Journal of Health

Vol. 8, No. 3, Summer 2017, Pages 246-255

Prevalence of Enterotoxigenic and Enteropathogenic *E.coli* Isolated from Municipal, Hospital, and Industrial (Dairy and Slaughterhouse) Wastewater Treatment Plants in Kermanshah City

Almasi A[1], Pirsaheb M[2], Shokoohizadeh MJ [3]*, Khamutian R[4], Dargahi A[4], Mohajeri P [5], Shokoohizadeh L[6]

1.Professor of Environmental Health Engineering, Social Development & Health Promotion Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
2.Professor of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3.MSc Student of Environmental Health Engineering, Students Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4.PhD Student of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
5.Associate Professor of Medical Bacteriology, School of Para-medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
6.Assistance Professor of Medical Bacteriology, School of Para-medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Corresponding author. Tel: +989185695491 , Fax: +98831826007, E-mail: javadshokoohi22@gmail.com

Received: Dec 9, 2015 Accepted: Apr 17, 2016

ABSTRACT

Background & aim: The presence, identification, and removal of bacterial pathogens in water and wastewater are the most important health concern. The aim of this study was to identify two important pathotypes of *E. coli* (enterotoxigenic and enteropathogenic) in hospital, dairy, slaughterhouse, and municipal wastewater treatment plants of Kermanshah city.

Methods: In this descriptive study, 64 samples were collected from six wastewater treatment plants under sterile and standard conditions and transferred to the microbiology laboratory. E.coli strains were isolated and ETEC and EPEC patotypes were identified using PCR method.

Results: The differential culture results showed *E. coli* strains in 90.62% of the 64 studied samples. ETEC strains were identified in 42.85, 33.3, 0, 28.6, 0, and 25% of the influent and in 20, 0, 0, 16.6, 0, and 20% of the effluent samples taken from municipal , Imam Reza hospital, Farabi hospital, dairy plant, Mohammad Kermanshahi hospital, and slaughterhouse wastewater treatment plants, respectively.

Conclusion: The results showed the presence of pathogenic Enterotoxigenic *E. coli* in effluent of hospital and municipal wastewater treatment plants and Enteropathogenic E. coli in slaughterhouse effluents. Considering the presence of enterotoxigenic patotype in wastewaters, the importance of removing indicator coliform strains in wastewater treatment plants is highlighted. Therefore, serious measures should be taken to improve efficiency of the systems.

Keywords: Wastewater; *E. coli*; Enterotoxigenic; Enteropathogenic; Kermanshah**.**

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

بررسی فراوانی سویه‌های انتروتوکسیژنیک و انتروپاتوژنیک اشریشیاکلی در فاضلاب شهری، بیمارستانی و صنعتی (لبنی و کشتارگاه) شهر کرمانشاه

علی الماسی[۱]، مقداد پیرصاحب[۲]، محمدجواد شکوهی زاده[۳]*، راضیه خاموطیان[۳و٤]، عبداله درگاهی[٤]، پرویز مهاجری[۵]، لیلی شکوهی زاده[۶]

۱. استاد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، مرکز تحیقات توسعه اجتماعی و ارتقاء سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
۲. استاد مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات عوامل موثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
٤. دانشجوی دکتری تخصصی مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۵. دانشیار باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران
۶. استادیار باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۸۵۶۹۵٤۹۱ فکس: ۰۸۳۱۸۲۶۰۰۷ ایمیل: javadshokoohi22@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: حضور پاتوژن های میکروبی، شناسایی و حذف آنها در آب و فاضلاب از مهمترین معضلات بهداشتی محسوب می شود. هدف از این مطالعه شناسایی دو پاتوتایپ مهم اشریشیاکلی یعنی انتروتوکسیژنیک (ETEC) و انتروپاتوژنیک (EPEC) در تصفیه خانه فاضلاب شهری، بیمارستانی، لبنی و کشتارگاه در شهر کرمانشاه می باشد.

روش کار: این مطالعه از نوع توصیفی مقطعی است. در این مطالعه از ۶ تصفیه خانه فاضلاب تحت شرایط استاندارد و استریل ٦٤ نمونه فاضلاب گرفته شد و به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شد. در آنجا سویه‌های اشریشیاکلی جداسازی شده و پاتوتایپ های ETEC وEPEC توسط روشPCR شناسایی شدند..

یافته ها: بر اساس نتایج کشت افتراقی از ٦٤ نمونه فاضلاب برداشت شده ۹۰/۶۲ درصد از نمونه‌ها دارای سویه اشریشیاکلی بودند. سویه ETEC به ترتیب در ۲۵، ٤۲/۸۵، ۳۳/۳، ۰، ۲۸/۶ و ۰ درصد از نمونه‌های فاضلاب ورودی تصفیه خانه‌های فاضلاب شهری، بیمارستان‌های امام رضا و فارابی، کارخانه لبنیات، بیمارستان محمدکرمانشاهی و کشتارگاه صنعتی همچنین به ترتیب در ۲۰، ۲۰، ۰، ۰، ۱۶/۶ و ۰ درصد از نمونه های پساب خروجی این تصفیه‌خانه‌ها شناسایی گردید.

