Archive of SID
DOI: 10.22059/ijswr.2019.290039.668335 تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۱، شماره ۳، خرداد ۱۳۹۹ (ص ۶۴۰-۶۲۹)

Investigation of Radish and Parsley Vegetables Contamination to Antibiotic Resistant Bacteria - A Case Study, Guilan Province

MOHAMMAD BAGHER FARHANGI[1*], SAJJAD ABDOLLAHZADEH[1], MAHMOUD SHABANPOUR[1], NASRIN GHORBANZADEH1

1. Soil Science Department, Faculty of agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: Oct. 2, 2019- Revised: Dec. 16, 2019- Accepted: Dec. 17, 2019)

ABSTRACT

Manure application and irrigation practice with wastewaters in olericulture may introduce antibiotics and antibiotic resistant bacteria to soil which may contaminate edible vegatables. The aim of this study was to investigate the antibiotic resistant bacteria isolated from radish (*Raphanus sativu*) and parsley (*Petroselinum crispum* L.) and their cultivated soils. Three vegetable farms were selected in Pirbazar, Chaboksar and Fouman areas in Guilan province. Samples were taken from vegetables and soils at three replications. After making serial dilution, their heterotrophic and coliform bacteria number were determined on NA and EMB agar media respectively, containing 100 µg/mL antibiotic. Four antibiotics including cephalexin, ciprofloxacin, gentamicin and trimethoprim were tested. Antibiotic resistant index (ARI) was calculated by dividing bacteria colony numbers on each antibiotic contained medium to control (medium without antibiotic). Data were analyzed as split-split plot design with three locations as main plot sector, two olericulture fields as sub-plot and four antibiotics as sub-sub plot factor. The effect of antibiotic was significant on the vegetable and soil bacteria ARI (p<0.05). But the effect of sampling area and farm (radish and parsley farms) were significant only on the heterotrophic and coliform bacteria ARI, respectively (p <0.01). In Chaboksar area, 29% of vegetable's heterotrophic bacteria and 42% of soil coliforms were resistant to gentamicin. The highest coliform ARI (38%) was obtained in radish and was to gentamicin. Overall, culturable bacteria from vegetables of Chaboksar area had higher antibiotic resistance index and eating fresh vegetables cultivated in this area is not recommended.

Keywords: Antibiotic Rsistant Index, Chaboksar, Coliforms, Gentamicin

* Coresponding Author's E-mail: m.farhangi@guilan.ac.ir
www.SID.ir

Archive of SID

بررسی آلودگی دو سبزی ترب و جعفری به باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک- مطالعه موردی استان گیلان

محمدباقر فرهنگی [1*]، سجاد عبداله‌زاده [1]، محمود شعبانپور [1]، نسرین قربان‌زاده [1]

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۱۰- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۹/۲۵- تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۹/۲۶)

چکیده

کاربرد کود دامی در سبزی‌کاری‌ها و آبیاری آن‌ها با فاضلاب می‌تواند مایه رسیدن آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتری‌های پایدار در برابر آن‌ها به خاک شود که در پی آن سبزی‌های خوراکی به آن‌ها آلوده می‌شوند. هدف این پژوهش بررسی باکتری‌های پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک در دو سبزی ترب و جعفری و خاک زیر کشت آن‌ها بود. سه کشت‌زار سبزی‌کاری در شهرهای پیربازار، چابکسر و فومن استان گیلان گزینش شدند. از سبزی‌ها و خاک در سه تکرار نمونه‌برداری شد. شمار باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم آن‌ها پس از ساخت سری رقت، به‌ترتیب در محیط‌های کشت NA و EMB که دارای ۱۰۰ µg/mL از هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم، جنتاماسین، سفالکسین و سیپروفلوکساسین بود، شمارش گردید. شناسه پایداری باکتری‌ها به هر آنتی‌بیوتیک، از تقسیم شمار کلونی‌ها در پتری دارای آن آنتی‌بیوتیک بر شمار کلونی‌ها در پتری گواه (بدون آن) برآورد شد. داده‌ها در قالب طرح کرت‌های دوبار خرد شده آنالیز شدند. تیمارها شامل جایگاه نمونه‌برداری (در سه سطح) به عنوان کرت اصلی، گونه سبزی (در دو سطح) به عنوان کرت فرعی و گونه آنتی‌بیوتیک (در ۴ سطح) کرت فرعی-فرعی بودند. پیامد گونه آنتی‌بیوتیک بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های سبزی‌ها و خاک معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) اما پیامد جایگاه نمونه‌برداری و گونه کشت سبزی (ترب و جعفری) به ترتیب تنها بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری-های هتروتروف و کلی‌فرم سبزی‌ها معنی‌دار شدند ($p<۰/۰۱$). در جایگاه چابکسر ۲۹ درصد باکتری‌های هتروتروف سبزی‌ها و ۴۲ درصد کلی‌فرم‌های خاک به جنتامایسین پایدار بودند. بالاترین اندازه شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی کلی‌فرم‌ها (۳۸ درصد) در سبزی ترب و در برابر جنتامایسین به دست آمد. روی‌هم‌رفته باکتری‌های قابل‌کشت سبزی‌ها در جایگاه چابکسر دارای شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک بالاتری بودند و کاربرد تازه‌خوری سبزی‌های کشت شده در این جایگاه پیشنهاد نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: جنتامایسین، چابکسر، شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک، کلی‌فرم‌ها.

مقدمه

در دنیا ۶۰ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی زیر کشت سبزی و صیفی قرار دارد. در کشور ما نیز ۸۰۰ هزار هکتار از زمین‌های کشاورزی به کشت سبزی و صیفی اختصاص یافته که سالانه ۲۵ میلیون تن از آن‌ها برداشت می‌شود. کاربرد سالانه کود شیمیایی در زمین‌های کشاورزی ایران چهار میلیون و ۶۰۰ هزار تن برآورد شده است (Ministry of Agriculture, 2009) که بخش زیاد آن در کشت و پرورش سبزی‌هاست. چراکه این گیاهان کاربرد سبزینه‌ای دارند و عناصر تغذیه‌ای به ویژه نیتروژن در تولید آن‌ها بسیار سودمند است.

در گذشته به دلیل مدیریت باهمِ کشاورزی و دامداری و نبود کودهای شیمیایی، از کودهای دامی بهره گیری می‌شد (Rezai, 2013). در سوی دیگر، این روزها دوباره به کاربرد هرچه بیشتر این کودها در راستای کشاورزی پایدار و ارگانیک پافشاری می‌شود. ضمن این‌که بخش زیادی از کشت سبزی و صیفی به صورت محلی و در مناطق روستایی برای مصرف خانوار انجام می-شود که در آن‌ها هم کاربرد کودهای دامی زیاد است و هم در بیشتر موارد مدیریت نادرست در کاربرد این کودها انجام می‌شود. به هر روی، بهره‌گیری از کودهای دامی دشواری هایی را نیز در پی دارد که شامل انتقال بذر علف‌های هرز و عوامل بیماری‌زای گیاهی به کشت‌زارها و مسائل بهداشتی در زمینه سلامتی انسان است (Rezai, 2013).

