Journal of Health

Vol. 7, No. 4, Autumn 2016, Pages 395-403

Removal of Human Rotaviruses Type A from Concentrated Sewage of Ghods and Mahallati Wastewater Treatment Systems in Tehran

Kargar M[1], Razeghi Z[2], Najafi A[3]

1. Associate Professor, Department of Microbiology, Jahrom branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.
2. MSc., Department of Microbiology, Research and Sciences branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. PhD Student, Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

**** Corresponding author.*** Tel: +989173149203 Fax: +987154372010 E-mail: mkargar@jia.ac.ir

Received: Mar 3, 2015 Accepted: Sep 29, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: The group A human Rotaviruses are the most important agents causing acute diarrhea in children worldwide. Rotaviruses are widely present in the environmental waters and are a serious risk for public health. This study was aimed to assess efficiency of group A human Rotaviruses removal from the concentrated sewage of Ghods and Mahallati wastewater treatment systems in Tehran using ELIZA method.

Methods: This cross-sectional study was carried out on 92 sewages samples collected from both influent and effluent system of Ghods and Mahallati sewage disposal systems by using grab sampling method. All samples were concentrated by using three concentration methods: Pellet, Two-phase and Dex-PEG. Then Group A human Rotaviruses were identified with Enzyme Immunoassay (EIA) method.

Results: In total, rotaviruses were identified in 30 samples (32.61%). Rotaviruses were found in 35.48 and 26.67% of influent and effluent samples, respectively. The efficiencies of wastewater plants were 69.23 and 55.55% in Ghodas and Mahallati refining systems, respectively.

Conclusion: This study showed that the evaluated sewage disposal systems don't have necessary efficiency to completely elimination Group A human Rotaviruses. Therefore, it is necessary to monitor constantly the wastewater treatment plant to revise water pollution indicators and to seek new methods of wastewater treatment methods for complete removing of human viruses.

Keywords: Human Rotaviruses; Sewage Treatment Plants; Concentration; ELISA.

بررسی میزان حذف روتاویروس‌های انسانی گروه A در سیستم‌های تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی شهر تهران

محمد کارگر[1]، زینب رازقی[2]، اکرم نجفی[3]*

۱. دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی ۲. کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه میکروبیولوژی ۳. دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات زیست فن آوری دریایی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۷۳۱۴۹۲۰۳ فکس: ۰۷۱۵۴۳۷۲۰۱۰ ایمیل: mkargar@jia.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: روتاویروس‌های گروه A مهمترین عامل اسهال حاد در کودکان سرتاسر جهان هستند. روتاویروس‌ها به‌طور گسترده‌ای در آب‌های محیطی پراکنده‌اند و تهدیدی جدی برای سلامت عمومی به شمار می‌روند. این مطالعه با هدف ارزیابی کفایت حذف روتاویروس انسانی گروه A در پساب‌های تغلیظ شده سیستم‌های تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی شهر تهران با روش الایزا انجام شد.

روش کار: این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۹۲ نمونه فاضلاب جمع آوری شده از ورودی و خروجی دو سیستم تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی شهر تهران در دوره‌های منظم (Grab Sampling) انجام شد. تمامی نمونه‌ها با سه روش رسوبی، دکستران- پلی اتیلن گلیکول و دو فاز تغلیظ شدند. سپس روتاویروس‌های گروه A با روش ایمونواسی آنزیمی (EIA) شناسایی گردیدند.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد پژوهش در ۳۰ نمونه (۳۲/۶۱٪) روتاویروس‌های گروه A شناسایی شدند. میزان شناسایی روتاویروس‌ها در سیستم ورودی و خروجی فاضلاب به ترتیب ۳۵/۴۸ و۲۶/۶۷ درصد بود. راندمان میزان تصفیه فاضلاب در سامانه تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی به ترتیب ۶۹/۲۳ و ۵۵/۵۵ درصد بود.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که سیستم تصفیه فاضلاب مورد بررسی کفایت لازم در حذف کامل روتاویروس‌های انسانی گروه A را ندارد، از این رو ضرورت پایش مداوم و دقیق تر سامانه‌های تصفیه فاضلاب و بازنگری در مورد شاخص‌های آلودگی آب و روش‌های نوین تصفیه فاضلاب به منظور حذف کامل ویروس‌های انسانی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: روتاویروس‌های انسانی، سیستم تصفیه فاضلاب، تغلیظ، الایزا

