) به تدریج جمع‌آوری و بلافاصله جهت انجام آزمایشات تشخیصی-تفکیکی به آزمایشگاه مرکز تحقیقات داروهای گیاهی ارسال شدند.

ب: تغلیظ نمونه‌ها: با عبور ۲۵۰ ml از هر نمونه آب از فیلترهای ۰/۴۵ μm، باکتری‌ها در صورت وجود بر روی فیلترها تغلیظ و سپس با استفاده از پنس استریل فیلترها را به صورت وارونه و با کمی فشار بر روی محیط مک‌کانکی قرار داده و بعد از بستن درب پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه که در صورت وجود باکتری و تشکیل کلنی، جهت ایجاد کلنی‌های تک، مجدد بر روی محیط مک‌کانکی ساب کالچر داده می‌شدند.

ج: تفکیک نمونه‌های انتروباکتریاسه: با استفاده از کلنی‌های تفکیکی و تست‌های تشخیصی-تفکیکی مانند اندول، TSI، EMB، MRVP، اوره، سیترات، H<sub>2</sub>S

Brilliant agar broth، نوع انتروباکتریاسه را مشخص

و در جدول مخصوص ثبت می‌شدند.

د: تعیین بار باکتریایی نمونه‌ها: همزمان ۱ ml از هر

یک از نمونه‌های آب را به صورت پورپلیت بر روی محیط

مک‌کانکی جهت تعیین بار باکتریایی انتروباکتریاسه‌ها

کشت داده می‌شدند.

ه: نتایج حاصل را با استفاده از نرم افزار SPSS

نسخه ۱۳ مورد آنالیز قرار گرفتند.

### یافته‌ها

تعداد ۱۸ (۱۱/۲۵٪) مورد از ۱۶۰ نمونه آب چاه‌ها

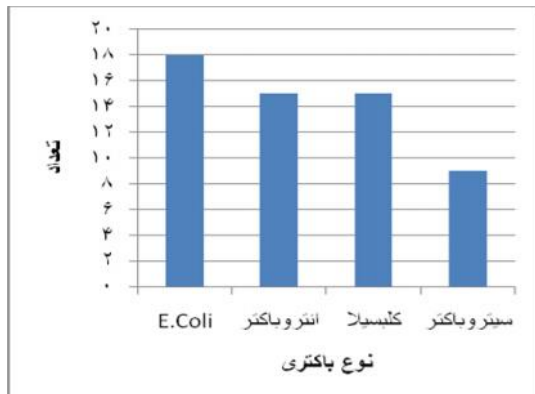
به باکتری E.Coli به عنوان مهم‌ترین شاخص آلودگی

مدفوعی آب بودند و در مواردی سایر انتروباکتریاسه‌ها

مانند سیتروباکتر و کلبسیلا در ۱۵ (۸۳/۲٪) و انتروباکتر

هم در ۹ (۵۰٪) موارد اشریشیاکلی را همراهی می‌کردند.

منحنی ۱. تعداد انواع انتروباکتریاسه‌ها در ۱۸ نمونه مثبت



هر چند تعداد کلنی‌ها از ۷-۱ در هر پلیت متغیر بودند

ولی به طور میانگین ۲/۵ کلنی در هر پلیت تشکیل شد.

جدول ۱. فاصله متغیرهای فاصله‌ای بر حسب متر تا ۱۶۰ مورد آب آشامیدنی

| ردیف                    | فاصله بر حسب متر | ۰-۱۰ | ۱۱-۲۰ | ۲۱-۳۰ | ۳۱-۴۰ | ۴۱ >  | جمع کل |
|-------------------------|------------------|------|-------|-------|-------|-------|--------|
| نوع، تعداد و درصد متغیر |                  |      |       |       |       |       |        |
| ۱                       | چاه جذبی فاضلاب  | ۱۴   | ۴۸    | ۴۸    | ۳۱    | ۱۹    | ۱۶۰    |
|                         | درصد             | ۸/۷۵ | ۳۰    | ۳۰    | ۱۹/۳۷ | ۱۱/۸۸ | ۱۰۰    |
| ۲                       | تا لانه پرندگان  | ۸    | ۳۵    | ۸۷    | ۱۱    | -     | ۱۴۱    |
|                         | درصد             | ۵/۶۷ | ۲۴/۸  | ۶۱/۸  | ۷/۸   | -     | ۱۰۰    |
| ۳                       | تا طولیله دام‌ها | ۷    | ۱۴    | ۱۹    | -     | -     | ۴۰     |
|                         | درصد             | ۱۷/۵ | ۳۵    | ۴۷/۵  | -     | -     | ۱۰۰    |

رابطه چاه‌های آلوده به انتروباکتریاسه‌ها با چاه‌های جذبی فاضلاب‌ها به فاصله ۰-۱۰ متر کاملاً معنی داری بود  $P=0/0$  ولی تا لانه پرندگان  $P=0/۷۲$  و طولیله دام‌ها  $P=0/۰۶$  معنی دار نبود هر چند ممکن است نسبت به فاصله تا طولیله دام‌ها بی‌ربط هم نباشد.