نتیجه گیری: نتایج نشان از حضور اشریشیاکلی اسهال‌زای انتروتوکسیژنیک در پساب تصفیه خانه‌های فاضلاب شهری و بیمارستانی و همچنین اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک در فاضلاب کشتارگاه دام است. با توجه به حضور سویه انتروتوکسیژنیک در فاضلاب ها اهمیت حذف کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرماپای در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب پر رنگ تر می‌گردد. بنابراین می‌بایستی نسبت به بهبود کارایی این سیستم‌ها اقدامات جدی به عمل آورد.

واژه های کلیدی: فاضلاب، اشریشیاکلی، انتروتوکسیژنیک، انتروپاتوژنیک، شهر کرمانشاه

دریافت: ۹٤/۹/۱۸ **پذیرش:** ۹۵/۱/۲۹

مقدمه

حضور پاتوژن‌های میکروبی، شناسایی و حذف آنها در آب و فاضلاب از مهمترین معضلات بهداشتی محسوب می‌شود. بر اساس گزارش‌های منتشرشده پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب یکی از مهمترین منابع پاتوژن‌ها و آلوده‌کننده‌های آب‌های زیرزمینی و سطحی می‌باشد (۱). بیماری‌های ناشی از آب آلوده مسئول ٤ درصد از کل مرگ و میر و عامل ۵/۷

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

درصد از کل بیماری‌های دنیا است (۲). علاوه بر این ۱۵ الی ۲۰ درصد از بیماری‌های اسهال در کشورهای در حال توسعه ناشی از مصرف آب‌های آشامیدنی آلوده می‌باشد (۳). در روش‌های تشخیصی آلودگی میکروبی آب، از باکتری اشریشیاکلی به عنوان شاخص آلودگی آب به مدفوع استفاده می‌گردد. اشریشیاکلی بارزترین کلی فرم مدفوعی و بخشی از فلور نرمال روده انسان و حیوانات خونگرم است که چند ساعت پس از تولد در سیستم گوارش انسان و حیوان تکثیر پیدا کرده و به این ترتیب نقش مهمی در سیستم فیزیولوژی دستگاه گوارش ایفا می‌کند، اما با این حال برخی از سویه‌های اشریشیاکلی با به دست آوردن عوامل و فاکتورهای ویرولانس به سویه‌های بیماریزا و اسهال زا تبدیل می‌شوند (٤).

اشریشیاکلی‌های اسهال زا بر اساس علائم و فاکتورهای ویرولانس به شش زیرگروه تقسیم می‌شوند که عبارتند از اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک (EPEC)، اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک (ETEC)، اشریشیاکلی انتروایونیسیو (EIEC)، اشریشیاکلی انتروآگریگیتیو (EAEC)، اشریشیاکلی انتروهموراژیک (EHEC) و اشریشیاکلی با چسبندگی پراکنده (DAEC) (۵،۶). از بین سویه‌های نام برده سویه ETEC شایعترین عامل اسهال در کشورهای در حال توسعه می‌باشد و مسئول بیش از یک میلیارد مورد اسهال در سال است که ۳۰۰ تا ٤۰۰ میلیون آن در کودکان زیر ۵ سال رخ می‌دهد. این سویه با تمرکز در روده کوچک و تولید دو نوع توکسین LT (حساس به حرارت) و ST (مقاوم به حرارت) موجب اسهال می‌شود (۷). سویه EPEC نیز عامل عمده اسهال نوزادان و از قدیمی ترین پاتوتایپ‌های شناسائی شده اشریشیاکلی می‌باشد که در روده کوچک تکثیر یافته و اساساً باعث اسهال حاد و غیرخونی می‌گردد. این ارگانیسم از طریق اتصال به دیواره روده باعث به هم ریختگی ساختارسلول گردیده و منجر به ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک در سطح روده می‌شود و با این عمل پدیده جذب و دفع روده مختل می‌گردد (۸).

روش‌های قدیمی تشخیص اشریشیاکلی بر پایه کشت و رنگ سنجی می‌باشد. این روشها وقت گیر و پر زحمت بوده و تنها وجود باکتری‌های کومنسال[1] را مشخص می‌کنند بدون اینکه هیچ گونه ارتباط و نسبتی با باکتری‌های پاتوژن و عامل اسهال داشته باشند. اخیرا دانشمندان برای تشخیص باکتری‌های اشریشیاکلی به دنبال روش‌های جایگزین و تکمیلی بوده‌اند. از جمله این روش‌ها، استفاده از روش مولکولی واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) می‌باشد (۹،۱۰). در ارتباط با نمونه‌های بالینی مطالعات بسیاری انجام شده که نشان از حضور اشریشیاکلی پاتوژن و نقش مؤثر آنها در ایجاد اسهال می‌باشد (۱۱،۱۲). با توجه به نقش پر اهمیت اشریشیاکلی‌های مولد اسهال این سؤال مطرح است که اشریشیاکلی شناسایی شده جزءِ کدام یک از سویه‌های اسهال زا می‌باشد؟

از آنجا که تاکنون در خصوص شناسایی و ردیابی سویه‌های بیماریزای اشریشیاکلی در محیط (آب و فاضلاب) در شهر کرمانشاه مطالعه ای صورت نگرفته است و با توجه به نقش پر اهمیت اشریشیاکلی‌های اسهال زا در ایجاد بیماری در کشورهای در حال توسعه همچون ایران، هدف از این مطالعه شناسایی دو گونه بیماریزای شایع و مهم اشریشیاکلی‌های ETEC و EPEC در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب (شهری، بیمارستانی و کشتارگاه و لبنی) در شهر کرمانشاه می‌باشد.

روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی است. از فاضلاب ورودی و خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری کرمانشاه (١٤نمونه)، کارخانه لبنیات بیستون (۸ نمونه)، کشتارگاه صنعتی بیستون (۶ نمونه) و

[1] Commensal

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

تصفیه‌خانه فاضلاب بیمارستان امام رضا (۱۲نمونه)، محمد کرمانشاهی (۱٤ نمونه) و فارابی (۱۰ نمونه) در مجموع ٦٤ نمونه جمع آوری گردید.

نمونه‌ها در شرایط استریل و رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه میکروب‌شناسی جهت جداسازی و شناسایی اشریشیاکلی از نمونه‌های فاضلاب با استفاده از روش پیشنهادی در استاندارد متد منتقل شدند (۱۳). در آزمایشگاه جهت تعیین بار میکروبی بر روی نمونه‌ها آزمون تخمیر ۹ لوله ای (MPN) شامل مراحل احتمالی، تاییدی و تکمیلی انجام گردید. سپس از لوله‌های مثبت مرحله تکمیلی، مقداری از نمونه بر روی محیط EMB کشت داده و در انکوباتور به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. بر روی کلنی‌های تیپیک تست افتراقی IMVIC انجام گردید. سپس کلنی‌های اشریشیاکلی خالص سازی شد و با استفاده از کیت استخراج CinaPure DNA (شرکت سیناکلون) و طبق پروتکل شرکت سازنده استخراج DNA باکتری انجام شد. سپس شناسایی سویه‌های اشریشیاکلی انتروتوکسوژنیک (ETEC) و اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک (EPEC) به روش PCR انجام گردید. برای انجام PCR از پرایمرهای پیشنهادی سلطان دلال و همکاران استفاده شد (۷). کلیه مواد و محلول‌های مورد استفاده در این مطالعه جهت انجام PCR، از شرکت سیناکلون تهیه گردید.

جدول ۱. ژن‌های هدف، توالی پرایمرها (۷)

پاتوتایپ	سکانس پرایمر'۵ تا '۳	سایز bp	ژن هدف
ETEC	GGCGACAGATTATACCGTGC CGGTCTCTATATTCCCTGTT	٤٥۰	elt F elt R
EPEC	CTGAACGGCGATTACGCGAA CGAGACGATACGATCCAG	۹۱۷	eae F eae R

برای تهیه مخلوط واکنشPCR جهت شناسایی ژن elt در هر واکنش از (۱µl) 10X buffer ،۲/۵ $MgCl_2$ (۱µl)، dNTP (۱µl)، آنزیم Taq پلیمراز (۰/۱۲۵µl)، آب مقطر دیونیزه استریل (۱۵/٤ µl)، DNA ((۲/۵µl)، پرایمر فوروارد و ریورس هرکدام (۱/۲۵µl) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر استفاده گردید. تمام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (BIO- RAD C1000- Germany) و طبق برنامه حرارتی جدول ۲ در ۳۰ چرخه (سیکل) بسط گردید.

جدول۲. برنامه حرارتی برای ژن eltدرPCR

ژن هدف	مراحل	واسرشت اولیه	واسرشت برای هر سیکل	مرحله اتصال	مرحله بسط	بسط نهایی
ژن elt		۹۵	۹٤	۵٤	۷۲	۷۲
		۵	۱	۱	۱	۷
ژن eae		۹۵	۹٤	۵۸	۷۲	۷۲
		۵	۱	۱	۱	۷

در هر مرحله از انجام PCR جهت اطمینان از صحت آزمایش از یک تست بعنوان کنترل منفی با استفاده از آب مقطر دیونیزه، و همچنین یک تست کنترل مثبت با استفاده از DNA استانداردETEC دارای ژن هدف elt و DNA استاندارد EPEC دارای ژن هدف eae که از آزمایشگاه مرجع کشوری اشریشیاکلی (انستیتو پاستور تهران) تهیه گردید، استفاده شد. محصول PCR در ژل ۱٪ آگارز در ولتاژ ۸۰ به مدت ٤۵ دقیقه الکتروفورز گردید. سپس توسط اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و در دستگاه Gel Doc- ساخت کشور آلمان تحت اشعه UV مطالعه گردید (شکل شماره ۱). جهت اطمینان از نتایج PCR و تعیین توالی

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

نوکلئوتیدها، محصولات PCR به شرکت فزا پژو (تهران) ارسال شد. بر اساس نتایج دریافتی از این شرکت محصولات PCR ۱۰۰درصد با ژن مورد نظر سویه‌های ETEC و EPEC انطباق داشتند.

یافته‌ها

نتایج آزمون MPN نشان داد آلوده ترین فاضلاب از نظر بار میکروبی مربوط به تصفیه‌خانه فاضلاب کشتارگاه صنعتی و کمترین آلودگی مربوط به تصفیه‌خانه فاضلاب شهری بود (جدول۳). بر اساس نتایج کشت افتراقی از ۶۴ نمونه فاضلاب برداشت شده از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری، لبنی، بیمارستانی و کشتارگاه به طور میانگین در مجموع ۹۰/۶۲٪ از نمونه‌ها دارای اشریشیاکلی بودند.