دریافت: ۹۳/۱۲/۱۲ **پذیرش:** ۹۴/۷/۷

مقدمه

روتاویروس‌ها در حال حاضر شایع‌ترین عامل گاستروانتریت شدید در نوزادان و کودکان کم سن و سال می‌باشند. میزان شیوع عفونت‌های روتاویروس در ده سال اخیر نسبت به دو دهه گذشته افزایش یافته است. سالانه در حدود ۱۱۱ میلیون گاستروانتریت ناشی از روتاویروس گزارش می‌شود که موجب ۲۵ میلیون مراجعه به پزشک، ۲ میلیون مورد بستری در بیمارستان و تعداد زیادی مرگ و میر می‌شود. نتایج پایش بیمارستانی روتاویروس در چهل و پنج کشور در سال ۲۰۰۹ نشان داد که ۳۶ درصد از موارد بستری ناشی از اسهال در کودکان زیر ۵ سال، مربوط به آلودگی با روتاویروس هستند (۱). بر اساس صفات ژنتیکی و آنتی‌ژنتیکی روتاویروس‌ها به ۷ گروه A تا G طبقه‌بندی شده‌اند. از این میان، گروه A روتاویروس

علت بیش از ۹۰ درصد گاستروانتریت شدید نوزادان و خردسالان سراسر جهان محسوب می‌شود (۲). تخمین زده می‌شود که ۱/۱ میلیارد نفر از مردم دنیا به منابع سالم آب و ٤/۲ میلیارد نفر نیز به سیستم تصفیه فاضلاب مناسب دسترسی ندارند. این امر باعث شده است که سالیانه ۱۳ میلیون نفر در اثر عفونت‌های ناشی از آب جان خود را از دست دهند. بیشتر این مرگ و میرها در کشورهای در حال توسعه و در کودکان رخ می‌دهد. تصفیه آب‌های زائد می‌تواند تعداد عوامل بیماریزا را برای بازگشت مجدد به محیط کاهش دهد. با این وجود در بسیاری از نقاط دنیا مشکل مصرف آب‌های آلوده به روتاویروس‌های انسانی وجود دارد (۵-۳)، به طوری که روتاویروس‌ها در آب‌های زائد، فاضلاب تیمارشده، رسوبات فاضلاب، آب‌های سطحی، آب‌های زیرزمینی و همچنین در آب‌های آشامیدنی تشخیص داده شده‌اند (۱۰-۶). مطالعات گسترده بر روی شیوع روتاویروس‌های گروه A در آب‌های تصفیه شده و نیز فاضلاب در ایران و سایر نقاط دنیا نشان‌دهنده حضور ۱۱ تا ۶۰ درصدی این ویروس است (۸، ۹، ۱۵-۱۱). امروزه به منظور شناسایی اولیه روتاویروس‌های گروه‌های A از تکنیک الایزا و کیت‌های تجاری مختلف استفاده می‌گردد (۱۶).

پایش محیطی روتاویروس، مستلزم تغلیظ نمونه‌های آب یا پساب است. به این منظور، روش‌های گوناگونی مانند تغلیظ با استفاده از پشم شیشه، اولترافیلتراسیون، هیدرواکستراکشن، اولتراسانتریفوژ، تغلیظ دو فازی و تغلیظ رسوبی طراحی شده است (۱۷). تکثیر ویروس‌های روده‌ای تنها درون سلول‌های زنده مستعد انجام می‌شود، اما با رقیق‌شدن فاضلاب تعدادشان کاهش چشمگیری می‌یابد؛ اما مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که عفونت می‌تواند با تعداد بسیار کم ویروس نیز ایجاد گردد. با توجه به انتقال فرد به فرد روتاویروس از آب آلوده، امکان شیوع گسترده بیماری در جامعه وجود دارد. همچنین با توجه به ساختار قطعه قطعه ژنوم روتاویروس‌ها، احتمال بازآرایی ژنتیکی ژنوم و ایجاد سویه‌های جدید و خطرناک بسیار زیاد است. با دلیل اهمیت تشخیص روتاویروس‌ها به ویژه در مواردی مانند استفاده مجدد از پساب و احتمال بروز بیماری‌ها، پایش پیوسته ویروس‌های روده‌ای از جمله روتاویروس الزامی است (۱۸).

