ارزیابی کیفیت میکروبی منابع آبی مختلف با استفاده از روش سنجش آنزیمی در مقایسه با روش متداول تخمیر چند لوله‌ای

مریم حاتم‌زاده[1]، بی‌بی فاطمه نبوی[2]، مهناز نیک‌آئین[3]، اکبر حسن‌زاده[4]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پایش میکروبی منابع آبی به منظور اجرای مدیریت صحیح این منابع حیاتی، ضروری می‌باشد. روش معمول برای پایش میکروبی منابع آبی، ردیابی میکروارگانیسم‌های شاخص توسط روش متداول تخمیر چند لوله‌ای است، اما امروزه روش سنجش آنزیمی به عنوان رویکرد جانشین، توسعه یافته است. هدف از انجام مطالعه حاضر، مقایسه روش سنجش آنزیمی با روش متداول تخمیر چند لوله‌ای، برای شمارش کلی‌فرم‌های کل و مدفوعی در آب‌های آشامیدنی و غیر آشامیدنی بود.

روش‌ها: در این تحقیق، ۶۴ نمونه از منابع آبی مختلف (شرب، چشمه، چاه و قنات و پساب) برداشت گردید. ردیابی کلی‌فرم‌های کل و مدفوعی (اشرشیا کلی) در نمونه‌های فوق توسط روش متداول تخمیر چند لوله‌ای و روش سنجش آنزیمی و با استفاده از محیط کشت LMX Broth، انجام گرفت. جهت بررسی میزان ارتباط پارامترهای اندازه‌گیری شده توسط دو روش، از آزمون همبستگی Pearson استفاده شد. همچنین، میزان حساسیت، ویژگی و صحت روش سنجش آنزیمی برآورد گردید.

یافته‌ها: یافته‌ها ارتباط بالایی را بین اندازه‌گیری کلی‌فرم کل و مدفوعی از طریق هر دو روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای نشان داد. در کل، روش سنجش آنزیمی از حساسیت، ویژگی و دقتی به ترتیب حدود ۹۲، ۹۵ و ۹۴ درصد برخوردار بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به مزایای روش سنجش آنزیمی از قبیل سرعت، حساسیت و دقت به نسبت بالا و ردیابی هم‌زمان کلی‌فرم‌های کل و اشرشیاکلی، می‌توان روش سنجش آنزیمی با استفاده از LMX را به عنوان روش جایگزینی جهت روش تخمیر چند لوله‌ای به کار برد.

واژه‌های کلیدی: سنجش آنزیمی، تخمیر چند لوله‌ای، کیفیت میکروبی، منابع آبی، LMX

ارجاع: حاتم‌زاده مریم، نبوی بی‌بی فاطمه، نیک‌آئین مهناز، حسن‌زاده اکبر. **ارزیابی کیفیت میکروبی منابع آبی مختلف با استفاده از روش سنجش آنزیمی در مقایسه با روش متداول تخمیر چند لوله‌ای.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۵؛ ۱۲ (۱): ۸۹-۸۴

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۵/۵

مقدمه

کیفیت میکروبی آب، نقش بسیار مهمی در حفظ سلامت عموم مردم دارد. بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها، معمول‌ترین و شایع‌ترین خطر سلامتی مرتبط با آب آشامیدنی می‌باشد. بنابراین، پایش و کنترل میکروبی آب جهت مدیریت خوب این منبع حیاتی ضروری است. باکتری‌های کلیفرم کل و مدفوعی از میکروارگانیسم‌های شاخص تعیین کیفیت آب‌های آشامیدنی، سطحی، دریایی و تفریحی محسوب می‌شوند (۱). در این میان، اشرشیا کلی به عنوان مطمئن‌ترین شاخص تأیید وجود آلودگی مدفوعی می‌باشد و بر خطر وجود بیماری‌های روده‌ای دلالت می‌کند (۳، ۲).