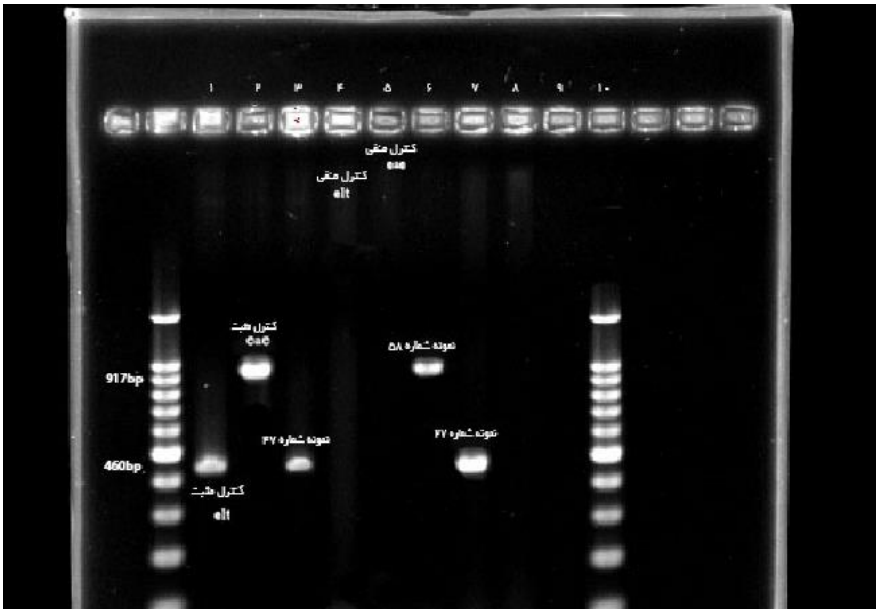
شناسایی سویه‌های اشریشیاکلی اسهال زا (DEC) از نمونه‌های آب و فاضلاب به سهولت امکان پذیر نیست و در اکثر آزمایشگاه‌ها جهت شناسایی سویه‌های E.coli مولد اسهال از آزمون‌های فنوتیپی استفاده می‌شود که به تنهایی جهت تشخیص هویت و شناسایی انواع سویه‌هایDEC کافی نمی‌باشد (۷). در این مطالعه روش PCR با استفاده از دو جفت پرایمر مربوط به پاتوتایپ‌های مولد اسهال (ETEC و EPEC) به ترتیب ژن‌های elt وeae مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت. بر اساس نتایج PCR از ۵۸ نمونه آلوده به اشریشیاکلی ۱۱ سویه اشریشیاکلی مولد اسهال (DEC) جدا شد، به طوری که در مجموع ۲۰/۶۸٪ از کل اشریشیاکلی شناسایی شده دارای فاکتور ویرولانس elt و از نوع ETEC بودند. ژن eae در ۱/۷۲٪ از کل سویه‌های اشریشیاکلی وجود داشت. سویه EPEC فقط در فاضلاب کشتار گاه و آن هم در ۲۰٪ سویه‌های اشریشیاکلی پیداشده در این فاضلاب یافت شد.

سویه ETEC به ترتیب در ۲۲/۵، ۰، ۲۱/۳۵ و ۰ درصد از سویه‌های اشریشیاکلی نمونه‌های فاضلاب‌های شهری، فاضلاب لبنی، فاضلاب بیمارستانی و کشتارگاه شناسایی گردید، بدین ترتیب بیشترین فراوانی سویه‌های ETEC در فاضلاب بیمارستانی مشاهده گردید ژن eae در ۱/۷۲٪ از کل سویه‌های اشریشیاکلی وجود داشت (جدول ٤).

جدول ۳. مقادیر کلیفرم کل در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری، بیمارستانی، کشتارگاه و لبنیات