محققین این پژوهش، در مطالعات قبلی پایش بیمارستانی روتاویروس‌های انسانی را در شهرهای تهران، جهرم، مرودشت، شیراز، برازجان و یاسوج انجام داده (۲۳-۱۹)، همچنین برای اولین بار در ایران روتاویروس‌های انسانی را در فاضلاب‌ها و آب‌های سطحی شهر شیراز و یاسوج نیز پایش نمودند (۱۲)؛ اما به دلیل عدم وجود و یا محدودبودن سیستم‌های تصفیه فاضلاب در شهرهای یادشده و به منظور تعمیم نتایج و قضاوت در مورد کارایی سیستم‌های تصفیه پساب ضرورت پایش روتاویروس‌ها در جمعیت گسترده‌تر و کلان شهرهایی مانند تهران وجود داشت. از این رو پژوهش حاضر با هدف ارزیابی کفایت حذف روتاویروس انسانی گروه A در پساب‌های تغلیظ شده سیستم‌های تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی شهر تهران با روش الایزا انجام شد.

روش کار

نمونه‌گیری

این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۹۲ نمونه فاضلاب جمع‌آوری شده از ورودی (۶۲ نمونه) و خروجی (۳۰ نمونه) دو سیستم تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی شهر تهران با روش Grab Sampling انجام شد. نمونه‌گیری در دوره منظم یک ساله (تیرماه ۱۳۹۲ تا خرداد ماه ۱۳۹۳) مطابق با دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی در ابتدا و انتهای هر فصل انجام گرفت. در تمامی موارد یک لیتر از هر نمونه در ظروف پلاستیکی درپوش‌دار

استریل جمع‌آوری و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه میکروب شناسی مجتمع آزمایشگاهی ابن‌سینا در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل گردیدند. اطلاعات مربوط به هر نمونه شامل محل نمونه‌گیری، ماه، فصل، نوع نمونه (ورودی و خروجی)، حرارت و pH نمونه در پرسشنامه تنظیمی ثبت گردید (۱۸).

در تصفیه‌خانه محلاتی از روش لجن فعال- هوادهی گسترده عمقی استفاده می‌شود و دفع پساب آن جهت آبیاری فضای سبز شهرک مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تصفیه‌خانه شهر قدس نیز از روش لجن فعال- هوادهی گسترده سطحی استفاده می‌گردد و محل دفع پساب آن کانال جمع‌آوری آب‌های سطحی بزرگراه شیخ فضل‌ا... می‌باشد (۲٤).

تغلیظ به روش رسوبی[1]

در این روش ظروف حاوی نمونه‌های فاضلاب به مدت ۳ ساعت به صورت ثابت در دمای ٤ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا مایع رویی و رسوب فاضلاب از یکدیگر جدا و قابل تشخیص گردد. سپس مایع روماند به ظرف دیگر انتقال داده شد و رسوب با دور g ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و به میکروتیوب استریل منتقل گردید. (۱۲).

تغلیظ به روش پلی‌اتیلن گلیکول- دکستران[2]

ابتدا ٤۰۰ میلی لیتر از مایع روماند حاصل از سانتریفیوژ مرحله اول به یک ارلن ۱۰۰۰ میلی لیتری استریل انتقال داده شد. میزان ۱۳۳/۶ گرم بر لیتر پلی‌اتیلن گلیکول ۳۰٪ (شرکت مرک، آلمان)، ۲۰ گرم بر لیتر دکستران ۲۰٪ (شرکت سیگما) و ۱۶ میلی‌لیتر NaCl ۵ مولار (شرکت مرک، آلمان) به آن اضافه گردید. سپس ارلن حاوی ترکیبات یاد شده به مدت ۱ ساعت بر روی شیکر مغناطیسی قرار داده شد. محتویات ارلن به داخل یک قیف جدا کننده ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و به مدت یک شب[3] در دمای ٤ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شدند. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، رسوب انتهایی خارج و لایه تشکیل شده بین دو فاز[4] جمع‌آوری گردید.

تغلیظ به روش دوفازی[5]

در این روش، از نمونه تیمار شده و تغلیظ شده به روش Pellet و روش استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول و دکستران به نسبت ۱ به ۱ مخلوط گردید. نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سیلیسیوس نگهداری شدند (۲۵).

در هر سه روش تغلیظ مورد بررسی مایع تیمارشده روماند به صورت جداگانه به میکروتیوب‌های استریل منتقل و در دمای ۲۰- درجه سلیسوس نگهداری شدند. در مرحله آخر به منظور از بین بردن باکتری‌ها و قارچ‌ها به هر ٤ میلی لیتر از نمونه‌های تغلیظ شده، یک میلی لیتر کلروفرم خالص (شرکت مرک، آلمان) اضافه و سپس در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید.