عوامل بیماری‌زای موجود در کودهای دامی پس از کاربرد در خاک می‌تواند از طریق میوه‌ها و سبزی‌ها به انسان منتقل شده و سبب بیماری و در برخی موارد مرگ مصرف‌کنندگان شود. حدود ۱۵۰ بیماری عفونی مشترک بین انسان و دام شناسایی شده است (Pell, 1997). در پژوهش‌های زیادی وجود عوامل بیماری-زای مشترک بین انسان و دام در کود و میوه‌ها و سبزی‌های آلوده

* نویسنده مسئول: m.farhangi@guilan.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

گزارش شده است (Fisher and Golden, 1998; Dingman, 2000). در میان باکتری‌های خطرناک که از راه کاربرد مواد خوراکی آلوده به کود دامی سبب بیماری در انسان می‌شوند، *Escherichia coli*، *Salmonella* spp. و *Listeria monocytogenes* اهمیت زیادی دارند (Pell, 1997). سویه O157:H7 باکتری *E. coli* که در آب، غذا و گوشت چرخ کرده و سبزی‌های آلوده یافت می‌شود، یکی از مرگ‌بارترین سویه‌های باکتری‌های روده‌ای است. این سویه به صورت نرمال در روده گاو سالم زندگی می‌کند (Madigan *et al.*, 2010) و از فضولات دیگر جانوران خونگرم نیز جداسازی شده است (Mohammed Hamzeh *et al.*, 2013). بنابراین، این سویه در کودهای دامی فراوان دیده شده است. خوردن ناچیز در حد ۱۰۰ میکروگرم کود گاوی آلوده به باکتری *E. coli* O157:H7 همراه سبزی‌ها می‌تواند باعث بروز بیماری و حتی سبب مرگ انسان شود (Jones, 1999). خوردن اسفناج آلوده شده به این باکتری در ایالات متحده امریکا سبب گسترش بیماری در ایالت کالیفرنیا در سال ۲۰۰۶ شد. منبع آلودگی کود جانوران اهلی کشت‌زار اسفناج بود (Madigan *et al.*, 2010).

امروزه به دلیل گرایش زیاد به بهره گیری از کودهای دامی، فرآوری و فروش فضولات دام‌ها در دام‌داری‌های بزرگ مطرح است (Rezai, 2013). صنعت دام‌پروری در جهان دومین مصرف کننده بزرگ آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون است که برای پیش‌گیری، کنترل و درمان بیماری دام‌ها و نیز به عنوان افزاینده رشد دام‌ها از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شود (Hughes and Heritage, 2004). Rasouli and Faghihi (2014) در بررسی تنوع آنتی‌بیوتیک‌های مصرف شده در ۱۲۰ واحد گاوداری در استان تهران دیدند که اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین به اضافه استرپتومایسین به ترتیب در ۱۰۰ و ۹۳ درصد دام‌داری‌های بررسی شده مصرف شده است. کاربرد این مواد دارویی سبب انتقال خود آنتی‌بیوتیک‌ها و هم‌چنین باکتری‌های پایدار در برابر آنها به محیط شده است (Baguer *et al.*, 2000) و نگرانی بسیار بزرگی در زمینه انتقال آنها به زنجیره غذایی انسان و درمان بیماری‌هایی که سبب می‌شوند را ایجاد کرده است (Clementi and Aquilanti, 2011; Phillips *et al.*, 2004). بنابراین، سبزی‌هایی که امروزه در حضور کود دامی آلوده پرورش می‌یابند یا در آبیاری آن‌ها از فاضلاب بهره‌گیری می‌شود، می‌توانند با انتقال پاتوژن‌های بیماری‌زای پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک و عوامل ژنتیکی پایداری شرایط درمان را بدتر نمایند (US Food and drug administration, 2011; Azanu *et al.*, 2016).

سبزی‌های تازه منبع خوب عناصر غذایی هستند و ارزش تغذیه‌ای بالایی دارند اما می‌توانند فلور میکروبی را از کشت‌زار به روی میز غذاخوری منتقل کنند. خطر انتقال در سبزی‌هایی برگی که کاربرد خام‌خوری و سالادی دارند بیشتر است. اگر این سبزی‌ها به باکتری‌های پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک آلوده باشند می‌توانند این باکتری‌ها را به دستگاه گوارش انسان منتقل می‌کنند (Österblad *et al.*, 1999).

بنابراین، با توجه کاربرد کودهای دامی در کشت سبزی‌ها و همچنین حضور سبزی‌های خوراکی با کاربرد خام‌خوری در سبد غذایی، این پژوهش با هدف بررسی حضور باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در سبزی‌های ترب (*Raphanus sativus*) و جعفری (*Petroselinum crispum* L.) و خاک زیرکشت آن‌ها و در سه نقطه از استان گیلان طراحی و انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

برای انجام این پژوهش سه کشت‌زار از مناطق پیربازار، چابکسر و فومن به عنوان هدف گزینش شدند. این کشت‌زارها از جایگاه‌های عمده سبزی‌کاری در استان گیلان به‌شمار می‌آیند. ملاک انتخاب بهره‌گیری از کود دامی در کشت سبزی‌ها و آبیاری آن‌ها با آب‌های تصفیه نشده بود. در این کشت‌زارها از برگ (قسمت هوایی) سبزی‌های ترب (*Raphanus sativus*) و جعفری (*Petroselinum crispum* L.) نمونه‌برداری در پاکت‌های سترون انجام گرفت. از خاک زیر کشت سبزی‌ها در هر کشت‌زار نیز نمونه‌برداری شد. همه نمونه‌ها در سه تکرار برداشته شدند.

کشت و شمارش باکتری‌ها

۴۰ گرم (وزن تر) از نمونه سبزی به دقت شسته شد. شست و شو در آب مقطر سترون و برای سه بار انجام شد. این کار برای زدودن ذرات گرد و غبار و حذف باکتری‌های همراه با آن‌ها از روی سبزی‌ها انجام شد. چرا که باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک درون‌زی برگ (بافت گیاهی) بنا بود بررسی شوند. طبیعی است که با این روش بخشی از باکتری‌های سطح برگ نیز شسته نمی‌شوند و همراه باکتری‌های درون‌زی برگ بررسی خواهند شد. با این وجود، سطح برگ ضدعفونی نشد تا شبیه‌ساز شست و شو در منزل برای خام خوری سبزی ها باشد. در گام بعد برای تهیه سوسپانسیون، ۴۰ گرم نمونه سبزی شسته و خرد شده به ۳۶۰ میلی‌لیتر محلول پپتون یک درصد سترون افزوده شد. سوسپانسیون‌ها برای ۳۰ دقیقه روی شیکر دورانی با ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از تهیه سوسپانسیون، رقیق سازی

www.SID.ir

Archive of SID

ده برابری انجام شد و از رقت مورد نظر کشت باکتری‌ها به روش پخش در پلیت انجام شد (Schwaiger *et al.*, 2011). برای تهیه سوسپانسیون از خاک نیز از نمک سدیم پیروفسفات سترون ۰/۱۸ درصد بهره گیری شد (Alef and Nannipieri, 1995).

برای شمارش باکتری‌های هتروتروف از محیط نوترینت آگار (NA) و برای شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت ائوزین متیلن بلو (EMB) بهره گیری شد. در محیط NA سایر میکروارگانیسم‌ها به ویژه قارچ‌ها نیز می‌توانند رشد کنند. بنابراین در پتری‌هایی که کلنی آنها قابل شناسایی بود و در صورتی که زیاد بودند پتری مورد نظر از پروسه شمارش حذف می شد. اکتینومایست‌ها نیز معمولاً سخت‌گیرند و در محیط NA رشد نمی‌کنند. ضمن اینکه آن‌ها کند رشدند و در محدوده زمانی ۴۸ ساعت که کلنی‌ها شمارش می‌شدند معمولاً پدیدار نمی‌شدند. محیط EMB نیز خود دارای ماده بازدارنده رشد (رنگ‌های متیلن بلو و ائوزین Y) برای باکتری‌های گرم-مثبت می‌باشد و امکان رشد دیگر باکتری‌های گرم-منفی در آن نیز به دلیل دمای بالای گرماگذاری کم است (Environment Agency, 2002).

برای بررسی پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم‌ها، مایه‌زنی هم‌زمان از رقت مناسب سوسپانسیون‌های سبزی‌ها و خاک‌ها به ترتیب در محیط‌های کشت NA و EMB بدون آنتی‌بیوتیک و با آنتی‌بیوتیک (۱۰۰ µg/mL) انجام شد. روشن است که باکتری‌های گوناگون به غلظت‌های مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند. اما چون در این پژوهش گروه باکتری‌ها بررسی شدند از بالاترین سطوح غلظت آنتی-بیوتیک (یعنی ۱۰۰ µg/mL) برای بررسی بروز مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌ها استفاده شد. طبیعی است که برخی از باکتری-ها به سطوح پایین‌تر آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده مقاوم بوده و در این سطح به کار رفته آنتی‌بیوتیک نتوانند مقاومت نشان دهند و بنابراین در محاسبه شاخص مقاومت به حساب نیامده باشند. اما هدف پژوهش سخت‌گیرانه بوده و غلظت‌های بالای آنتی‌بیوتیک در زیستگاه‌ها ملاک قرار گرفته است.