نمونه		کلیفرم کلMPN/100ml			کلیفرم مدفوعیMPN/100ml	
		میانگین	حداکثر	حداقل	میانگین	حداکثر	حداقل
فاضلاب شهری	ورودی (خام)	٤/٧٧×۱۰^٦ ± ۲/۱ ×۱۰^٦	۹× ۱۰^٦	۱۰^٦× ۲/۱	۳/۲۳× ۱۰^٦ ±۳/۸۸ × ۱۰^٦	×۱۰^٦ ۹	۹/۲×۱۰^٥
	خروجی	۱۰^٥× ± ۱/۸۸ ×۱۰^٥ ۱/۲	۱۰^٥× ٤	۰	۷/۱×۱۰^۳ ± ٤/٥×۱۰^۳	۱/٥×۱۰^٤	۰
کشتارگاه صنعتی	ورودی (خام)	٤/٨٤×۱۰^٨ ± ۲/۳×۱۰^٨	۱/۱×۱۰^٩	۱/۱×۱۰^۷	٤/٨٧×۱۰^۷ ± ۲/۳×۱۰^٨	۱/۱×۱۰^٩	۳/٤×۱۰^٦
	خروجی	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کارخانه لبنیات	ورودی (خام)	۷/۷×۱۰^۷ ± ٥/٥×۱۰^۷	۱/۱×۱۰^٨	۷/٤×۱۰^٥	۷/۷×۱۰^۷ ± ٥/٥×۱۰^۷	۱/۱×۱۰^٨	۳/٤×۱۰^٤
	خروجی	۲/۳۷×۱۰^۷ ± ۱/۷۲×۱۰^۷	۳/٤×۱۰^۷	٤×۱۰^٥	۲/۳۷×۱۰^۷ ± ۱/۷×۱۰^۷	۳/٤×۱۰^۷	٤×۱۰^٥
بیمارستان فارابی	ورودی	۹/۸× ۱۰^۷ ± ۹/٦×۱۰^۷	۲/۱× ۱۰^٨	۱۰^۷× ٤	×۱۰^٨ ۱/۱ ± ۷/٤× ۱۰^۷	۲/۱× ۱۰^٨	۷× ۱۰^٦
	خروجی بعد از ته نشینی	۲/۰۱× ۱۰^٤ ±۱/٦× ۱۰^٤	٤۰۰۰۰	٤۳۰۰	۲۳۷۹ ± ٤/٤× ۱۰^۳	۷۰۰۰	۲۳۰۰
	خروجی نهایی بعد از صافی	۱۱٥/٤۷ ± ۹×۱۰^۲	۹۰۰	۷۰۰	٥۷/۷۳ ± ٤×۱۰^۲	٤۰۰	۳۰۰
بیمارستان محمد کرمانشاهی	ورودی	۲/۲٥× ۱۰^٨ ± ۱/۲۱× ۱۰^٨	٤/٦× ۱۰^٨	۷× ۱۰^٥	۳/٦٦× ۱۰^۷ ± ۹× ۱۰^۷	۳/٤× ۱۰^٨	۷× ۱۰^٥
	خروجی	۳/٦٦× ۱۰^۷ ± ۱/۹× ۱۰^۷	۷/٤× ۱۰^۷	۱/۱× ۱۰^٥	۱× ۱۰^٥ ± ۱/۲۳× ۱۰^٥	۳/٤× ۱۰^٥	۰
بیمارستان امام رضا	ورودی	۱/۹٥× ۱۰^٨ ± ۱/۱٥× ۱۰^٨	۱/۱× ۱۰^٩	۹× ۱۰^٦	٦/٤٦× ۱۰^۷ ± ۳/٦۲× ۱۰^۷	۳/٤× ۱۰^٨	٤× ۱۰^٦
	خروجی	٦/٤× ۱۰^۷ ± ۳/٥٥× ۱۰^۷	۱/٥× ۱۰^٨	٤/۳× ۱۰^٤	۱/٦۷× ۱۰^۷ ± ۱/۲× ۱۰^۷	٤× ۱۰^۷	۲/۳× ۱۰^٤

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]



شکل ۱. تصویرالکتروفورز محصول PCR ژن‌های elt و eae درنمونه‌های کنترل مثبت و تعدادی از نمونه‌ها

جدول ٤. فراوانی سویه‌های ETEC و EPEC در فاضلاب شهری، کشتارگاه، بیمارستان‌ها و کارخانه لبنیات

نمونه		تعداد سویه‌های اشرشیاکلی	تعداد نمونه‌های مثبت ETEC	تعداد نمونه‌های مثبت EPEC	درصد نمونه‌های مثبت ETEC	درصد نمونه‌های مثبت EPEC	در صد سویه‌های ETEC مثبت در هر نوع فاضلاب	در صد سویه‌های EPEC مثبت در هر نوع فاضلاب
فاضلاب شهری	ورودی (خام)	۸	۲	۰	۲۵	۰	۲۲/۵	۰
	خروجی	۵	۱	۰	۲۰	۰		
کشتارگاه صنعتی	ورودی (خام)	۵	۰	۱	۰	۲۰	۰	۲۰
	خروجی	ن*	ن*	ن*	ن*	ن*		
بیمارستان امام رضا	ورودی (خام)	۷	۳	۰	٤۲/۸۵	۰	۲۱/۳۵	۰
	خروجی	۵	۱	۰	۲۰	۰		
بیمارستان محمد کرمانشاهی	ورودی (خام)	۷	۲	۰	۲۸/۶	۰		
	خروجی	۶	۱	۰	۱۶/۶	۰		
بیمارستان فارابی	ورودی (خام)	۳	۱	۰	۳۳/۳	۰		
	خروجی ته نشینی ثانویه	٤	۱	۰	۲۵	۰		
	خروجی نهایی	۲	۰	۰	۰	۰		
کارخانه لبنیات	ورودی (خام)	۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	خروجی	۳	۰	۰	۰	۰		
مجموع		۵۸	۱۲	۱	۲۰/۶۸	۱/۷۲		

بحث

بر اساس نتایج تست افتراقی از ٦٤ نمونه فاضلاب برداشت شده از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب مورد مطالعه، از ۵۸ نمونه (۹۰/۶۲٪) اشریشیاکلی جداگردید. یافته‌های این مطالعه با دیگر مطالعات مطابقت داشت، بعنوان مثال در مطالعه ای که توسط

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

الماسی و همکاران بر روی نمونه‌های آب آلوده در شهر کرمانشاه انجام شد، در ۹۵٪ از نمونه‌ها سویه اشریشیاکلی جدا شد (۱٤). در مطالعه دیگر که در تونس توسط سالم و همکاران بر روی فاضلاب شهری انجام شد در ۷۶/۶٪ از نمونه‌ها اشریشیاکلی شناسایی شد (۱۵). این یافته‌ها نشان می‌دهد که اشریشیاکلی باکتری غالب کلیفرم‌های مدفوعی جدا شده از فاضلاب می‌باشد.