روش‌های متداول ردیابی میکروارگانیسم‌های شاخص گروه کلیفرم، روش تخمیر چند لوله‌ای و صافی غشایی است که از روش تخمیر چند لوله‌ای به صورت معمول در ایران استفاده می‌شود. روش تخمیر چند لوله‌ای بر اساس توانایی کلیفرم‌ها در تخمیر لاکتوز و تولید گاز و کدورت می‌باشد. نتایج این روش طی مدت زمان طولانی در حدود ۳ روز به دست می‌آید و راندمان آزمایش تحت تأثیر تعداد زیادی از باکتری‌های غیر کلیفرمی تغییر می‌کند. به علاوه، این روش نیازمند مراحل پیچیده تأییدی و تکمیلی است و عدم توانایی تعیین تفاوت بین کلیفرم کل و مدفوعی در مرحله اولیه آزمایش، از محدودیت‌های آن می‌باشد (۴).

روش‌های سنجش آنزیمی به عنوان رویکرد جانشین برای غلبه بر محدودیت‌های روش متداول سنجش کلیفرم‌ها، جهت ردیابی باکتری‌های شاخص اعم از کلیفرم‌ها و اشرشیا کلی در آب و فاضلاب توسعه یافت (۵). این روش‌ها به دلیل ارایه نتیجه در مدت یک روز، حساس و اختصاصی بودن، احتیاج به نیروی کار کمتر نسبت به روش‌های استاندارد، توان عملیاتی بالا و عدم نیاز به آزمایش‌های تأییدی مفید هستند (۶).

روش سنجش آنزیمی برای آب‌های دریایی، تفریحی، سطحی، بطری شده، زیرزمینی، چاه، خروجی تصفیه خانه‌های آب، خطوط سیستم توزیع آب‌های آشامیدنی و منابع آب آشامیدنی و نیز نمونه‌های غذایی، دارویی، بالینی (انسانی و حیوانی) و سایر

۱- کارشناسی، مرکز تحقیقات محیط زیست و گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات محیط زیست و گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استاد، مرکز تحقیقات محیط زیست و گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- مربی، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده مسؤول: مهناز نیک‌آئین
Email: nikaeen@hlth.mui.ac.ir

Archive
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

نمونه‌های محیطی (از قبیل آئروسل‌های خاک، رواناب و لجن) استفاده می‌گردد (۷).

روش سنجش آنزیمی مبتنی بر هیدرولیز باکتریایی سوبسترای رنگ‌زا و تشخیص محصولات هیدرولیز می‌باشد (۶). ردیابی کلیفرم‌های کل در این روش مشتمل بر مشاهده فعالیت آنزیم بتا- گالاکتوزیداز است که سوبسترای رنگ‌زا نظیر ONPG (Orthonitro Phenul –β-D-galacto Pyramside)، CPRG (Chlorophenol Red-β-D-galactopyranoside) و X-GAL (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside) را به فراورده‌های رنگی هیدرولیز می‌کند (۸، ۴، ۲). همچنین، ردیابی اشرشیا کلی بر اساس هیدرولیز یک سوبسترای فلوروژن به نام MUG (4-Methylumbelliferyl-b-D-glucuronide) می‌باشد که با بتا- گلوکورونیداز (آنزیم موجود در اشرشیا کلی) انجام می‌شود. فلورسنت فراورده نهایی این واکنش، می‌تواند به راحتی با یک لامپ UV با طول موج بلند ردیابی گردد (۱۰، ۹، ۵).

مطالعات زیادی در مورد روش سنجش آنزیمی صورت گرفته است که برای انجام این آزمایش از کیت‌های آماده با نام‌های تجاری مختلف مانند Entrolert، Collier، Coliquik و... استفاده کردند (۱۳-۱۱، ۴، ۲). Chao و همکاران طی مطالعه‌ای بر روی منابع آب تایوان مشخص نمودند که ردیابی اشرشیا کلی به روش سنجش آنزیمی (Colilert) بیشتر از صافی غشایی است (۱۱). مطالعه‌ای دیگر بر روی حوضه آبریز رودخانه ویرجینیا مشخص کرد که همبستگی بالایی بین ۲ روش سنجش آنزیمی (Colilert) و صافی غشایی جهت ردیابی میکروارگانیسم‌های شاخص وجود دارد (۱۲). با توجه به هزینه بالای کیت‌ها، از محیط کشت پودری LMX حاوی سوبستراهای آنزیمی در مطالعه حاضر استفاده گردید.