شناسایی روتاویروس‌های گروه‌های A با روش الایزا

به منظور سنجش آنتی ژن گروه A روتاویروس در نمونه‌ها از تکنیک الایزا (کیت Generic Assays ساخت کشور آلمان) با میزان حساسیت ۹٤/٤٪ و ویژگی ۹۹/۲٪ استفاده گردید. طراحی کیت به گونه‌ای است که کف چاهک‌های میکروپلیت موجود در آن با آنتی بادی پلی کلونال ضد پروتئین VP6 گروه A روتاویروس پوشیده شده است. نمونه‌های تغلیظ شده هم زمان با آنتی بادی کانژوگه شده با آنزیم هورس ردیش پراکسیداز (HRP) به چاهک‌ها اضافه شد. پس از یک ساعت سوبسترای آنزیم اضافه گردید. در صورت تغییر رنگ به آبی تست مثبت ارزیابی می‌شود. در نهایت واکنش با افزودن محلول متوقف‌کننده و تغییر رنگ از آبی به زرد متوقف

[1] Pellet
[2] Dex-PEG
[3] Overnight
[4] Inter Phase
[5] Two Phase

گردید. غلظت رنگ تولید شده در طول موج ٤٥٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. نمونه‌ای مثبت ارزیابی می‌گردید که OD آن بیشتر از میزان Cut-Off (میانگین کنترل منفی + ۰/۲) باشد (۲).

تحلیل آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از SPSS-18 و آزمون‌های مربع کای و دقیق فیشر آنالیز گردید. مرز معنی‌دار بر روی $p<۰/۰۵$ قرار داده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه از مجموع نمونه‌های مورد بررسی در ۳۰ نمونه (٪۳۲/۶۱) روتاویرس انسانی گروه A شناسایی گردید. نتایج نشان داد که فراوانی روتاویروس‌ها در قسمت‌های ورودی تصفیه فاضلاب (٪۳۵/٤۸)، بیشتر از سیستم‌های خروجی (٪۲۶/۶۷) بود. نتایج نشان داد که بین سیستم‌های ورودی و خروجی تصفیه فاضلاب و شناسایی روتاویروس‌ها ارتباط معناداری وجود ندارد (p=۰/٤۸۸) (جدول ۱). در این بررسی، ۲۷/۶۶ درصد نمونه‌های تصفیه‌خانه محلاتی و ۳۷/۷۸ درصد نمونه‌های تصفیه‌خانه قدس به روتاویرس‌های انسانی آلودگی داشتند. با آزمون مربع کای مشخص گردید که بین این دو تصفیه‌خانه اختلاف آماری معناداری وجود ندارد (p=۰/۳۹٤۸) (جدول ۱).

بیشترین میزان جداسازی روتاویروس‌ها مربوط به فصل پائیز (٪۵۰) و کمترین آن با فراوانی ۱۳/۳۳ درصد مربوط به فصول بهار و تابستان بود. (p=۰/۰۰٤) (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی فصلی روتاویروس‌های انسانی بر اساس نوع پساب و نوع تصفیه‌خانه

فصل	نوع پساب		نام تصفیه‌خانه		جمع کل
	ورودی	خروجی	محلاتی	قدس	
بهار	۳ (٪۲۱/٤۳)	۱ (٪۱٤/۲۹)	۲ (٪۱۸/۱۸)	۲ (٪۲۰/۰۰)	٤ (٪۱۳/۳۳)
تابستان	٤ (٪۲۶/۶۷)	-	۲ (٪۱۸/۱۸)	۲ (٪۱۸/۱۸)	٤ (٪۱۳/۳۳)
پاییز	۹ (٪۶۰/۰۰)	۶ (٪۶۶/۶۷)	۷ (٪۵۸/۳۳)	۸ (٪۶۶/۶۷)	۱۵ (٪۵۰/۰۰)
زمستان	۶ (٪۳۳/۳۳)	۱ (٪۱٤/۲۹)	۲ (٪۱۵/۳۸)	۵ (٪٤۱/۶۷)	۷ (٪۲۳/۳٤)
جمع	۲۲ (٪۳۵/٤۸)	۸ (٪۲۶/۶۷)	۱۳ (٪۲۷/۶۶)	۱۷ (٪۳۷/۷۸)	۳۰ (٪۳۲/۶۱)
	۳۰ (٪۳۲/۶۱)		۳۰ (٪۳۲/۶۱)		

کارایی سیستم تصفیه فاضلاب در حذف روتاویروس با رابطه زیر به دست آمد (۱۱):

۱۰۰ × نمونه‌های مثبت ورودی/ نمونه‌های مثبت خروجی - نمونه‌های مثبت ورودی = کارایی

براساس فرمول یاد شده کارآیی سیستم تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی به ترتیب ۶۹/۲۳ و ۵۵/۵۵ درصد محاسبه گردید. به طور کلی نتایج نشان داد که کارآیی مجموع دو سیستم تصفیه فاضلاب تهران در حذف روتاویروس‌های انسانی ۶۳/۶۳ درصد می‌باشد (جدول ۲).