پس از مایه‌زنی، پتری‌های NA در دمای ۲۷ و پتری‌های EMB در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت انکوباسیون شدند. پس از زمان گفته شده کلونی‌های رشد کرده در روی همه پتری‌ها شمارش شدند (Van Den Bogaard *et al.*, 2000) و شمار آن‌ها بر پایه واحد سازنده کلنی (CFU) در گرم وزن ترِ سبزی یا وزن خشک خاک بیان شد. شناسه پایداری باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، با تقسیم کردن میانگین شمار کلونی‌های پدیدار شده (CFU) روی پتری دارای آنتی‌بیوتیک بر میانگین شمار کلونی‌های پدیدار شده روی پتری بدون آنتی‌بیوتیک برآورد شد. با ضرب نسبت برآورد شده در ۱۰۰، درصد پایداری به‌دست آمد (Rizzo et al. 2013).

در این پژوهش از آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم (Trimethoprim) (از سولفونامیدها)، جنتامایسین (Gentamicin) (از آمینوگلیکوسیدها)، سفالکسین (Cephalexin) (از سفالوسپورین‌های نسل اول و از گروه بتا-لاکتام‌ها) و سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) (از فلوروکینولون‌ها) بهره‌گیری شد. تلاش شد از هر کلاس آنتی-بیوتیک با توجه به مکانیسم عمل یک نمونه بررسی شود. همه آنتی‌بیوتیک‌های به کار رفته کاربرد آزمایشگاهی داشته و از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شدند.

داده‌ها برای باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم سبزی‌ها و خاک به صورت جداگانه در قالب طرح کاملا تصادفی با آزمایش کرت‌های دوبار خرد شده (Split-Split plot) تحلیل شدند. عامل اصلی جایگاه نمونه‌برداری در سه سطح (چابکسر، پیربازار و فومن)، عامل فرعی کشت‌زار سبزی در دو سطح (جعفری و ترب) و عامل فرعی-فرعی نیز سطوح آنتی‌بیوتیک در چهار سطح (تری-متوپریم، جنتامایسین، سفالکسین و سیپروفلوکساسین) بود. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد و میانگین داده‌ها نیز با آزمون توکی مقایسه شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel بهره‌گیری شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس پیامد منقطه نمونه‌برداری، نوع کشت‌زار سبزی، گونه آنتی‌بیوتیک و برهم‌کنش آن‌ها بر شناسه پایداری به آنتی-بیوتیک باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم سبزی‌ها و خاک زیر کشت آنها در جدول (۱) آمده است. پیامد جایگاه نمونه‌برداری تنها بر شناسه پایداری هتروتروف سبزی‌ها و پیامد نوع کشت‌زار سبزی تنها بر شناسه پایداری کلی‌فرم سبزی‌ها معنی‌دار بودند ($p<۰/۰۱$). پیامد گونه آنتی‌بیوتیک‌ها نیز بر شناسه پایداری باکتری‌های سبزی‌ها و خاک زیرکشت آنها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). پیامد برهم‌کنش جایگاه نمونه‌برداری در نوع کشت‌زار سبزی بر هیچ‌کدام از پارامترها و پیامد برهم‌کنش آن با گونه آنتی‌بیوتیک تنها بر شناسه پایداری کلی‌فرم سبزی‌ها معنی‌دار نبود. پیامد برهم‌کنش نوع کشت‌زار سبزی در آنتی‌بیوتیک نیز بر شناسه پایداری باکتری‌های (هتروتروف و کلی‌فرم) سبزی‌ها و پیامد برهم‌کنش سه تایی جایگاه نمونه‌برداری در کشت‌زار سبزی در گونه آنتی‌بیوتیک تنها بر باکتری‌های هتروتروف سبزی‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه واریانس پیامد منقطه نمونه‌برداری، کشت‌زار سبزی، گونه آنتی‌بیوتیک و برهم‌کنش آن‌ها بر شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم سبزی‌ها و خاک زیر کشت آن‌ها

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربع‌ها			
		سبزی		خاک	
		هتروتروف‌ها	کلی‌فرم‌ها	هتروتروف‌ها	کلی‌فرم‌ها
تکرار (R)	۲	۷۱/۲۷^{ns}	۲۸۰/۵۲^{ns}	۲۷/۱۲^{ns}	۲۹۱/۵۸^{ns}
جایگاه نمونه‌برداری (L)	۲	۳۲۵۳/۹۲**	۳۴۳/۰۱^{ns}	۸۶/۷۱^{ns}	۲۵۶۷/۲۰^{ns}
R*L	۴	۲۲/۲۳^{ns}	۲۵۴/۳۸^{ns}	۲۷/۴۸^{ns}	۸۷/۲۷^{ns}
کشت‌زار سبزی (V)	۱	۴۲/۷۹^{ns}	۲۴۶۷/۹۳**	۱۷/۳۹^{ns}	۹۸/۲۹^{ns}
L*V	۲	۵۵۹/۱۰^{ns}	۶۱/۵۵^{ns}	۱۷/۸۵^{ns}	۶۴۵/۷۸^{ns}
R(L*V)	۶	۱۵۷/۶۷**	۱۸۳/۴۱^{ns}	۲۴/۵۸^{ns}	۱۵۹۵/۸۵**
آنتی‌بیوتیک (A)	۳	۳۵۹/۰۰**	۲۱۸۰/۷۷**	۹۳/۸۱*	۲۹۹۱/۴۰**
L*A	۶	۸۷/۲۹*	۸۷/۲۳^{ns}	۹۲/۰۶**	۵۱۴/۷۶**
V*A	۳	۱۷۷/۷۸**	۴۹۷/۶۲*	۱۸/۳۹^{ns}	۳۳۳/۲۳^{ns}
L*V*A	۱	۱۶۴/۶۶**	۱۰۵/۴۲^{ns}	۱۷/۴۶^{ns}	۹۸/۲۱^{ns}
خطا	۶	۲۷/۷۸	۱۲۹/۴۹	۲۵/۹۷	۱۲۴/۱۲

*، ** به ترتیب بیان‌گر معنی‌دار بودن در سطح خطای ۵ و ۱ درصد و ^{ns} بیان‌گر معنی‌دار نبودن در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک در مناطق سبزی‌کاری

مقایسه میانگین پیامد جایگاه نمونه‌برداری، کشت‌زار سبزی و گونه آنتی‌بیوتیک بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها در جدول (۲) آمده است. شناسه پایداری باکتری‌های هتروتروف جدا شده از سبزی‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده در جایگاه چابکسر بیشتر از دیگر نقاط نمونه‌برداری شده بود و با آنها تفاوت آماری معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). این شناسه در جایگاه پیربازار بیشتر از فومن بود ولی با آن تفاوت آماری معنی‌دار نداشت. در کل، شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها (هتروتروف و کلی‌فرم‌ها) در جایگاه چابکسر بیشتر از پیربازار و آن‌هم بیشتر از فومن بود. ۳۲/۷۴ درصد کلی‌فرم‌های جدا شده از خاک در جایگاه چابکسر در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها پایدار بودند که بیشترین درصد شناسه پایداری اندازه‌گیری شده بود (جدول ۲). درباره نوع کود دامی و اندازه کاربرد آن در مزارع سبزی اطلاعات زیادی در دست نیست اما از آنجا که کشت‌زار نمونه‌برداری در پیربازار وسیع‌تر بود، به نظر می‌رسد بیشتر از کودهای شیمیایی در آن بهره‌گیری می‌شود. در مناطق چابکسر و فومن که محلی بودند بیشتر کود دامی بهره‌گیری می‌شود و احتمالا دلیل درصد بالای شناسه پایداری کلی‌فرم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها در چابکسر همین باشد. ضمن این‌که در مناطق روستایی آبیاری سبزی‌ها معمولاً با آب زیرزمینی انجام می‌شود که این آب‌ها می‌توانند به فاضلاب انسانی آلوده شده باشند.