مطالعه حاضر با توجه به خصوصیات منابع آب موجود، به بررسی و مقایسه روش سنجش آنزیمی با روش تخمیر چند لوله‌ای متداول در ایران پرداخت.

روش‌ها

۶۴ نمونه از منابع آب مختلف (آب شرب، چشمه، چاه و قنات و پساب) طی مدت ۵ ماه نمونه‌برداری تهیه شد و آزمایش‌های مربوط انجام گردید. داده‌های به دست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

روش استاندارد تخمیر چند لوله‌ای (Multiple tube fermentation یا MTF): مطالعه حاضر از روش تخمیر چند لوله‌ای به صورت ۱۰ لوله‌ای برای آب شرب و تلقیح اعشاری و در صورت لزوم رقت سریالی جهت آزمایش سایر منابع بر اساس روش ذکر شده در استاندارد متد استفاده کرد (۷). به طور خلاصه، از محیط کشت لاکتوز براث جهت ردیابی کلیفرم کل استفاده شد. بعد از نگهداری محیط در دمای ۰/۵ ± ۳۵ °C به مدت ۲ ± ۲۴ ساعت، رشد (کدورت درون محیط کشت) و تولید گاز در لوله‌ها بررسی گردید. اگر نتیجه بدون رشد و تولید گاز بود، نمونه‌ها دوباره انکوبه می‌شدند و در انتهای ۳ ± ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار می‌گرفتند. وجود رشد و تولید گاز در لوله‌ها طی ۳ ± ۴۸ ساعت نشان دهنده واکنش احتمالی مثبت بود. یک قطره از هر یک از لوله‌های مثبت در مرحله احتمالی به محیط برلیانت گرین لاکتوز بیل براث (Brilliant Green Lactose Bile یا BGLB) و یک قطره به محیط EC براث (EC Broth) تلقیح شد و سپس محیط BGLB در انکوباتور ۳۷ °C و محیط EC در بن ماری ۴۵ °C به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و پس از آن، وجود رشد و تولید گاز بررسی گردید. تعداد کلیفرم کل با استفاده از نتایج مثبت محیط BGLB و تعداد کلیفرم مدفوعی با استفاده از نتایج مثبت محیط EC (Escherichia Coli broth) و مراجعه به جداول استاندارد متد بر حسب MPN/100 ml (Most probable number) به دست آمد (۷).

روش سنجش آنزیمی: در این روش از محیط کشت LMX براث حاوی سوبسترهای اختصاصی برای ردیابی همزمان باکتری‌های کلیفرم کل و اشرشیا کلی استفاده شد. بسته به نوع نمونه، آزمایش به صورت ۱۰ لوله و یا تلقیح اعشاری مطابق روش تخمیر چند لوله‌ای انجام گردید. پس از کشت، لوله‌ها در انکوباتور با دمای ۰/۵ ± ۳۵ °C به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از این مدت، لوله‌ها برای تغییر رنگ بررسی شد. مشاهده تغییر رنگ (سبز یا آبی) به عنوان نتیجه مثبت برای کلیفرم کل تلقی گردید. جهت بررسی اشرشیا کلی، لوله‌های مثبت را مقابل لامپ UV با طول موج ۳۶۶ nm برای مشاهده فلورسنس قرار داده شد و لوله‌هایی که فلورسان داشت، دلیلی بر وجود اشرشیا کلی بود. MPN با توجه به تعداد لوله‌های مثبت و جدول استاندارد متد محاسبه گردید و بیشترین تعداد احتمالی (MPN) در ۱۰۰ میلی‌لیتر به دست آمد (۷).