در مطالعه حاضر درصد فراوانی سویه ETEC بیش از سویه EPEC به دست آمد. به طوری که میزان فراوانی ETEC به عنوان یک سویه اشریشیاکلی اسهال زا به طور میانگین ۲۰/۶۸ درصد از اشریشیاکلی‌های شناسایی شده در نمونه‌های فاضلاب را تشکیل می‌دهد. همانگونه که در قبل نیز ذکر شد این سویه شایعترین عامل اسهال در کشورهای در حال توسعه و مسئول بیش از یک میلیارد مورد اسهال در سال است (۷). در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۰ در جنوب آفریقا انجام شد و فاضلاب ۶ تصفیه‌خانه فاضلاب از نظر آلودگی به پاتوتایپ‌های اشریشیاکلی مورد سنجش واقع شد، بیشترین فراوانی سویه‌های اسهال زای اشریشیاکلی مربوط به سویه ETEC بود، به طوری که ۸۰٪ از سویه‌های پاتوتایپ اشریشیاکلی،ETEC و فقط ۲۰٪ از سویه‌های پاتوتایپ از نوع EPEC بودند (۱۶). در مطالعه ای دیگر در کشور تونس بر روی سویه‌های پاتوتایپ اشریشیاکلی در ۶۰ نمونه فاضلاب برداشت شده از تصفیه‌خانه فاضلاب بررسی صورت گرفت. بر اساس یافته‌های این مطالعه در ۷۶/۶٪ نمونه‌های فاضلاب ورودی اشریشیاکلی شناسایی گردید. از بین سویه‌های اشریشیاکلی اسهال زا ۵۳/۳ ETEC، ۱۶/۶٪ EAEC و ۶/۶٪ EIEC بود. در این مطالعه سویه EPEC و فاکتور ویرولانس eae در نمونه‌ها یافت نشد (۱۷). در مطالعه ای که بر روی ٤۶ نقطه از رودخانه‌های اصلی کشور بنگلادش انجام شد، درصد فراوانی سویه‌های اسهال‌زای اشریشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه سویه ETEC با فراوانی ۶۰/۸۶٪ از سویه EPEC با فراوانی ۱۹/۵۶٪ بیشتر بود (۱۸).

در سواحل غربی هند نیز در مطالعه ای که توسط‌هاتا و همکاران بر روی شناسایی سویه‌های پاتوتایپ اشریشیاکلی انجام گرفت، از ۸۱ سویه اشریشیاکلی شناسایی شده ، سویه ETEC با میزان ۲/۵ درصد بیشترین فراوانی را داشت و فراوانی سایر سویه‌ها از قبیل EPEC و UPEC هرکدام به میزان ۲/۱درصد به دست آمد (۱۹).

همانگونه که ذکر شد در مطالعه حاضر سویه EPEC تنها در کشتارگاه صنعتی بیستون یافت شد. در مطالعه‌ای که توسط اردن و همکاران در اسپانیا بر روی نمونه‌های مدفوع گاو انجام گردید، سویه EPEC و فاکتور ویرولانس eae حتی در گوساله‌های سالم شناسایی شد (۲۰).

در تعدادی دیگر از مطالعات انجام شده در گذشته مقادیر سویه EPEC بیش تر از ETEC گزارش شده است، به طور مثال در مطالعه ای که سلطان دلال وهمکاران بر روی آب چاه پارک‌های تهران انجام دادند، از ۹۰ نمونه آب آلوده ۶۷ سویه اشریشیاکلی اسهال زا شناسایی گردید که ٤ سویه (۶٪) آن مربوط به ETEC و ٤۲ سویه (۷/۶۲ ٪) EPEC بود (۷). منشاء آلودگی آب چاه پارک‌های مورد مطالعه می‌تواند فضولات حیوانی مورد استفاده جهت فضای سبز باشد. البته برای اثبات این موضوع نیاز به بررسی‌های ژنتیکی بیشتر جهت شناسایی منشاء EPEC در نمونه‌های محیطی می‌باشد.

در مطالعه ای دیگر که توسط بتابیال و همکاران بر روی شناسایی سویه‌های اسهال زا در ٤۱۱ نمونه آب آشامیدنی در غرب هند انجام شد، ۸۸ نمونه (۲۱/٤٪) حاوی اشریشیاکلی بودند که از این میزان ٤/۵٪ از سویه‌های اشریشیاکلی حاوی ژن ویرولانس eae (EPEC)، ۳/٤٪ حاوی فاکتورهای ویرولانس elt و est (ETEC) و ۱/۱٪ دارای سویه EIEC بودند