جدول Error! No text of specified style in document. کارآیی سیستم تصفیه فاضلاب شهر تهران در حذف روتاویروس‌های انسانی

(n= ۹۲)

تصفیه‌خانه	ورودی	خروجی	کارایی (٪)
محلاتی	۹*/۳۰(۳۰/۰۰٪)	٤*/۱۶ (۲۵/۰۰٪)	۵۵/۵۵
قدس	۱۳*/۳۱(٤۱/۹۳٪)	٤*/۱۵ (۲۶/۶۶٪)	۶۹/۲۳
جمع کل	۲۲*/۶۱(۳۶/۰۶٪)	۸*/۳۱ (۲۵/۸۰٪)	۶۳/۶۳

*) نمونه‌های مثبت ورودی- نمونه‌های مثبت خروجی

از مجموع ۳۰ نمونه مثبت، ۱۳ نمونه به روش DEX-PEG، ۸ نمونه به روش رسوبی و ۹ نمونه به روش دوفاز، تغلیظ شده بودند. از سوی دیگر، ٤٠/٩١ درصد نمونه‌های تغلیظ شده به روش دوفاز، ٣٧/١٤ درصد نمونه‌های تغلیظ شده به روش DEX-PEG و ٢٢/٨٦ درصد نمونه‌های تغلیظ شده به روش رسوبی مثبت بودند. با آزمون مربع کای مشخص گردید که اختلاف معنی‌داری بین سه روش تغلیظ مورد بررسی وجود ندارد (p=٠/٤٢٧٠).

بحث

روتاویروس‌های انسانی عامل بالاترین عفونت زایی در میان ویروس‌های قابل انتقال از راه آب (آب زاد) و بیشترین تلفات (مرگ و میر) شناخته شده حاصل از گاستروانتریت‌های روده‌ای هستند (۲۶). در همین راستا سازمان بهداشت جهانی گزارش سالیانه پایش محیطی روتاویروس را منتشر می‌نماید (۱۸)، اما تاکنون هیچ‌گونه مطالعه برنامه‌ریزی‌شده منطبق بر دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی در مورد پایش روتاویروس‌های انسانی در آب و فاضلاب شهر تهران انجام نشده است. از این رو در مطالعه حاضر کفایت حذف روتاویروس انسانی گروه A در پساب‌های تغلیظ شده سیستم‌های تصفیه فاضلاب قدس و محلاتی شهر تهران با روش الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که از مجموع نمونه‌های مورد بررسی در ۳۰ نمونه (٣٢/٦١٪) آلودگی به روتاویرس انسانی گروه A وجود داشت. این یافته با نتایج به دست آمده در ایران و سایر نقاط دنیا مبنی بر شیوع ۱۱ تا ٤٢ درصدی روتاویروس در نمونه‌های پساب همخوانی داشت (۲۸،۸،۹،۱۲،۲۷). حضور روتاویروس‌ها در فاضلاب نشان‌دهنده قابل انتقال بودن این ویروس‌ها از طریق آب می‌باشد. به منظور برآورد خطر سلامتی نسبت داده شده به روتاویروس‌ها در آب‌های آلوده شده با فاضلاب روش‌های حساس و مطمئنی مورد نیاز است. تاکید بر استفاده از دستوالعمل‌های سازمان بهداشت جهانی در استفاده از موثرترین تیمار فاضلاب اهمیت ویژه‌ای دارد که دلیل اصلی آن حجم بالای روتاویروس‌ها در فاضلاب می‌باشد که توانایی انتقال از طریق آب را دارد (۳۰،۲۹). در پایش محیطی روتایروس‌های انسانی در فاضلاب، نمونه‌گیری مکرر از نقاط به خصوصی از سیستم‌ها صورت می‌گیرد تا بدین وسیله عملکرد سیستم سنجیده شود، از این رو در این مطالعه پایش هر دو منطقه خاص ورودی و خروجی دو سیستم فاضلاب بزرگ شهر تهران به منظور مقایسه تفاوت بار آلودگی روتاویروسی مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که روتاویروس‌ها در ٣٥/٤٨ درصد از نمونه‌های ورودی و ٢٦/٦٧ درصد از کل نمونه‌های خروجی حضور داشته‌اند. جداسازی روتاویروس از نمونه‌های خروجی فاضلاب می‌تواند نشان‌دهنده مقاومت این ویروس روده‌ای در برابر سیستم‌های کنونی تصفیه فاضلاب باشد. این امر می‌تواند هشداری برای سازمان‌های کنترل کیفیت آب و فاضلاب جهت تکمیل و یا حتی تغییر مسیر سیستم‌های تصفیه فاضلاب باشد (۱۸).