میزان همبستگی پارامترهای اندازه‌گیری شده هر ۲ روش با استفاده از آزمون همبستگی Pearson در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، مقایسه بین پارامترهای اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس انجام گردید. معنی‌دار بودن داده‌ها برای P کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. حساسیت، ویژگی و دقت روش سنجش آنزیمی در مقایسه با روش تخمیر چند لوله‌ای به عنوان یک روش استاندارد، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

یافته‌های حاصل از آزمایش‌های میکروبی طی ۵ ماه نمونه‌برداری بر روی منابع مختلف آب (چاه، شرب، چشمه و قنات و پساب) در جدول‌های ۱ و ۲ ارایه گردید.

جدول ۱. مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری کلیفرم کل منابع مختلف آب به روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

روش	منبع آب	تعداد نمونه	میانگین ± انحراف معیار (MPN/100 ml)	حداقل (MPN/100 ml)	حداکثر (MPN/100 ml)
سنجش آنزیمی	چاه	۳۵	۹۷۹۲ ± ۴۸۴۷	۰	۱۵۰۰۰۰
	چشمه و قنات	۱۰	۱۰۷۵ ± ۹۱۹	۰	۱۵۰۰
	شرب	۱۳	۰	۰	۰
	پساب	۶	۱۵۷۱۳۵۰ ± ۹۵۷۸۸۸	۱۱۰۰	۴۶۰۰۰۰۰
تخمیر چند لوله‌ای	چاه	۳۵	۶۳۲۶ ± ۴۴۲۹	۰	۱۵۰۰۰۰
	چشمه و قنات	۱۰	۱۵۵ ± ۱۵۰	۰	۹۳۰۰
	شرب	۱۳	۰	۰	۰
	پساب	۶	۷۵۲۳۵۰ ± ۵۳۸۷۷۵	۱۱۰۰	۱۱۰۰۰۰۰

MTF: Multiple tube fermentation

Archive of SID

www.SID.ir

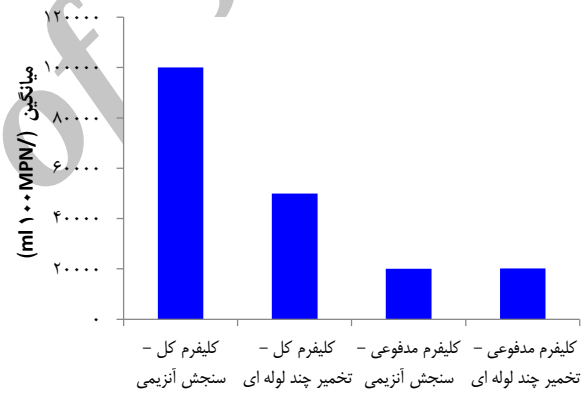
www.mui.ac.ir

جدول ۲. مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری کلیفرم مدفوعی در منابع مختلف آب به روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

روش	منبع آب	تعداد نمونه	میانگین ± انحراف معیار (MPN/100 ml)	حداقل (MPN/100 ml)	حداکثر (MPN/100 ml)
سنجش آنزیمی	چاه	۳۵	۱۵۹ ± ۹۵	۰	۲۹۰۰
	چشمه و قنات	۱۰	۱۰ ± ۶	۰	۴۳
	شرب	۱۳	۰	۰	۰
	پساب	۶	۳۴۱۷۴۵ ± ۲۱۴۰۴۱	۲۴۰	۱۰۰۰۰۰
تخمیر چند لوله‌ای	چاه	۳۵	۸۵۱ ± ۶۸۸	۰	۱۵۰۰۰۰
	چشمه و قنات	۱۰	۴۶ ± ۴۳	۰	۹۳۰۰
	شرب	۱۳	۰	۰	۰
	پساب	۶	۳۷۱۴۵۷ ± ۲۳۰۴۱۴	۱۵۰	۱۱۰۰۰۰۰

MTF: Multiple tube fermentation

میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده کلیفرم‌های کل و مدفوعی در تمام نمونه‌ها با هر ۲ روش در شکل ۱ مورد مقایسه قرار گرفت. ارتباط بین پارامترهای اندازه‌گیری شده هر ۲ روش نیز در جدول ۳ ارایه شد.