در پژوهشی که در شیراز و بر روی سبزی‌های مصرفی و آب آبیاری آن‌ها از نظر میزان باکتری‌های کلی‌فرم انجام شد پژوهش‌گران به این نتیجه رسیدند که کیفیت آلودگی میکروبی آب‌های بکار رفته جهت آبیاری سبزی‌های خام بر بهداشت آن‌ها به‌عنوان انتقال دهنده‌های بیماری‌های عفونی گوارشی اثر گذاشته که گویای نقش ارزشمند کنترل کیفی این منابع در جلوگیری از رخداد طغیان‌های عفونی و سلامت جامعه است. آن‌ها با نمونه‌گیری از سه گونه سبزی خوراکی ریحان، تره و خرفه از ۹ جایگاه مختلف همراه با منابع آبی آبیاری آنها در شیراز دیدند که بین جنس‌های باکتریایی جداشده از نمونه آب چاه ۹ جایگاه کشت مورد مطالعه با جنس‌های جداشده از سبزی‌ها در همان مناطق به‌ترتیب ۴۰، ۶۰، ۳۳/۵، ۲۸/۵، ۵۰، ۵۰، ۶۰ و ۱۶/۵ درصد هم‌پوشانی وجود داشت (Aminshahidi *et al.*, 2018). Safari Sinegani *et al.* (2018) در بررسی آلودگی خاک و سبزی‌های آبیاری شده با پساب شهری پالایش نشده به کلی‌فرم‌های روده‌ای در سبزی‌کاری‌های پیرامون شهر همدان دیدند که آبیاری با پساب پیامد بسیار معنی‌داری بر شمار کلی‌فرم‌های لاکتوز منفی در سبزی‌ها داشت. آن‌ها هم‌چنین دیدند که فراوانی کلی‌فرم‌های لاکتوز مثبت و منفی درون سبزی‌ها با فراوانی این باکتری‌ها در خاک هم‌بستگی نداشت اما با شمار این کلی‌فرم‌ها در آب آبیاری هم‌بستگی قوی نشان داد. اما در این پژوهش بین باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم پایدار در سبزی‌ها با گروه باکتری‌های نظیر خود در خاک هم‌بستگی معنی‌داری دیده شد (p<۰/۰۵) (جدول ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین پیامد مناطق نمونه‌برداری، کشت‌زار سبزی و گونه آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی (درصد) باکتری‌ها هتروتروف و کلی‌فرم سبزی‌ها و خاک

	سبزی		خاک	
	هتروتروف‌ها	کلی‌فرم‌ها	هتروتروف‌ها	کلی‌فرم‌ها
	---------- جایگاه نمونه‌برداری ----------			
چابکسر	۲۲/۲۶[a]	۱۰/۳۵[a]	۳/۴۱[a]	۳۲/۷۴[a]
پیربازار	۴/۱۷[b]	۸/۰۰[a]	۰/۰۶[a]	۱۴/۶۸[a]
فومن	۰/۵۲[b]	۹/۵۲[a]	۰/۱۷[a]	۱۴/۹۷[a]
	---------- کشت‌زار سبزی ----------			
جعفری	۹/۷۶[a]	۳/۴۴[b]	۱/۷۱[a]	۲۱/۹۶ [a]
ترب	۷/۲۲[a]	۱۵/۱۴[a]	۰/۷۲[a]	۱۹/۶۳ [a]
	----------آنتی‌بیوتیک----------			
جنتامایسین	۱۵/۶۷[a]	۲۵/۳۸[a]	۴/۶۴[a]	۳۳/۳۰[a]
سفالکسین	۶/۳۳[b]	۴/۰۵[b]	۰/۲۱[ab]	۵/۴۹[b]
سیپروفلوکساسین	۶/۷۹[b]	۶/۸۸[b]	۰/۰۱[b]	۱۴/۹۸[b]
تری‌متوپریم	۷/۱۶[b]	۰/۸۵[b]	۰/۰۱[b]	۲۹/۴۱[a]

بودن حروف متفاوت در بالای میانگین‌ها در هر سطح فاکتور و هر ستون بیان‌گر بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد احتمال خطا است.

در جدول (۳) مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش مناطق نمونه‌برداری در گونه آنتی‌بیوتیک برشناسه پایداری به آنتی-بیوتیک باکتری‌ها آمده است. بالاترین میانگین درصد شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در هتروتروف‌های جدا شده از سبزی‌ها و خاک زیرکشت آن‌ها در جایگاه چابکسر و در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به دست آمد و تفاوت آن‌ها در هر گروه (یعنی هتروتروف‌های جدا شده از سبزی و خاک) با سایر تیمارها از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). کم‌ترین اندازه میانگین درصد شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در هتروتروف‌های جدا شده از سبزی‌ها در مناطق پیربازار و فومن و در برابر آنتی‌بیوتیک تری-متوپریم به دست آمد که با شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در برابر سفالکسین و سیپروفلوکساسین در همین جایگاه و شناسه پایداری در برابر همه آنتی‌بیوتیک‌ها در جایگاه فومن تفاوت آماری معنی‌دار نداشت. کم‌ترین اندازه میانگین درصد شناسه پایداری هتروتروف‌های جدا شده از خاک در جایگاه پیربازار و در برابر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به دست آمد که به جز شناسه پایداری در برابر جنتامایسین در جایگاه چابکسر با سایر تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار نداشت.

بالاترین اندازه میانگین شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی کلی-فرم‌های جدا شده از خاک در جایگاه چابکسر و در برابر آنتی-بیوتیک جنتامایسین به دست آمد که با شناسه پایداری آنتی-بیوتیک در برابر سیپروفلوکساسین و تری‌متوپریم در همین جایگاه و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در جایگاه پیربازار تفاوت آماری معنی‌دار نداشت. کم‌ترین اندازه شناسه پایداری این باکتری‌ها نیز در جایگاه پیربازار و در برابر آنتی‌بیوتیک سفالکسین به دست آمد که با آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در همین جایگاه و با هر دو آنتی‌بیوتیک گفته شده در جایگاه فومن تفاوت آماری معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$).

آنتی‌بیوتیک جنتامایسین از آمینوگلیکوزیدهاست که بیشتر برای درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های گرم منفی مانند عفونت‌های ادراری و روده‌ای به کار می‌رود. همه آمینوگلیکوزیدها با چسبیدن به زیر واحد 30S ریبوزوم جلوی ساخت پروتئین در باکتری‌ها را می‌گیرند و بنابراین اثر باکتری-کُشی دارند (Michael and Weinstein, 2011). باکتری‌ها به چندین روش می‌توانند پایداری اکتسابی به آنتی‌بیوتیک‌ها را کسب کنند. سد غشای بیرونی و جلوگیری از نفوذ آنتی‌بیوتیک به دورن یاخته، غیرفعال‌سازی آنتی‌بیوتیک در بیرون یاخته، بیان ژن پمپ‌های برون ریز آنتی‌بیوتیک، دست‌کاری جایگاه هدف، و زندگی در بیوفیلم که با روش‌های گوناگون مانند جلوگیری از انتشار آنتی‌بیوتیک کار می‌کند از آن جمله هستند. پایداری باکتری‌های گوناگون به آمینوگلیکوزیدها که آنتی‌بیوتیک‌های با جرم مولکولی کم هستند با روش‌های سد غشای بیرونی (جلوگیری از چسبیدن به لیپوپلی‌ساکاریدها)، پمپ برون ریز (پمپ mexXY-oprM)، و زندگی در بیوفیلم (جلوگیری از انتشار

www.SID.ir

Archive of SID

در بیوفیلم) گزارش شده است (Stewart and Costerton, 2001; Martinez, 2009)

اما تری‌متوپریم یک آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک پرکاربرد است که در درمان عفونت‌های ادراری کاربرد دارد. تری‌متوپریم با اختلال در کارکرد آنزیم دی‌هیدروفولات ریداکتاز باکتری‌ها ساخت اسید تتراهیدروفولیک را مهار می‌کند. بنابراین، باکتری‌هایی که اسید فولیک را خودشان تولید می‌کنند به این دارو حساس هستند. ریزجانداران آزادزی معمولاً به سولفونامیدها (تری‌متوپریم و سولفامتوکسازول) حساس‌اند. چراکه آن‌ها نمی‌توانند از منابع فولات بیرونی بهره‌گیری نمایند و مجبورند آن را از نو بسازند (Fan et *al*., 1992). به هر روی، برخی از باکتری‌های گرم-مثبت (*Staphylococcus* spp.، *Streptococcus* spp.، *Entrococcus* spp.) (Hamilton-Miller, 1988) می‌توانند تیمیدین را جذب نموده و فعالیت تری‌متوپریم را دور بزنند و به آن پایدار شوند. این پدیده به مسیر بازیابی شناخته (salvage pathway) شده است. بنابراین حساس بودن باکتری‌ها در این پژوهش به این آنتی‌بیوتیک دور از انتظار نیست.