جدول ۲. تعداد و درصد انواع درب چاه‌های آب آشامیدنی

| نوع درب      | بتنی | فلزی | معیوب | جمع |
|--------------|------|------|-------|-----|
| تعداد و درصد |      |      |       |     |
| تعداد        | ۱۳۰  | ۲۱   | ۹     | ۱۶۰ |
| درصد         | ۸۱/۵ | ۱۳/۲ | ۵/۶   | ۱۰۰ |

در این مطالعه هر چند درب‌های معیوب (شکسته، شکاف دار و خلل و فرج دار) در حداقل ممکن بودند ولی با چاه‌های آب آلوده به انتروباکتریاسه رابطه معنی داری داشتند  $P=0/۰۵$ .

جدول ۳. تعداد کلنی‌های باکتریایی در هر نمونه مثبت

| شماره نمونه                                                    | تعداد | شماره نمونه | تعداد | شماره نمونه | تعداد | شماره نمونه | تعداد |
|----------------------------------------------------------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|
| ۴                                                              | ۳     | ۳۲          | ۱     | ۷۰          | ۱     | ۱۲۶         | ۱     |
| ۱۱                                                             | ۳     | ۳۷          | ۱     | ۷۵          | ۲     | ۱۴۰         | ۴     |
| ۲۰                                                             | ۲     | ۴۹          | ۲     | ۸۶          | ۴     | ۱۵۳         | ۷     |
| ۲۹                                                             | ۴     | ۵۳          | ۲     | ۹۷          | ۲     |             |       |
| ۳۱                                                             | ۲     | ۶۳          | ۲     | ۱۰۵         | ۲     |             |       |
| جمع تعداد کلنی‌ها در ۱۸ نمونه مثبت و میانگین تعداد ۲/۵ ml و ۴۵ |       |             |       |             |       |             |       |

هر چند تعداد کلنی‌ها از ۷-۱ در هر پلیت متغیر بودند ولی به طور میانگین ۲/۵ کلنی در هر پلیت تشکیل شد.

## بحث و نتیجه گیری

شهرستان رومشکان با ۸۵۳ کیلومتر مربع و جمعیتی بالغ بر ۳۸۷۰۰ نفر در منطقه گرم و خشک جنوب غربی و هم مرز با استان ایلام قرار گرفته است. حدود یک سوم جمعیت این شهرستان از آب چاه‌های خانگی که عمق آن‌ها به علت خشکسالی‌های متوالی اخیر از ۱۴-۱۲ به ۳۵-۳۰ رسیده و تمام ساکنان منطقه نیز به علت عدم وجود سیستم دفع از چاه‌های جذبی فاضلاب به عمق متوسط ۸ متر استفاده می‌کنند.

در این مطالعه نشان داده شد که ۱۱/۲۵٪ از آب آشامیدنی چاه‌های خانگی شهرستان رومشکان به باکتری‌های انتروباکتریاسه آلوده بوده‌اند که با استانداردهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) که میزان آلودگی آب‌های آشامیدنی به انتروباکتریاسه‌ها صفر درصد اعلام نموده (۱) فاصله زیادی دارد هر چند با توجه به عدم نظارت و عدم حمایت سازمان‌های مسئول دور از انتظار نیست.

همان‌طور که از اسمشان پیداست انتروباکتریاسه‌ها گروهی از باکتری‌ها هستند که در دستگاه گوارش انسان و سایر حیوانات خونگرم زندگی می‌کنند و جزء فلور طبیعی آن ناحیه محسوب می‌شوند (۱۴) پس وجود آن‌ها در آب‌های آشامیدنی نشان از نفوذ آن‌ها از طریق فاضلاب‌ها یا راه‌های دیگر می‌باشد که اولاً همراهی E.Coli به عنوان مهم‌ترین شاخص آلودگی آب آشامیدنی با سایر انتروباکتریاسه‌ها مانند انتروباکتر، سیتروباکتر و کلبسیلا مؤید این ادعاست که علت یابی آن ضروری به نظر می‌رسد زیرا ممکن است سایر باکتری‌های پاتوژن هم همراهی کنند (۹،۱۲) ثانیاً اطلاعات حاصل از طریق پرسش نامه‌ها، نتایج آزمایشات تشخیصی و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳

نشان داده که رابطه آلودگی چاه‌های آب به انتروباکتریاسه‌ها با چاه‌های فاضلاب به فاصله ده متری کاملاً معنی دار بود  $P=0/0$ ، هر چند با توجه به رسی بودن جنس خاک بعید به نظر می‌رسد ولی همچنان که مطالعات دیگر نشان داده‌اند شدنی است (۱۵) که ممکن است ناشی از شیب حاصل از عمق چاه‌های آب با چاه‌های فاضلاب و یا اشباع شدن دیواره حد واسط باشد. ثالثاً معنی دار بودن آلودگی با معیوب بودن درب چاه‌ها  $P=0/05$  ممکن است ناشی از خلل و فرج و روزنه‌ها باشد که از محیط بدانجا رسیده هر چند فاصله تا لانه پرندگان کاملاً معنی دار نبود  $P=0/72$  که ممکن است ناشی از عدم وجود این باکتری‌ها در دستگاه گوارش آن‌ها باشد ولی بی‌ارتباط هم با طولیه دام‌ها  $P=0/06$  نبوده که ممکن است ناشی از ورود مدفوع دام‌ها از طریق خاک، باد و ... صورت گرفته باشد.

پیشنهاد می‌شود که اولاً در صورت امکان آب شرب تمام مناطق شهرستان از طریق لوله کشی تأمین گردد تا نظارت و کنترل واحدی بر همه آن‌ها حاکم شود ثانیاً در شرایط موجود از هر راه ممکن حتی با استفاده از کوزه‌های گلی، کلر زنی شوند ثالثاً مسئولین محترم نسبت به پیشگیری از بیماری‌های منتقله توسط آب بی‌تفاوت نباشند زیرا سهل انگاری در آن ممکن است منجر به ضرر و زیان‌های مالی و یا اپیدمی بیماری‌های گردد که انعکاس جهانی پیدا کند.

## تشکر و قدردانی

در نهایت از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی که اجازه استفاده از امکانات آن مرکز را صادر فرمودند و آقای دکتر طاهری کلانی و خانم آزادپور که همکاری‌های لازم در جهت راهنمایی محقق به عمل آوردند کمال تشکر به عمل می‌آید.

## References

1. WHO.Guidelines for drinking water Quality.Recommendations.geneva,world health organization 2004.
2. Alley ER.«water anality control» mc graw hill.new york 2000 and 2007.
3. Aydin A.The microbiological and physic-chemical parameters with trace metal pollution of coastal bathing water in dardanelles and thracion sea.GAVA 2010;6:1077-1082.
4. Keainegad m.A , Ibrahim S.Enviromental Engineering.Sahand university publication VOL 1:1998
5. Wisner B,Adams J.Enviromental Health in emergencies and Disasters Int.j.Fed 2002;31:1016-1019.
6. Kindhouser M.K, Global defence against the infectious disease threat, communicable diseases.world Health organization, Geneva 2002.
7. Payment P.Prevalence of disease,levels and sources. In: Sartety of water disinfection.balaning chemical and microbial risks.International life science institute, Washington DC 1993.
8. Yan T,Sadowsky M.J.Determining sources of fecal bacteria in water ways.Environmental monitoring and Assessment 2007;129:97-106.
9. Neal Guentzel M.Escherchia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter and proteus. Medical microbiology 4th edition, chapter26.
10. Rompre A,Servais P,Baudart J, De-Roubin Mr,Laurent P.Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. J microbial method 2003;49(1):31-54.
11. Szewzyk U,Szewzyk R,Manz W and Schleifer KH.Microbiological safety of drinking water.Annual Review of microbiology 2000;54:81-127.
12. Yaghob zadeh Z, Safari R.Eveluation of bacterial contamination of surface waters of haraz River. Cellular-molecular searches J , Biol J iran 2015;28(1):136-144.
13. ISO.Detection and enumeration of coliform, organism, thermotolerant coliform organisms and presumptive Escherichia coli.1990.Part I: membrane filtration method 1990;9308-10.
14. James B.Kapper, James P.Nataro,Harry L.T, mobley. Nature Reviews microbiology 2004;2:123-140.
15. Sradati moghadam E. Mashhad model groundwater Guality. master s thesis tusi university 1383.