شکل ۱. مقایسه میانگین مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی نمونه‌ها به روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

برآورد حساسیت و ویژگی روش سنجش آنزیمی نشان داد که این روش به ترتیب دارای ۱۰۰ درصد ویژگی و ۱۰۰ درصد حساسیت برای ارزیابی کیفیت میکروبی نمونه‌های آب و فاضلاب بود. در مجموع، حساسیت، ویژگی و دقت روش سنجش آنزیمی با توجه به کل نمونه‌های مورد آزمایش به ترتیب معادل ۹۲، ۹۵ و ۹۴ درصد به دست آورد.

بحث

بر اساس نتایج ارایه شده در جدول ۱ و ۲ ملاحظه شد که بیشترین مقدار کلیفرم کل و مدفوعی اندازه‌گیری شده با هر ۲ روش مربوط به پساب و کم‌ترین آن مربوط به آب شرب بود. نتایج آنالیز آماری نیز اختلاف معنی‌داری را بین آلودگی منابع آبی مختلف (چاه، چشمه، شرب و پساب) به کلیفرم‌های کل و مدفوعی نشان داد. هیچ گونه آلودگی از نظر کلیفرم‌های کل و مدفوعی برای آب آشامیدنی در مطالعه حاضر یافت نشد؛ در حالی که Nikaeen و همکاران با استفاده از همین ۲ روش بر روی آب شرب یکی از شهرها گزارش کردند که ۱۶ درصد (۸ از ۵۰ نمونه) و ۱۴ درصد (۷ از ۵۰ نمونه) از نمونه‌های آب آشامیدنی به ترتیب آلوده به کلیفرم کل و مدفوعی بودند (۱۰). مطالعه هاشمی کروئی و همکاران با استفاده از روش تخمیر چند لوله‌ای بر روی نمونه‌های آب چاه خانگی یکی از شهرها نشان داد که ۸۷ و ۷۰ درصد نمونه‌ها به ترتیب کلیفرم کل و مدفوعی داشتند (۱۴).

میانگین تعداد کلیفرم کل به روش سنجش آنزیمی به طور معنی‌داری بیشتر از کلیفرم کل به روش تخمیر چند لوله‌ای در مطالعه حاضر به دست آمد (جدول ۱، شکل ۱). بررسی مطالعات مشابه نیز نشان داد که میزان بازیابی کلیفرم‌های کل در محیطهای مختلف آبی شامل آب آشامیدنی، آب رودخانه و دریا به روش سنجش آنزیمی بیش از روش متداول تخمیر چند لوله‌ای است (۱۶، ۱۵). به نظر می‌رسد که دلیل اصلی بازیابی بیشتر کلیفرم‌ها در روش سنجش آنزیمی نسبت به روش متداول، وجود باکتری‌های فعال و غیر قابل کشت (Viable-but-nonculturable یا VBNC) می‌باشد که نمی‌توانند بر روی محیط کشت رشد کنند، اما هنوز زنده و قادر به فعالیت متابولیکی هستند. مطالعات مختلف نشان دادند که باکتری‌ها می‌توانند از نظر متابولیکی فعال باشند، حتی اگر با روش‌های متداول کشت میکروبی نتوانند مورد ردیابی قرار گیرند (۱۸، ۱۷).

جدول ۳. ارتباط بین کلیفرم‌های کل و مدفوعی با ۲ روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

اختلاف	FC– EA	FC– MTF	TC– EA	TC– MTF
TC– MTF	۰/۸۴۹	۰/۸۹۰	۰/۸۹۱	۱/۰۰۰
TC– EA	۰/۹۹۶	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	
FC– MTF	۰/۹۹۶	۱/۰۰۰		
FC– EA	۱/۰۰۰			

* سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵

EA: Enzyme analysis; FC: Fecal coliform; TC: Total coliform; MTF: Multiple tube fermentation