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

(۳). در ارتباط با نمونه‌های محیطی مطالعات کمی در این زمینه صورت گرفته است، اما در خصوص نمونه‌های بالینی مطالعات به نسبت بیشتر است. بطور مثال در مطالعه‌ای که پارک و همکاران بر روی طغیان اسهال ناشی از اشریشیاکلی در یکی از دبیرستان‌های پایتخت کره جنوبی انجام دادند، از ۵۱ نمونه مدفوع گرفته شده از دانش آموزان بیمار، ۱۹ مورد ETEC (۳۷/۲٪) جدا سازی شد، همچنین در این مطالعه از آب مصرفی، دستگاه تصفیه آب و مخزن آب زیر زمینی این مدرسه نیز نمونه برداری انجام شد که در آن نمونه‌ها نیز سویه ETEC شناسایی گردید. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه بین شیوع اسهال در بین دانش آموزان و آلودگی آب مصرفی ارتباط معناداری وجود داشت (۲۱). در مطالعه ای که در تایوان انجام شد ۲۶۱ نمونه مدفوع بیماران دچار اسهال مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله سویه ETEC بیشترین فراوانی را داشت با ۶۶/۷٪ و سویه EPEC با درصد فراوانی ۱۳/۳ در بین سویه‌های اشریشیاکلی یافت شد (۶). در مطالعه ای دیگر که توسط جعفری و همکاران بر روی شیوع پاتوژن‌های روده ای اسهال حاد در تهران انجام شد، در بین سویه‌های اشریشیاکلی اسهال زا، شیوع سویه ETEC به میزان ۳۲/۹ ٪ بعد از سویه اشریشیاکلی مولد شیگاتوکسین (STEC) بیشترین فراوانی را داشت (۲۲). از آنجا که در تهران بیش از ۷۰٪ از منابع تامین کننده آب، آبهای سطحی است که در معرض آلودگی با پساب فاضلاب‌های شهری می‌باشد، میزان فراوانی ETEC در نمونه‌های مدفوع بیماران می‌تواند با فراوانی این سویه در فاضلاب شهری ارتباط مستقیم داشته باشد که البته این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر فراوانی ETEC در فاضلاب شهری و بیمارستان‌های مورد بررسی به ترتیب ۲۲/۵ و ۲۱/۳۵درصد به دست آمد که از نظر میزان نزدیک به هم بود که علت آن می‌تواند بدلیل ورود پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب بیمارستانی به شبکه جمع آوری فاضلاب شهری و درنهایت تصفیه‌خانه فاضلاب شهری باشد.

لازم به ذکر است در این مطالعه با توجه به امکانات تنها دو سویه پاتوتایپ اشریشیاکلی مورد سنجش قرار گرفت و در صورتی که سایر سویه‌های بیماریزای اشریشیاکلی نیز شناسایی گردد، آمار کامل تری از میزان اشریشیاکلی‌های مولد اسهال در فاضلاب‌های شهری، بیمارستانی و سایر موارد به دست خواهد آمد. علاوه بر این از محدودیت‌های مطالعه حاضر، دوره زمانی کوتاه آن است و اگر سایر فصول نیز مورد بررسی قرار گیرد می‌توان بررسی مقایسه‌ای در دما و شرایط آب و هوایی مختلف نیز انجام داد.

با توجه به حضور سویه انتروتوکسیژنیک در فاضلاب‌ها اهمیت حذف کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرماپای در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب پررنگ تر می‌گردد. یکی از بهترین تمهیدات در جهت کاهش مؤثر این سویه‌های پاتوتایپ اشریشیاکلی، استفاده از گندزدایی می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که اشریشیاکلی‌های بیماریزا همچون سایر اشریشیاکلی‌های غیربیماریزا در برابر گندزدایی از جمله کلرزنی حساس بوده و از بین می‌روند (٤). بنابراین کلرزنی پساب خروجی تصفیه‌خانه‌ها به ویژه تصفیه‌خانه‌های شهری و بیمارستانی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان از حضور اشریشیاکلی اسهال‌زای انتروتوکسیژنیک در پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و بیمارستانی و همچنین اشریشیاکلی انتروپاتوژنیک در فاضلاب کشتارگاه دام دارد. بنابراین با توجه به حضور سویه انتروتوکسیژنیک در فاضلاب بیمارستانی و از آنجا که فاضلاب‌های بیمارستانی در نهایت وارد فاضلاب شهری می‌شود،

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

اهمیت حذف کلیفرم‌ها و کلیفرم‌های گرماپای از جمله اشریشیاکلی و انواع پاتوتایپ‌های آن در تصفیه‌خانه فاضلاب شهری پررنگ تر می‌گردد با توجه به اینکه پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری وارد رودخانه می‌شود و در پایین دست آن اقدام به آبیاری سبزی با آب رودخانه می‌گردد، این امر می‌تواند باعث بوجود آمدن مخاطرات بهداشتی شود. بنابراین بهبود کارایی این سیستم‌ها در حذف پاتوژن‌های میکروبی الزامی است.

علاوه بر این از آنجا که در پساب برکه تثبیت کشتارگاه بیستون سویه آنتروپاتوژنیک مشاهده شد و همچنین از آنجا که میانگین هندسی کلیفرم کل و گرماپای در آن نیز نسبت به سایر فاضلاب‌ها بالا است، می‌بایست نسبت به ایزولاسیون کف برکه و یا ارتقاءِ سیستم، اقدامات جدی به عمل آورد، در غیر این صورت آب‌های زیرزمینی منطقه در مواجهه جدی آلودگی میکروبی قرار خواهند گرفت.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجویی کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط و بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمانشاه به شماره قرارداد ۹۳۱۲۱ می باشد. بدین طریق مراتب تشکر و قدردانی از معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمانشاه به دلیل حمایت‌های مالی به عمل می‌آید.