در این پژوهش، از سه روش تغلیظ Pellet، Dextran-PEG و Two-phase به منظور جداسازی روتاویروس‌های گروه A استفاده شد. دلیل استفاده از این سه روش تغلیظ ارزیابی کفایت شان برای جداسازی روتاویروس‌های انسانی در نمونه‌های فاضلابی بود (۱۲). هووی[1] و همکاران در سال ۲۰۰۰ برای اولین بار روش تغلیظ Two-Phase را پیشنهاد نمودند. با این روش امکان تغلیظ نمونه‌های آب و فاضلاب به میزان ۵۰ تا ۱۰۰ برابر وجود دارد (۲۵). در این روش از مواد بسیار گران قیمت دکستران ۲۰٪ جهت افزایش بازجذب و تجمع روتاویروس‌ها استفاده می‌شود. اما در روش Pellet پیشنهاد شده توسط کارگر و همکاران، نیاز به استفاده از مواد

[1] Hovi

گران قیمت دکستران و پلی‌اتیلن گلیکول وجود ندارد (۱۲). به همین دلیل در پژوهش حاضر به منظور افزایش میزان جداسازی روتاویروس‌ها به صورت هم‌زمان از هر سه روش یادشده استفاده گردید و سپس با روش الایزا اقدام به شناسایی روتاویروس‌ها شد. با توجه نبود تفاوت معنی‌دار سه روش یاد شده پژوهش حاضر نشان داد که می‌توان از روش کم‌هزینه Pellet به منظور تغلیظ فاضلاب استفاده نمود، اما به دلیل امکان نتایج متفاوت و افزایش دقت روش‌های تغلیظ، پیشنهاد می‌گردد که حداقل از دو روش به منظور تغلیظ آب‌های سطحی و پساب‌ها استفاده گردد.

در سال‌های اخیر از روش‌های جدیدتری برای ارزیابی حذف روتاویروس از سیستم‌های تصفیه فاضلاب استفاده شده است، به طوری که برخی از این روش‌ها قادر به حذف کامل روتاویروس از سیسیتم بوده‌اند. برای مثال همایید[1] و همکاران با استفاده از تکنولوژی بیوراکتور غشایی توانستند روتاویروس را به طور کامل از سیستم تصفیه فاضلاب در تونس حذف نمایند (۳۱). بیماری‌های اسهالی در تمام طول سال مشاهده می‌شوند. اما بیماری‌های اسهالی روتاویروسی در فصل‌های پائیز تا اوایل بهار رخ می‌دهد. این امر می‌تواند به دلیل تغییرات دمای زیاد هوا در این دو فصل و واکنش بدن در مقابل این تغییرات ناگهانی و کاهش مقاومت سیستم ایمنی بدن باشد (۱۹) .

در مطالعه حاضر بیشترین میزان جداسازی روتاویروس‌ها مربوط به فصل پائیز (٪٤٦/٦٧) و کمترین آن مربوط به فصول بهار و تابستان بود. مطالعات قبلی انجام شده در ایران و سایر مناطق دنیا نیز نشان‌دهنده شیوع بیشتر روتاویروس‌های جداشده از آب‌ها و پساب‌های محیطی در طول فصول سرد سال می‌باشند (۳۳،۱۲،۲۷،۳۲). با توجه به نتایج به دست آمده در پژوهش‌های قبلی محققین و مقایسه آن‌ها با کشورهای اروپایی همسایه می‌توان این گونه بیان نمود که حضور این ویروس در کشورهای اروپایی نسبتاً از یک توزیع فصلی مشخص پیروی می‌کند، هرچند در برخی موارد محدود، حضور این ویروس در بقیه ماه‌های سال نیز مشاهده شده است، اما در مقایسه با نتایج اغلب پژوهش‌ها میزان آن بسیار ناچیز است (٣٤).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده عدم کارایی مناسب سیستم‌های تصفیه فاضلاب شهر تهران در حذف تمامی روتاویروس‌های انسانی بود. این مساله را می‌توان به قدیمی بودن روش‌های سیستم تصفیه فاضلاب در ایران نسبت داد. پایش محیطی روتاویروس، نتایج ارزشمندی را در مورد چرخش انتروویروس در اختیار قرار می‌دهد و با استناد به این نتایج، می‌توان میزان چرخش اپیدمیک روتاویروس و دیگر ویروس‌های روده‌ای را در یک جمعیت خاص بررسی نمود. پایش روتاویروس انسانی در فاضلاب گام موثری در ارزیابی چگونگی بقا، ماندگاری و نیز طراحی واکسن و در نتیجه ریشه‌کنی این ویروس می‌باشد. بنابراین ضرورت پایش مداوم محیطی روتاویروس‌ها و مقایسه آن با سایر شاخص‌های آلودگی‌های میکروبی مانند کلی فرم‌ها و فاژها وجود دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به دلیل حمایت‌های مالی و اجرایی کمال امتنان را دارند. شماره تصویب طرح ٩٣٥٤٢١ می‌باشد.