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

مشخص شده است که وقتی باکتری‌ها وارد یک محیط الیگوتروف می‌گردند، تحت استرس‌های محیط نظیر نور و کمبود مواد مغذی قرار می‌گیرند. در این حالت، قسمتی از سلول ممکن است قابلیت کشت خود را از دست دهد؛ در حالی که هنوز از نظر متابولیکی فعال می‌باشد (۱۹، ۱۷). George و همکاران در مطالعه‌ای بر روی رودخانه Seine فرانسه نشان دادند که باکتری‌های قابل کشت با بهبود کیفیت آب رودخانه در فاصله ۱۵۰ کیلومتری از محل تخلیه پساب فاضلاب، کاهش قابل توجهی را نسبت به باکتری‌های دارای فعالیت آنزیمی داشتند (۲۰).

نتایج مطالعه حاضر در مورد تفاوت میانگین تعداد کلیفرم‌های مدفوعی با هر ۲ روش برعکس کلیفرم‌های کل بود. به عبارت دیگر، میانگین تعداد کلیفرم مدفوعی با روش تخمیر چند لوله‌ای به طور معنی‌داری بیشتر از روش سنجش آنزیمی به دست آمد (جدول ۲، شکل ۱). این اختلاف در مورد کلیفرم‌های مدفوعی می‌تواند به این دلیل باشد که تمام اعضای گروه کلیفرم مدفوعی در روش متداول قابل ردیابی است، اما روش سنجش آنزیمی تنها اشرشیا کلی را به عنوان یگانه شاخص آلودگی مدفوعی ردیابی می‌کند (۸). نکته قابل توجه این می‌باشد که اگر چه اشرشیا کلی درصد بالایی (در حدود ۷۷ درصد یا بالاتر) را از کلیفرم‌های مدفوعی در محیط‌های آبی تشکیل می‌دهد (۲۱)، اما باکتری‌های دیگری به ویژه کلبسیلا می‌توانند به عنوان کلیفرم مدفوعی در روش MTF در دمای $44/5\ ^{o}C$ ردیابی شوند (۲۲). بنابراین، روش MTF در صورت وجود کلبسیلا مقدار بیشتری از کلیفرم‌های مدفوعی را نسبت به روش LMX که تنها می‌تواند اشرشیا کلی را نشان دهد، بازیابی نماید.

آنالیز آماری نتایج نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین تعداد کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی در هر ۲ روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای وجود داشت (جدول ۳). این ارتباط آماری بین تعداد کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی با توجه به ضریب همبستگی در روش سنجش آنزیمی قویتر بود ($r = ۰/۹۹۶$)؛ در حالی که این ارتباط در روش تخمیر چند لوله‌ای کمتر به دست آمد ($r = ۰/۸۹۰$). همچنین، آنالیز آماری نشان داد که ارتباط خوبی بین اندازه‌گیری کلیفرم کل و مدفوعی با هر ۲ روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای وجود داشت، اما این ارتباط در مورد اندازه‌گیری کلیفرم مدفوعی قویتر بود ($r = ۰/۹۹۶$).

با توجه به ارتباط مشخص شده می‌توان بیان نمود که سنجش آنزیمی به خوبی می‌تواند روشی جهت برآورد آلودگی کلیفرمی منابع آب به خصوص آلودگی مدفوعی باشد. Bukh و همکاران برای تشخیص اشرشیا کلی آب آشامیدنی از ۲ روش سنجش آنزیمی با ColiLight و تخمیر چند لوله‌ای استفاده کردند. آن‌ها همبستگی مثبتی بین روش سنجش آنزیمی با استفاده از ColiLight و تخمیر چند لوله‌ای ($r = ۰/۷۱۰$) مشاهده نمودند (۲). مطالعه Buckalew و همکاران نیز همبستگی بالایی ($r = ۰/۹۵۶$) را بین ۲ روش سنجش آنزیمی با استفاده از Buckalew و همکاران صافی غشایی جهت ردیابی اشرشیا کلی آب‌های سطحی نشان دادند (۱۲).