جدول ۳- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش مناطق نمونه‌برداری در آنتی‌بیوتیک بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی (درصد) باکتری‌های هتروتروف سبزی و هتروتروف و کلی‌فرم خاک

تیمار		سبزی	خاک	
		هتروتروف‌ها	هتروتروف‌ها	کلی‌فرم‌ها
چابکسر	جنتامایسین	۲۹/۵۴۷^{a}	۱۳/۶۱۲^{a}	۴۲/۳۵۷^{a}
	سفالکسین	۱۸/۸۹۳^{b}	۰/۰۰۳^{b}	۱۴/۱۲۴^{cd}
	سیپروفلوکساسین	۱۹/۱۵۳^{b}	۰/۰۱۰^{b}	۴۲/۳۰۹^{a}
	تری‌متوپریم	۲۱/۴۶۴^{b}	۰/۰۱۰^{b}	۳۲/۱۵۱^{ab}
پیربازار	جنتامایسین	۱۶/۱۴۰^{b}	۰/۰۸۸^{b}	۲۹/۳۹۹^{ab}
	سفالکسین	۰/۰۴۶^{c}	۰/۱۶۱^{b}	۰/۹۴۵^{e}
	سیپروفلوکساسین	۰/۵۳۰^{c}	۰/۰۰۱^{b}	۱/۵۰۳^{de}
	تری‌متوپریم	۰/۰۰۱^{c}	۰/۰۰۲^{b}	۲۶/۸۷۷^{bc}
فومن	جنتامایسین	۱/۳۱۲^{c}	۰/۲۰۷^{b}	۲۸/۱۳۵^{b}
	سفالکسین	۰/۰۶۰^{c}	۰/۴۷۳^{b}	۱/۴۰۹^{de}
	سیپروفلوکساسین	۰/۶۹۲^{c}	۰/۰۰۲^{b}	۱/۱۱۵^{de}
	تری‌متوپریم	۰/۰۰۱^{c}	۰/۰۰۶^{b}	۲۹/۲۰۴^{b}

بودن حروف متفاوت در بالای میانگین‌ها در هر ستون بیان‌گر بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد احتمال خطا است.

پژوهش‌گران سبزی‌های تازه در آلمان را به عنوان یک حامل و مخزن باکتری‌های پایدار در برابر آنتی بیوتیک را بررسی کردند. برای این منظور ۱۰۰۱ سبزی از ۱۳ کشت‌زار و ۱۱ سوپرمارکت در آلمان نمونه‌برداری شد. میزان پایداری به آنتی‌بیوتیک در باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های کشت‌زار بیشتر از بازارهای خرده‌فروشی بود. زیرا سبزی‌های که به طور مستقیم در کشت‌زار خریداری می‌شوند، احتمالا تازه‌تر بوده و در معرض عوامل تنش قرار نگرفته‌اند تا باکتری‌ها از بین بروند (Schwaiger *et al*., 2011). Hassan *et al*. (2011) بار باکتریایی و بودن باکتری‌های بیماری‌زای پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک را در سبزی‌های برگی مانند اسفناج، کاهو، پیازچه، کرفس، جعفری، کلم، گشنیز، خیار و گوجه‌فرنگی و میوه‌هایی مانند هندوانه و طالبی گردآوری شده از بازار شهر طائف در عربستان را بررسی کردند. در ۱۱/۸ درصد نمونه‌ها *Staphylococcus aureus* و در ۴/۴ درصد نمونه‌ها *Shigella* حضور داشت. سبزی‌ها به ترتیب دارای ۳ تا ۸ $\log_{10}$ CFU g^{-1} (واحد لگاریتم) باکتری هوازی و ۱ تا ۴ $\log_{10}$ CFU g^{-1} کلی‌فرم از خانواده *Enterobacteriaceae* بودند. سویه‌های جدا شده به ترتیب نزولی ذکر شده دارای پایداری به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۷۶/۵ درصد)، سفالوتین (۶۹/۵ درصد)، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول (۳۶/۷ درصد)، آمینوگلیکوسیدها (۲۱/۹ درصد)، تتراسایکلین (۱۷/۲ درصد)، فلوروکینولون‌ها (۱۷/۲ درصد)، آموکسی‌سیلین-کلاوولانیک اسید (۱۳/۳ درصد) و کلرامفنیکول (۷/۸ درصد) بودند. در برخی سویه‌ها پایداری چند دارویی دیده شد و آن‌ها به چهار یا بیش‌تر داروها پایدار بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک در کشت‌زار سبزی‌کاری

شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های جدا شده از خاک در کشت‌زار جعفری بیشتر از کشت‌زار ترب بود و شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک در کلی‌فرم‌های خاک حدوداً بیست برابر بیشتر از هتروتروف‌های خاک بود (جدول ۲)، که احتمالاً به دلیل تنوع و فراوانی بیشتر هتروتروف‌ها در مقایسه با کلی‌فرم‌هاست. بنابراین شمار باکتری‌های پایدار در مقایسه با همه باکتری‌ها کم شده و شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی کم‌تری به دست آمده است.

شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های هتروتروف جدا شده از سبزی‌ها نیز در جعفری بیشتر از ترب بود. اما شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی کلی‌فرم‌های جدا شده از سبزی‌ها با تفاوت آماری معنی‌داری در ترب بیشتر از جعفری بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). بنابراین، از آنجا که تفاوت شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک در کلی‌فرم‌های خاک زیر کشت دو سبزی، بدون تفاوت آماری معنی‌دار در خاک زیرکشت جعفری بیشتر بود، به نظر می‌رسد درون بافت‌های سبزی ترب آنتی‌بیوتیک‌ها یا کلی‌فرم‌های پایدار در برابر آنتی-بیوتیک بیشتری وارد شده‌اند.

این‌که باکتری‌ها درون گیاه به آنتی‌بیوتیک پایدار شده‌اند یا باکتری‌های خاکِ پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به درون گیاه منتقل شده‌اند روشن نیست. برای مورد نخست باید ابتدا آنتی-بیوتیک‌ها از سیستم‌های جذب گیاه در ریشه یا برگ گذر کرده و وارد آن شوند. در بین آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده جنتامایسین و تری‌متوپریم جرم مولکولی کوچکی دارند و انتقال آن‌ها به گیاهان محتمل‌تر است. در زمینه جذب آنتی‌بیوتیک‌ها از آب آبیاری و خاک اصلاح شده با کود دامی و لجن فاضلاب توسط گیاهان و زیست‌توده گیاهی پژوهش‌های زیادی وجود دارد (Kumar *et al.*, 2005; Dolliver *et al.*, 2007; Azanu *et al.*, 2016). برای نمونه گزارش شده است که پیاز، کلم و ذرت، کلروتتراسایکلین را از خاک لوم دارای کود خوک جذب کرده بودند (Kumar *et al.*, 2005)، گندم نیز کلروتتراسایکلین را در دانه‌هایش جذب کرده بود (Tasho and Cho, 2016) و کاهو و هویج تری‌متوپریم جذب کرده بودند (Boxall *et al.*, 2006). در سوی دیگر گزارش شده است که تنها بخش کوچکی از آنتی-بیوتیک‌های موجود در لجن و کود دامی (مانند سولفاتیازول، سولفادیازین، سولفامتازین، سولفادیمتوکسین، کلروتتراسایکلین و تری‌متوپریم) به زیست‌توده‌ی گیاهی راه می‌یابند (Tasho and Cho, 2016).