[1] Hmaied

References

1-World Health Organization, Department of Immunization, Vaccines and Biological: Manual of rotavirus detection and characterization methods, http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/ WHO_IVB_08.17_eng.pdf. World Health Organization: http://www.who.int/vaccine_research/ disease/rotavirus/en

2-Kargar M, Najafi A, Zandi K, Barazesh A. Frequency and demographic study of Rotavirus acute gastroenteritis in hospitalized children of Borazjan city during 2008-2009. Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences. 2011; 19(1): 94-103. [In Persian]

3-Shaban AB, Malkawi HI. Rapid detection of human enteric pathogens (viruses and bacteria) in water resources from Jordan using Polymerase Chain Reaction (PCR). Journal of Applied Sciences Research 2007; 3(10): 1084-93.

4-Loisy F, Atmar RL, Cohen J, Bosch A, Le Guyader FS. Rotavirus VLP2/6: a new tool for tracking Rotavirus in the marine environment. Research in Microbiology. 2004; 155(7): 575-8.

5-Schlindwein A, Simoes C, Barardi C. Comparative study of two extraction method for virus recovery from sewage sludge by molecular methods. Memorias Institute Oswaldo Cruz 2009; 104(4): 576-9.

6-Kokkinos PA, Ziros PG, Mpalasopoulou A, Galanis A, Vantarakis A. Molecular detection of multiple viral targets in untreated urban sewage from Greece. Virology Journal. 2011; 8:195.

7-Post GB, Atherholt TB, Cohn PD. Health and aesthetic aspects of drinking water. In Water quality & treatment. 6th edition. Edited by Edzwald JK. Denver, Colorado. American Water Works Association; 2011:1–100.

8-Grassi T, Bagordo F, Idolo A, Lugoli F, Gabutti G, De Donno A. Rotavirus detection in environmental water samples by tangential flow ultrafiltration and RT-nested PCR. Environmental Monitoring Assessment 2010; 164(1–4):199-205.

9-He XQ, Cheng L, Zhang DY, Li W, Xie XM, Ma M, Wang ZJ. First molecular detection of group A rotaviruses in drinking water sources in Beijing China. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2009; 83(1):120-4.

10-Prado T, Silva DM, Guilayn WC, Rose TL, Gaspar AM, Miagostovich MP. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. Water Research. 2011; 45(3):1287-97.

11-van Zyl WB, Page NA, Grabow WO, Steele AD, Taylor MB: Molecular epidemiology of group A rotaviruses in water sources and selected raw vegetables in southern Africa. Applied and Environmental Microbiology. 2006; 72(7):4554-60.

12-Kargar M, Javdani N, Najafi A, Tahamtan Y. First molecular detection of group A rotavirus in urban and hospital sewage systems by Nested-RT PCR in Shiraz, Iran. Journal of Environmental Health Sciences and Engineering. 2013; 11:4

13-Kiulia NM, Netshikweta R, Page NA, van Zyl WB, Kiraithe MM, Nyachieo A, Mwenda JM, Taylor MB. The detection of enteric viruses in selected urban and rural river water and sewage in Kenya, with special reference to rotaviruses. J Applied Microbiology. 2010; 109(3):818-28.

14-Ruggeri FM, Bonomo P, Ianiro G, Battistone A, Delogu R, Germinario C, Chironna M, Triassi M, Campagnuolo R, Cicala A, Giammanco GM, Castiglia P, Serra C, Gaggioli A, Fiore L. Rotavirus genotypes in sewage treatment plants and in children hospitalized with acute diarrhea in Italy in 2010 and 2011. Appl Environ Microbiol 2015; 81:241–9.

15-El-Senousy WM, El-Sayed Ragab AM, El Hamed Handak EMA. Prevalence of Rotaviruses groups A and C in Egyptian children and aquatic environment. Food Environ Virol. 2015; 7:132–41.