مطالعات مختلف با استفاده از سوبسترای MUG مقادیر متفاوتی از حساسیت و ویژگی برای سنجش آنزیمی گزارش کردند (۸). برآورد حساسیت، ویژگی و دقت در مطالعه حاضر نشان دهنده این است که روش سنجش آنزیمی با استفاده از LMX با دقت به نسبت بالا (۹۴ درصد)، روش مناسبی برای ارزیابی انواع منابع آبی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، استفاده از LMX به عنوان یک روش سنجش آنزیمی، جانشین مناسبی برای روش تخمیر چند لوله‌ای متداول جهت ردیابی کلیفرم‌های کل و مدفوعی (اشرشیا کلی) آب‌های آشامیدنی و غیر آشامیدنی می‌باشد. این روش با مزایایی مانند ردیابی هم‌زمان کلیفرم کل و اشرشیا کلی، حساسیت، ویژگی و دقت به نسبت بالا، صرفه‌جویی در زمان و نیروی کار، بالا بردن توانایی عملیاتی و آزمایش نمونه‌های بیشتر، امکان اتخاذ اقدامات مدیریتی و نظارتی سریع‌تر به خصوص در شرایط اضطراری و حوادث غیر مترقبه را فراهم می‌نماید.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی شماره ۲۹۳۰۶۹ مصوب مرکز تحقیقات محیط زیست می‌باشد، بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکرخود را از این مرکز اعلام می‌نمایند.

References

1. Mukhopadhyay C, Vishwanath S, Eshwara VK, Shankaranarayana SA, Sagir A. Microbial quality of well water from rural and urban households in Karnataka, India: a cross-sectional study. J Infect Public Health 2012; 5(3): 257-62.
2. Bukh AS, Hansen E, Roslev P. Detection and persistence of clinical escherichia coli in drinking water evaluated by a rapid enzyme assay and qPCR. Advances in Microbiology 2012; 2(3): 252-62.
3. Girones R, Ferrus MA, Alonso JL, Rodriguez-Manzano J, Calgua B, Correa AA, et al. Molecular detection of pathogens in water--the pros and cons of molecular techniques. Water Res 2010; 44(15): 4325-39.
4. Maheux AF, Huppe V, Boissinot M, Picard FJ, Bissonnette L, Bernier JL, et al. Analytical limits of four beta-glucuronidase and beta-galactosidase-based commercial culture methods used to detect Escherichia coli and total coliforms. J Microbiol Methods 2008; 75(3): 506-14.
5. Douterelo I, Boxall JB, Deines P, Sekar R, Fish KE, Biggs CA. Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. Water Research 2014; 65: 134-56.
6. Fiksdal L, Tryland I. Application of rapid enzyme assay techniques for monitoring of microbial water quality. Curr Opin Biotechnol 2008; 19(3): 289-94.
7. Eaton AD, Franson MAH. Standard methods for the examination of water & wastewater. Washington, DC: American Public Health Association; 2005.
8. Mirhendi H, Nikaeen M. Wastewater microbiology. Tehran, Iran: Tehran University of Medical Sciences Publications; 2004. [In Persian].