Dolliver *et al.* (2007) با مطالعه جذب سولفامتازین در چند گیاه از جمله سیب‌زمینی هشدار دادند که گیاهان غده‌ای مانند سیب‌زمینی، هویج و تربچه‌ها چون در تماس مستقیم با خاک هستند بسیار به آلودگی آنتی‌بیوتیکی آسیب‌پذیرند و از آن‌جا که این گیاهان (مانند سیب‌زمینی) در برخی نقاط جهان غذای اصلی هستند وارد شدن کنترل نشده آنتی‌بیوتیک‌ها به سیستم‌های کشاورزی می‌تواند امنیت غذایی را به خطر بیاندازد. در سوی دیگر، Hu *et al.* (2010) با مطالعه جذب آنتی‌بیوتیک-های گوناگون در سبزی‌هایی مانند تربچه، کاهو، گشنیز به این نتیجه رسید که غلظت آنتی‌بیوتیک‌های جذب شده در برگ بیشتر از ساقه و آن‌هم بیشتر از ریشه گیاهان بود. جذب آنتی-بیوتیک‌ها توسط گیاهان تا آن‌جایی هست که بهره‌گیری از توان گیاهان برای جذب و پالایش این آلاینده‌ها از آب و خاک (گیاه-پالایی) نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Li *et al.*, 2008).

در شکل (۱) مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش سبزی در آنتی‌بیوتیک بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های کلی‌فرم و هتروتروف سبزی‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده آمده است. بالاترین اندازه شناسه پایداری باکتری‌های هترتروترف سبزی‌ها در سبزی ترب و در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به دست آمد که تفاوت آماری معنی‌دار با سایر تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$). کمترین اندازه شناسه پایداری این باکتری‌ها نیز در سبزی ترب و در برابر آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم به دست آمد که با سایر آنتی-بیوتیک‌ها به جز جنتامایسین در این سبزی و آنتی‌بیوتیک سفالکسین در سبزی جعفری تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

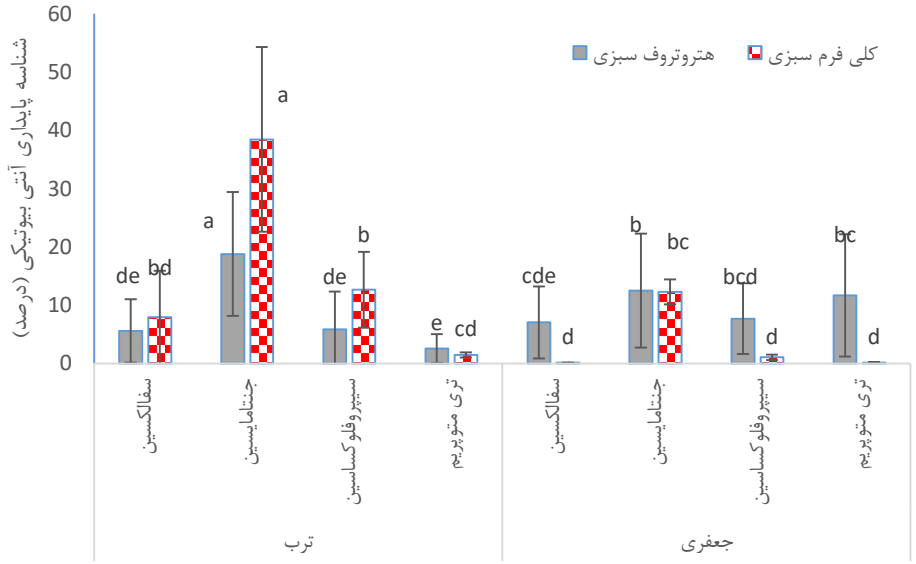
در کلی‌فرم‌های جدا شده از سبزی‌ها، بالاترین اندازه شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی همانند هتروتروف‌ها در سبزی ترب و در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به‌دست آمد که با سایر تیمارها نیز تفاوت آماری معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). کمترین اندازه شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها نیز در سبزی جعفری و در برابر آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم به‌دست آمد که با سایر تیمارها به جز تیمار جعفری-جنتامایسین و ترب-جنتامایسین و سیپروفلوکساسین با سایر تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

Nipa *et al.* (2011) کیفیت میکروبیولوژیک سبزی‌های سالادی مانند گوجه‌فرنگی، خیار، هویج، لیمو، گشنیز، نعنا، فلفل سبز و چغندر را در بازار شهر چیتاگونگ بنگلادش بررسی کردند. پایداری باکتری‌های جدا شده از سبزی‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، جنتامایسین، آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، سفالکسین، کلرامفنیکول و استرپتومایسین بررسی شد. همه سبزی‌ها به شدت به کلی‌فرم‌ها آلوده بودند. در آن پژوهش ۲۶۶ جدایه باکتری در شناسایی شد که فراوانی *Enterobacter* (۲۱/۸ درصد) از همه بیش‌تر و سپس *Pseudomonas* (۱۹/۱۷ درصد)، *Vibrio* (۱۶/۹۲ درصد)، *Lactobacillus* (۱۵/۰۴ درصد)،

www.SID.ir

Archive of SID

Staphylococcus (۱۰/۱۵ درصد)، *Klebsiella* (۹/۰۴ درصد)، *E. coli* (۴/۹۸ درصد)، *Citrobacter* (۲/۲۶ درصد)، *Serratia* (۰/۳۷ درصد) و *Salmonella* (۰/۳۷ درصد) بودند. در ۹۸/۰۶ درصد جدایه‌ها پایداری به دو تا هفت آنتی‌بیوتیک دیده شد.



شکل ۱- مقایسه میانگین پیامد برهم‌کنش گونه سبزی در آنتی‌بیوتیک بر شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی (درصد) باکتری‌های کلی‌فرم و هتروتروف سبزی‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها. بودن حروف متفاوت در بالای میانگین‌ها بیان‌گر بودن تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد احتمال خطا است. نوارهای خطا انحراف خطای استاندارد هستند.

Kabir *et al.* (2014) کیفیت میکروبیولوژیک و پایداری به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های جداشده از سبزی‌ها در داکای بنگلادش را بررسی کردند. هفت گونه سبزی (۷ نمونه از فروشگاه محلی و هفت نمونه از فروشگاه‌های بزرگ) شامل گوجه فرنگی، کلم، گل کلم، باقلا، هویج، تربچه و شلغم جمع‌آوری شد. شمار باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم‌ها تعیین شدند. پایداری باکتری‌ها به ایمیپنم، سفتریاکسون، سولفامتوکسازول، آمپی‌سیلین، جنتامایسین، آزتریئونام، سفیوروکسیم و اُکساسیلین بررسی شد. نمونه‌های فروشگاه‌های محلی *E. coli* بیشتری داشتند (در ۵۷/۱۴ درصد نمونه‌ها) اما در سبزی‌های فروشگاه‌های بزرگ *Pseudomonas* و *Listeria* بیش‌تر بود (در ۷۱/۴۲ درصد نمونه‌ها). باکتری‌های پاتوژن جداشده از سبزی‌های فروشگاه‌های بزرگ پایداری بیش‌تری (در ۶۲/۵ درصد نمونه‌ها) در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها داشتند. پایداری این باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب زیر بود: سفتریاکسون (۹۱/۷ درصد)، آمپی‌سیلین و سفیوروکسیم (۸۳/۳ درصد)، سولفامتوکسازول (۵۸/۳ درصد) و ایمیپنم (۲۵ درصد). پاتوژن‌های جدا شده از سبزی‌های فروشگاه‌های محلی به آزتریئونام (۵۳/۸ درصد)، جنتامایسین (۳۸/۵ درصد) و اُکساسیلین (۳۳/۳ درصد) مقاوم‌تر بودند.

شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون

بالاترین اندازه شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های (هتروتروف و کلی‌فرم) جدا شده از خاک و سبزی‌ها در برابر جنتامایسین به‌دست آمد که در باکتری‌های جدا شده از سبزی‌ها با شناسه پایداری در برابر سایر آنتی‌بیوتیک‌ها تفاوت آماری معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) اما تفاوت آن در باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم جدا شده از خاک زیرکشت سبزی‌ها به ترتیب با شناسه پایداری در برابر سفالکسین و تری‌متوپریم از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). کم‌ترین اندازه شناسه پایداری برای هتروتروف‌های جدا شده از سبزی‌ها و کلی‌فرم‌های جدا شده از خاک در برابر آنتی‌بیوتیک سفالکسین به دست آمد و کم‌ترین شناسه پایداری برای کلی‌فرم‌های جدا شده از سبزی‌ها و هتروتروف‌های خاک در برابر آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم و سیپروفلوکساسین بود (جدول ۲). روی‌هم‌رفته، میانگین شناسه پایداری در برابر همه آنتی‌بیوتیک‌ها در کلی‌فرم‌های خاک بیش‌تر از همه (۲۰/۸ درصد) و در هتروتروف‌های خاک از همه کم‌تر (۱/۲۲ درصد) بود. با بررسی میانگین درصد شناسه پایداری در برابر همه آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک و سبزی‌ها دیده شد که در باکتری‌های جدا شده از خاک این شناسه (۱۱ درصد) با فاصله کمی بیش‌تر از باکتری‌های جدا شده از سبزی‌ها (۹/۱۳ دصد) بود. اما در بررسی گروه باکتری‌ها دیده شد که میانگین شناسه پایداری کلی‌فرم‌ها (۱۵ درصد) حدود سه برابر بیشتر از میانگین آن در هتروتروف‌ها (۵ درصد) بود. در سوی دیگر، با بررسی میانگین شناسه پایداری در همه باکتری‌ها دیده شد که میانگین این شناسه در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۹/۷۴ درصد) حدود سه برابر بیشتر از

www.SID.ir

Archive of SID

میانگین آن در برابر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۷/۱۶ درصد) بود.

به بررسی الگوی پایداری باکتری‌های خاک به آنتی‌بیوتیک‌ها کمتر پرداخته شده است اما پژوهش در این باره در نمونه‌های کلینیکی زیاد است. برای نمونه Soltan Dallal *et al.* (2017) به بررسی الگوی پایداری چندگانه‌ی آنتی بیوتیکی *Shigella sonnei* جدا شده از اسهال کودکان پرداختند و دیدند که این باکتری به آنتی بیوتیک‌های کوتریموکسازول، تتراسایکلین، استرپتومایسین و کلینداماسین پایدار بود. Ebrahimi *et al.* (2009) با پژوهشی درباره‌ی پایداری *Shigella* در فسا به این نتیجه رسیدند که میزان پایداری این باکتری به سیپروفلوکساسین صفر درصد و به جنتامایسین ۱۲/۵ درصد بوده است.

در جدول (۴) هم‌بستگی بین شناسه پایداری در برابر آنتی‌بیوتیک باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم سبزی‌ها و خاک زیرکشت آن‌ها در همه جایگاه‌ها باهم و در هر جایگاه به طور جداگانه آمده است. در کل، شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های هتروتروف سبزی‌ها با کلی‌فرم‌های سبزی‌ها و باکتری‌های خاک هم‌بستگی معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). اما هم‌بستگی شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی کلی‌فرم‌های سبزی‌ها تنها با کلی‌فرم‌های خاک معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های هتروتروف در خاک با کلی‌فرم‌های خاک و سبزی‌ها هم‌بستگی معنی‌دار نشان نداد. در بررسی هم‌بستگی باکتری‌ها در هر جایگاه به طور جداگانه دیده شد که در جایگاه فومن و پیربازار تنها شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های هتروتروف سبزی با کلی‌فرم‌های سبزی هم‌بستگی معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۱$).

جدول ۴- ضرایب هم‌بستگی بین شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های هتروتروف و کلی‌فرم سبزی و خاک در همه جایگاه‌ها و در هر جایگاه جداگانه

	هتروتروف‌های سبزی	کلی‌فرم‌های سبزی	هتروتروف‌های خاک	کلی‌فرم‌های خاک
هتروتروف‌های سبزی	۱			
کلی‌فرم‌های سبزی	۰/۳۵**	۱		
هتروتروف‌های خاک	۰/۲۸*	۰/۱۲ns	۱	
کلی‌فرم‌های خاک	۰/۳۸**	۰/۲۴*	۰/۱۴ns	۱
چابکسر				
هتروتروف‌های سبزی	۱			
کلی‌فرم‌های سبزی	۰/۲۸ns	۱		
هتروتروف‌های خاک	۰/۲۱ns	۰/۱۸ns	۱	
کلی‌فرم‌های خاک	۰/۰۴ns	۰/۳۸ns	۰/۰۶ns	۱
فومن				
هتروتروف‌های سبزی	۱			
کلی‌فرم‌های سبزی	۰/۴۹**	۱		
هتروتروف‌های خاک	-۰/۰۶ns	-۰/۰۴ns	۱	
کلی‌فرم‌های خاک	۰/۱۷ns	۰/۲۳ns	-۰/۲۸ns	۱
پیربازار				
هتروتروف‌های سبزی	۱			
کلی‌فرم‌های سبزی	۰/۸۹**	۱		
هتروتروف‌های خاک	۰/۰۲ns	۰/۰۱ns	۱	
کلی‌فرم‌های خاک	-۰/۰۶ns	۰/۰۵ns	-۰/۱۴ns	۱

***و ** به ترتیب نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد و ns بیانگر معنی‌دار نبودن در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.**

این‌که تا چه اندازه باکتری‌های پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک کلینیکی به زنجیره غذایی راه یافته کم‌تر مطالعه شده است. راه یافتن این آلاینده‌ها به زنجیره غذایی به کشت‌زارهایی که کود دامی دریافت می‌کنند یا با لجن فاضلاب آبیاری می‌شوند، توان برداشت یا جذب آنتی‌بیوتیک‌ها و هم‌چنین باکتری‌های پایدار در برابر آن‌ها توسط گیاهان از محیط و به پویایی و فراهمی زیستی

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌بیوتیک‌ها بستگی دارد که خود تابعی از خاک و ویژگی‌های فیزیکی و زیستی آن است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد جوانه‌زنی، رشد ریشه و سلامت کلی گیاه تحت تاثیر غلظت‌های زیر حد بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌ها نیز قرار می‌گیرد (Pan and Chu, 2016). خطر غلظت‌های بالای آنتی‌بیوتیک‌های موجود در بافت گیاهان برای گیاه‌خواران (حشره‌ها، دام‌ها و انسان) به خوبی ثبت نشده است. به هر روی، این موارد نیازمند پژوهش بیشتر است.

نتیجه‌گیری

شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها (هتروتروف و کلی‌فرم‌ها) در جایگاه چابکسر بیشتر از پیربازار و آن‌هم بیشتر از فومن بود. ۳۲/۷۴ درصد کلی‌فرم‌های جدا شده از خاک در جایگاه چابکسر در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها پایدار بودند. با بررسی سبزی‌ها دیده شد که شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک در خاک زیرکشت جعفری بیشتر بود اما شناسه پایداری به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های درون سبزی‌ها به ویژه کلی‌فرم‌ها، در سبزی ترب بیشتر بود. بالاترین اندازه شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در برابر جنتامایسین به دست آمد و به ترتیب حدود ۳۳ و ۲۵ درصد کلی‌فرم‌های خاک و سبزی‌ها به این آنتی‌بیوتیک پایدار بودند. روی‌هم‌رفته، میانگین شناسه پایداری آنتی‌بیوتیکی در برابر هر چهار آنتی‌بیوتیک در کلی‌فرم‌های خاک بیش‌تر از همه (۲۰/۸ درصد) و در هتروتروف-های خاک از همه کم‌تر (۱/۲۲ درصد) بود. باتوجه به این‌که در این پژوهش سبزی‌ها از کشت‌زارها و به صورت تازه چیده و آنالیز شد و از آن‌جا که امکان آلودگی سبزی‌ها به باکتری‌های پایدار در برابر آنتی‌بیوتیک در مسیر حمل و نقل و فروش به ویژه در بازارهای محلی وجود دارد، بنابراین آنالیز پروفیل پایداری آنتی-بیوتیکی در سبزی‌های بازار می‌تواند تکمیل کننده این پژوهش باشد. ضمن این‌که بررسی و ردیابی ژن‌های پایداری آنتی‌بیوتیکی به ویژه ژن پایداری به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین دانسته‌های بهتر و بیشتری در این زمینه ارائه خواهد کرد. همچنین از آنجا که ملاک انتخاب آنتی‌بیوتیک‌ها در این پژوهش بر اساس مکانیسم عمل آن‌ها بود، اندازه‌گیری غلظت خود آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط می‌تواند پژوهش را روی آنتی‌بیوتیک‌های خاص که در محیط هستند متمرکز نماید و منحصراً به آنها پرداخته شود.