References

1- Lee DY, Shannon K, Beaudette LA. Detection of bacterial pathogens in municipal wastewater using an oligonucleotide microarray and real-time quantitative PCR. Journal of microbiological methods. 2006;65 (3):453-67.

2- Prüss A, Kay D, Fewtrell L, Bartram J. Estimating the burden of disease from water, sanitation, and hygiene at a global level. Environmental health perspectives. 2002;110 (5):537-42.

3- Batabyal P, Mookerjee S, Sur D, Palit A. Diarrheogenic Escherechia coli in potable water sources of West Bengal, India. Acta tropica. 2013;127 (3):153-7.

4- Hunter P. Drinking water and diarrhoeal disease due to Escherichia coli. J Water Health. 2003;1:65-72.

5- Ahmed W, Tucker J, Bettelheim KA, Neller R, Katouli M. Detection of virulence genes in Escherichia coli of an existing metabolic fingerprint database to predict the sources of pathogenic E. coli in surface waters. Water research. 2007;41 (16):3785-91.

6- Yang JR, Wu FT, Tsai JL, Mu JJ, Lin LF, Chen KL, et al. Comparison between O serotyping method and multiplex real-time PCR to identify diarrheagenic Escherichia coli in Taiwan. Journal of clinical microbiology. 2007;45 (11):3620-5.

7-Soltan Dalal MM, Sepehri S, Hoseini M, Tabatabaee A, Deilami Khiabani Z. Determining of the genetic diversity of E. coli in well water parks in Tehran by PCR Multiplex, Pagohandeh. 2011;16 (5): 226-233.

8- Clarke SC. Diarrhoeagenic Escherichia coli—an emerging problem? Diagnostic microbiology and infectious disease. 2001;41 (3):93-8.

9- Bertrand R, Roig B. Evaluation of enrichment-free PCR-based detection on the rfbE gene of Escherichia coli O157—application to municipal wastewater. Water research. 2007;41 (6):1280-6.

10- Kong R, Lee S, Law T, Law S. Rapid detection of six types of bacterial pathogens in marine waters by multiplex PCR. Water Research. 2002;36 (11):2802-12.

11- Tornieporth NG, John J, Salgado K, de Jesus PA, Latham E, Melo MC. John & Riley, L. W. Differentiation of pathogenic Escherichia coli strains in Brazilian children by PCR. *Journal of clinical microbiology*. 1995; *33* (5): 1371-1374

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]

12- Levine MM. Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of infectious Diseases*, 1987;*155* (3), 377-389.
13- APHA. AWWA. WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Ed. Washington APHA. 1998, 208- 291.
14- Almasi, A, Mansoor R, and Habibah M. Compatibility Rate of Three Laboratory Methods for Enumerating Thermo-tolerant Coliforms in Water Resources. Journal water and wastewater. 2009;2: 75-79. (In Persion).
15-Salem IB, Ouardani I, Hassine M, Aouni M. Bacteriological and physico-chemical assessment of wastewater in different region of Tunisia: impact on human health. *BMC research notes*. 2011;4: 144.
16- Omar K, Barnard T. The occurrence of pathogenic Escherichia coli in South African wastewater treatment plants as detected by multiplex PCR. Water SA. 2010;36 (2):172-6.
17- Salem IB, Ouardani I, Hassine M, Aouni M. Bacteriological and physico-chemical assessment of wastewater in different region of Tunisia: impact on human health. BMC research notes. 2011;4 (1):144.
18- Akter S, Islam M, Afreen K, Azmuda N, Khan S, Birkeland N. Prevalence and distribution of different diarrhoeagenic Escherichia coli virulotypes in major water bodies in Bangladesh. Epidemiology and infection. 2013;141 (12):2516-25.
19- Hatha AM, Chandran A, Rahiman KM. Prevalence of diarrhegenic serotypes of Escherichia coli in the Cochin estuary, along west coast of India. Indian Journal of Marine Sciences. 2004;33 (3):238-42.
20- Orden J, Cid D, Ruiz-Santa-Quiteria J, Garcia S, Martinez S, De la Fuente R. Verotoxin-producing Escherichia coli (VTEC), enteropathogenic E. coli (EPEC) and necrotoxigenic E. coli (NTEC) isolated from healthy cattle in Spain. Journal of Applied Microbiology. 2002;93 (1):29-35.
21- Park S, Kim SH, Kee HY, Seo JJ, Ha DR, Cho SH, et al. Enterotoxigenic Escherichia coli outbreak in a high school. Infection and Chemotherapy. 2006;38 (1):30-8.
22- Jafari F, Shokrzadeh L, Hamidian M, Salmanzadeh-Ahrabi S, Zali MR. Acute diarrhea due to enteropathogenic bacteria in patients at hospitals in Tehran. Jpn J Infect Dis. 2008;61 (4):269-73.

[Downloaded from healthjournal.arums.ac.ir on 2025-04-09]