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

9. Berger SA. Increased protection afforded by the defined substrate technology Colilert system by its ability to detect Shigella ß-glucuronidase. Letters in Applied Microbiology 1994; 19(1): 53-6.
10. Nikaeen M, Pejhan A, Jalali M. Rapid monitoring of indicator coliforms in drinking water by an enzymatic assay. Iran J Environ Health Sci Eng 2009; 6(1): 7-10.
11. Chao KK, Chao CC, Chao WL. Suitability of the traditional microbial indicators and their enumerating methods in the assessment of fecal pollution of subtropical freshwater environments. J Microbiol Immunol Infect 2003; 36(4): 288-93.
12. Buckalew DW, Hartman LJ, Grimsley GA, Martin AE, Register KM. A long-term study comparing membrane filtration with Colilert defined substrates in detecting fecal coliforms and Escherichia coli in natural waters. J Environ Manage 2006; 80(3): 191-7.
13. Eccles JP, Searle R, Holt D, Dennis PJ. A comparison of methods used to enumerate Escherichia coli in conventionally treated sewage sludge. J Appl Microbiol 2004; 96(2): 375-83.
14. Hashemi Karouei SM, Eslamifar M, Zazouli MA. Determination of fecal coliform contamination of water supplies in some rural areas of Sari, Iran with most probable number test. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23(104): 89-95. [In Persian].
15. 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 Microbiol Methods 2002; 49(1): 31-54.
16. Geissler K, Manafi M, Amoros I, Alonso JL. Quantitative determination of total coliforms and Escherichia coli in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. J Appl Microbiol 2000; 88(2): 280-5.
17. George I, Petit M, Servais P. Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters. J Appl Microbiol 2000; 88(3): 404-13.
18. Caruso G, Crisafi E, Mancuso M. Development of an enzyme assay for rapid assessment of Escherichia coli in seawaters. J Appl Microbiol 2002; 93(4): 548-56.
19. Fricker EJ, Fricker CR. Use of two presence/absence systems for the detection of E. coli and coliforms from water. Water Research 1996; 30(9): 2226-8.
20. George I, Petit M, Theate C, Servais P. Use of rapid enzymatic assays to study the distribution of faecal coliforms in the Seine river (France). Water Sci Technol 2001; 43(12): 77-80.
21. Garcia-Armisen T, Prats J, Servais P. Comparison of culturable fecal coliforms and Escherichia coli enumeration in freshwaters. Can J Microbiol 2007; 53(6): 798-801.
22. Edberg SC, Allen MJ, Smith DB. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and Escherichia coli from drinking water: comparison with the standard multiple tube fermentation method. Appl Environ Microbiol 1988; 54(6): 1595-601.

Archive of SID

www.SID.ir
www.mui.ac.ir

Journal of Health System Research
Vol. 12, No. 1, Spring 2016
Received: 12.02.2015
Accepted: 27.07.2015

Comparison of Microbial Quality Assessment of Water Sources Using Multiple Tube Fermentation Technique and Enzymatic Assay

Maryam Hatamzadeh[1], Bibi Fatemeh Nabavi[1], Mahnaz Nikaien[2], Akbar Hassanzadeh[3]

Original Article

Abstract

Background: Microbial monitoring of aquatic sources is essential in the correct management of these vital sources. Multiple tube fermentation (MTF) technique is currently used for assessment of the microbial quality of water sources. However, today enzymatic assay has been presented as an alternative approach for detecting indicator bacteria. The purpose of this study was to compare enzymatic assay with MTF technique in terms of the detection of total and fecal coliforms in potable and non-potable waters.

Methods: A total of 64 samples were collected from different water sources (potable, spring, well, and aqueduct water, and wastewater effluent). Detection of total and fecal (Escherichia coli) coliforms was performed using MTF method and enzymatic assay using LMX broth. The relationship between the parameters measured by the two methods was tested using the Pearson correlation. The sensitivity, specificity, and accuracy of enzymatic assay were also evaluated.

Findings: Statistical analysis of results showed a high correlation between total and fecal coliform measurements by the two methods. Enzymatic assay had a sensitivity, specificity, and accuracy of 92, 95, and 94 percent, respectively.

Conclusion: Due to the advantages of enzymatic assay, such as its relatively high sensitivity, accuracy, and speed, and simultaneous detection of total coliforms and E. coli, enzymatic assay using LMX can be used as an alternative method to MTF.

Keywords: Enzymatic assay, Multiple tube fermentation (MTF), Microbial quality, Water sources, LMX

Citation: Hatamzadeh M, Nabavi BF, Nikaien M, Hassanzadeh A. **Comparison of Microbial Quality Assessment of Water Sources Using Multiple Tube Fermentation Technique and Enzymatic Assay.** J Health Syst Res 2016; 12(1): 84-9.

Archive

1- Environment Research Center AND Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Environment Research Center AND Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Lecturer, Department of Statistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mahnaz Nikaien, Email: nikaeen@hlth.mui.ac.ir

www.SID.ir