16-20. Najafi A, Kargar M, Jafarpour T. Burden and typing of rotavirus group A in children with acute gastroenteritis in Shiraz, Southern Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2012; 14(9): 531-40.

17-Abad F, Pinto R, Bosch A .Flow cytometry detection of infection Rotaviruses in environmental and clinical samples. Applied and Environmental Microbiology. 1998; 64: 2392-6.

18-Javdani N, Kargar M, Ghodsi M. The assessment of efficiency of eliminating group A human Rotaviruses in urban and hospitalized sewage refining system of Shiraz city. Medical Sciences Journal of Islamic Azad University. 2012; 22(3): 226-31. [In Persian]

19-Kargar M, Akbarizadeh AR. Prevalence and molecular genotyping of group A rotaviruses in Iranian children. Indian Journal of Virology. 2012; 23:24-8.
20-Kargar M, Zare M, Najafi A. High prevalence of mixed Rotavirus infections in children hospitalized in Marvdasht Motahary hospital, Iran during 2007–2008. Iranian Journal of Pediatrics. 2012; 22(1):63-9.
21-Kargar M, Najafi A, Zandi K, Hashemizadeh Z. Genotypic distribution of rotavirus strains causing severe gastroenteritis in children under 5 years old in Borazjan Iran. African Journal of Microbiology Research. 2011; 5(19):2936-41.
22-Kargar M, Khodadadi P, Najafi A, Ansari H. Predominance of rotavirus G8 genotype in hospitalized children with acute gastroenteritis in Yasuj, Iran. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2014; 18(5): 699-702.
23-Zaraei-Mahmoodabadi B, Kargar M, Tabatabaei H, Sadeghipour S, Ghaemi H, Nategh R. Detection of annual incidence, age specific incidence rate and risk of Rotavirus gastroenteritis among children in Iran. Iranian Journal of Virology. 2009; 3(1): 39-42.
24-http://tww.tpww.ir/fa/p8/p18/p78
25-Hovi T, Stenvik M, Partanen H, Kangas A. Poliovirus surveillance by examining sewage specimens. Quantitative recovery of virus after introduction into sewerage at remote upstream location. Epidemiology Infection. 2001; 127(1): 101-6.
26-Girones R, Ferrús MA, Alonso JL, Rodriguez-Manzano J, Calgua B, Corrêa Ade A, Hundesa A, Carratala A, Bofill-Mas S. Molecular detection of pathogens in water-the pros and cons of molecular techniques. Water Research. 2010; 44(15):4325-39.
27-Dubois E, Le-Guyader F, Haugarreau L, Kopecka H, Cormier M, Pommepuy M. Molecular epidemiological survey of rotaviruses in sewage by reverse transcriptase seminested PCR and restriction fragment length polymorphism assay. Applied and Environmental Microbiology. 1997; 63(5):1794-800.
28-Petrinca AR, Donia D, Pierangeli A, Gabrieli R, Degener AM, Bonanni E, Diaco L, Cecchini G, Anastasi P, Divizia M: Presence and environmental circulation of enteric viruses in three different wastewater treatment plants. Journal of Applied Microbiology. 2009; 106(5):1608-17.
29-Umesh P, Hummelman E, Bresee J, Miller M, Glass R. Global illness and deaths caused by Rotavirus disease in children. Emerging Infection Diseases. 2003; 9(5):72-9.
30-Kocwa-Haluch R, Zalewska B. Presence of human Rotavirus in sewage and water. Polish Journal of Environmental Studies. 2002; 11(6): 751-5.
31-Hmaied F, Keskes S, Jebri S, Amri I, Yahya M, Loisy-Hamon F, Lebeau B, Hamdi M. Removal of Rotavirus and bacteriophages by Membrane Bioreactor Technology from sewage. Curr Microbiol. 2015; 1-6. DOI 10.1007/s00284-015-0882-y
32-Hejkal TW, Smith EM, Gerba CP. Seasonal occurrence of rotavirus in sewage. Applied and Environmentl Microbiology. 1984; 47(3):588-90.
33-Espinosa AC, Arias CF, Sánchez-Colón S, Mazari-Hiriart M. Comparative study of enteric viruses, coliphages and indicator bacteria for evaluating water quality in a tropical high-altitude system. Environmental Health. 2009, 8:49.
34-Sánchez-Fauquier A, Wilhelmi I, Colomina J, Cubero E, Roman E. Diversity of group A human Rotavirus types circulating over a 4-year period in Madrid, Spain. Applied and Environmental Microbiology. 2004; (42)41:1609-13.