REFERENCES

Alef, K. and Nannipieri, P. (1995). Methods in Applied Soil Microbiological and Biochemistry. Academic Press INC.

Aminshahidi, M., Fani, F., Firoozian, N. and Rafaatpour, N. (2018). An investigation of the contamination of vegetables and the irrigating water with bacteria causing food-borne and water-borne diseases in different areas of the shiraz in summer 95. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 8(1), 708-717. (In Farsi)

Azanu, D., Mortey, C., Darko, G., Weisser, J. J., Styrishave, B. and Abaidoo, R. C. (2016). Uptake of antibiotics from irrigation water by plants. *Chemosphere*, 157, 107-114.

Baguer, A. J., Jensen, J. and Krogh, P. H. (2000). Effects of antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna. *Chemosphere*, 40, 751–757.

Boxall, A. B., Johnson, P., Smith, E. J., Sinclair, C. J., Stutt, E. and Levy, L.S. (2006). Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2288-2297.

Clementi, F. and Aquilanti, L. (2011). Recent investigations and updated criteria for the assessment of antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. *Anaerobe*, 17(6), 394-398.

Dingman, W. D. (2000). Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in bruised apple (*Malus domestica*) tissue as influenced by cultivar, date of harvest, and source. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 1077-1083.

Dolliver, H., Kumar, K. and Gupta, S. (2007). Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *Journal of Environmental Quality*, 36(4), 1224-30.

Ebrahimi, A.A., Ebrahimi, S., and Agholi, M. (2009). Evaluation of resistance of *Shigellae* isolated from children with diarrhea in Fasa in summer 2005. *Tebbe Jonub Journal*, 12 (3); 225-230. (In Farsi).

Rasouli, A., Faghihi, S.M. (2014). A survey on antibacterial drug usage in dairy farms in Tehran province during 2004-2005. *Journal of Veterinary Research*, 69,1:41-48. (In Farsi).

Fan, H., Brunham, R. C. and McClarty, G. (1992). Acquisition and synthesis of folates by obligate intracellular bacteria of the genus *Chlamydia*. *Journal of Clinical Investigations*, 90, 1803–11.

Fisher, T.L. and Golden D.A. (1998). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in ground apples used in cider production. *Journal of Food Protection*, 61,1372-1374.

Hamilton-Miller, J. M. (1988). Reversal of activity of trimethoprim against Gram-positive cocci by thymidine, thymine and 'folates'. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 22, 35-9.

Hassan, S. A., Altalhi, A. D., Gherbawy, Y. A. and El-Deeb, B.A. (2011). Bacterial load of fresh vegetables and their resistance to the currently used antibiotics in Saudi Arabia. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(9), 1011-1018.

Hu, X., Zhou, Q. and Luo, Y. (2010). Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases. *Northern China Environment Pollution*, 158 (9), 2992–2998.

Hughes, P. and Heritage, J. (2004). Antibiotic growth-promoters in food animals. In: S. Jutzi. *Assessing*

www.SID.ir

Archive of SID

Quality and Safety of Animal Feeds, FAO Animal Production and Health Paper, pp.129-152. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Jones, D. L. (1999). Potential health risks associated with the persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in agricultural environments. *Soil Use and Management*, 15, 76-83.

Kabir, A., Das, A. K. and Kabir, M.S. (2014). Incidence of antibiotic resistant pathogenic bacteria in vegetable items sold by local and super shops in Dhaka city. *Stamford Journal of Microbiology*, 4(1), 13-18.

Kumar, K., Gupta, S. C., Baidoo, S. K., Chander, Y. and Rosen, C. J. (2005). Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *Journal of Environmental Quality*, 34, 2082–2085.

Li, D., Yang, M., Hu, J., Ren, L., Zhang, Y. and Li, K. (2008). Determination and fate of oxytetracycline and related compounds in oxytetracycline production wastewater and the receiving river. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 80–86.

Madigan, M.T., Clark, D.P., Stahl, D., and Martinko, J.M. (2010). *Brock Biology of Microorganisms.* 13th edition. Benjamin Cummings.

Martinez, J.L. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 157(11), 2893-2902.

Michael, J., and Weinstein, M. J. (2011). *Handbook of Antibiotic Discovery and Development* (3 ed.). New York: Springer.

Ministry of Agriculture, (2009) Agricultural and Animal Production Statistics, Deputy of Economic Planning. Office of Statistics and Information Technology. (In Farsi).

Mohammed Hamzah, A., Mohammed Hussein, A., and Mahmoud Khalef, J. (2013). Isolation of *Escherichia coli* 0157: H7 strain from fecal samples of zoo animal. *The Scientific World Journal*, 2013.

Nipa, M. N., Mazumdar, R. M., Hasan, M. M., Fakruddin, M. D., Islam, S., Bhuiyan, H. R. and Iqbal, A. (2011). Prevalence of multi drug resistant bacteria on raw salad vegetables sold in major markets of Chittagong city, Bangladesh. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 10(1), 70-77.

Österblad, M., Pensala, O., Peterzéns, M., Heleniusc, H. and Huovinen, P. (1999). Antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae* isolated from vegetables. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43(4): 503-509.

Pan, M. and Chu, L. M. (2016). Phytotoxicity of veterinary antibiotics to seed germination and root elongation of crops. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 228-237.

Pell, A. N. (1997). Manure and microbes: public and animal health problem. *Journal of Dairy Science*, 80, 2673-2681.

Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., Groot, B. D., Friis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R. and Waddell, J. (2004). Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 28-52.

Rezai, H. (2013). A review of research on application of livestock manure in agricultural land of Iran. *Journal of Land Management*, 1, 55-68. (In Farsi)

Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C., Michael, I. and Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *Science of the Total Environment*, 447, 345-360.

Safari Sinegani, A. A., Hasanalizadeh, N. and Rahimi, Gh. (2018). The effect of irrigation with unrefined municipal wastewater on the fecal coliforms number in soil and vegetables. *Water and Soil Science*, 28(4), 57-68. (In Farsi)

Schwaiger, K., Helmke, K., Hölzel, C. S. and Bauer, J. (2011). Comparative analysis of the bacterial flora of vegetables collected directly from farms and from supermarkets in Germany. *International Journal of Environmental Health Research*, 21(3), 161–172.

Soltan Dallal, M. M., Nikmanesh, B., Haghi-Ashtiani, M. T., Okazi, A. and Sharifi Yazdi, M. K. (2017). Serotyping and multiple antibiotic resistance patterns of *Shigella sonnei* isolated from diarrhea in Children's Medical Center of Tehran. *Journal of Paramedical Faculty of Tehran University of Medical Sciences (Payavard Salamat)*, 11(5), 560-566. (In Farsi)

Stewart, P. S. and Costerton, J. W. (2001), Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet*, 358(9276): pp.135-138.

Tasho, R. P. and Cho, J. Y. (2016). Veterinary antibiotics in animal waste, its distribution in soil and uptake by plants: a review. *Science of the Total Environment*, 563, 366-376.

Environment Agency (Standing Committee of Analysts) (2002). The Microbiology of Drinking Water–Part 1 - Water Quality and Public Health; Nottingham, Environment Agency.

US Food and Drug Administration (2011). Antimicrobial resistant bacteria in animals and food, last updated 2011.

Van Den Bogaard A. E. J. M., London N. and Stobberingh E. E. (2000). Antimicrobial resistance in pig fecal samples from The Netherlands (five abattoirs) and Sweden. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45(5), 663–671.

www.SID.ir