

## بررسی تأثیر ازن بر میزان حذف کیستهای ژیا ردیا از آب

مرتضی ایزدی<sup>۱</sup> M.D، امیر ادیب زاده<sup>۲</sup> B.Sc، مصطفی رضاییان<sup>۳</sup> Ph.D، هما حجاران<sup>۴</sup> Ph.D، زهرا بابایی<sup>۵</sup> Ph.D،  
شهره فرنیاء<sup>۶</sup> M.D، نعمت اله جنیدی<sup>۷</sup> M.D، حجت اله قهرمانی<sup>۸</sup> M.Sc، اکبر ارکان<sup>۹</sup> B.Sc، رضا خاکسار یگانه<sup>۱۰</sup> M.Sc

آدرس مکاتبه: تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، پلی کلینیک بقیه... (عج)، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱۰

### خلاصه

**مقدمه:** ژیا ردیا تک یاخته تاژکداری است که انگل روده انسان و حیوانات می باشد. اگرچه روش معمول انتقال آن شخص به شخص است اما این انگل یکی از مهمترین عوامل بیماریهای منتقله از آب محسوب می شود. افزودن کلر به آب با مقادیر متعارف نمی تواند آنرا از بین ببرد. ازن یک گندزدای عالی است و می تواند حتی میکروارگانیسم های خیلی مقاوم به گندزدهای متداول را غیرفعال کند. ازن بطور متناوب جهت گندزدایی آب آشامیدنی استفاده می شود. هدف از این مطالعه، بررسی مقدار ازن مصرفی جهت از بین بردن کیستهای ژیا ردیا از آب می باشد.

**مواد و روش ها:** این مطالعه از نوع تجربی بوده و از روش تخلیه کرونا جهت تولید ازن استفاده گردید. کیستهای ژیا ردیا لامبلیا با روش تغلیظ شیب غلظت با سوکروز، جداسازی شده و با لام Thoma ده بار شمارش شد و میانگین آن محاسبه گردید. سوسپانسیونی حاوی ۱۲۰/۰۰۰ cyst/lit در زمانهای ۹، ۷ و ۵ دقیقه و با غلظت ۱/۳ mg/lit در سه محیط آب شهری، آب مقطر و سرم فیزیولوژی تحت تأثیر ازن قرار گرفت. در آزمون دیگری تأثیر گذشت زمان بر مقاومت کیستهای ژیا ردیا در یک دوره ۶ روزه و در روزهای اول، سوم و ششم، با غلظت و زمان های تماس مختلف در زمانهای ۹، ۷، ۵، ۳ و ۱ دقیقه با غلظت ۲ mg/lit در محیط آب شهری ارزیابی شد.

**نتایج:** ازن با غلظت ۱/۳ mg/lit در زمانهای ۵ و ۷ دقیقه قادر به حذف کامل کیستهای ژیا ردیا نبود درحالیکه با افزایش زمان به ۹ دقیقه کلیه کیستها از محیط آبی حذف گردیدند. هنگامیکه آزمایشها با آب مقطر و سرم فیزیولوژی انجام شد، کلیه کیستها در تمامی زمانهای تماس از بین رفتند. در آزمایش دیگری در روز اول، در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه، ۱۰۰ درصد کیستها حذف شدند. درحالیکه در روزهای سوم و ششم، راندمان حذف در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه کاهش یافت و کیستهای زنده قابل مشاهده بود.

**بحث و نتیجه گیری:** آب مقطر و سرم فیزیولوژی در آزمایش اختلال ایجاد نموده و نتایج صحیحی بدست نمی آید. به همین دلیل در این مطالعه از آب شهری کلرزدایی شده استفاده شد. با گذشت زمان، شرایط محیطی برای ادامه حیات کیست با مشکل مواجه می شود. از اینرو احتمالاً دیواره کیست به مرور زمان مقاومتر شده و از بین بردن همه کیستهای ژیا ردیا با همان Ct روز اول امکان پذیر نمی باشد.

**واژه های کلیدی:** کیست ژیا ردیا، گندزدایی، ازن زنی

۱- مرکز تحقیقات بهداشت نظامی - دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)

۲- گروه انگل شناسی - دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات مهندسی جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی

**مقدمه:**

ژیاوردیا تک یاخته تاژکداری است که انگل روده انسان و حیوانات می‌باشد. این تاژکدار دارای چرخه زندگی دومرحله ای تروفوزوئیت گلابی شکل و مرحله کیستی مقاوم در برابر شرایط محیطی است (۱،۲و۳). ژیاوردیا موجب اسهال، دردهای شکمی، تهوع، بی حالی و کاهش وزن می‌شود (۱و۳) اما بندرت کشنده است (۱). اگرچه روش معمول انتقال آن شخص به شخص است اما این انگل یکی از مهمترین عوامل بیماریهای منتقله از آب محسوب می‌شود. اکثر شیوعهای بیماری ژیاوردیازیس با مصرف آب تصفیه نشده یا نامناسب تصفیه شده (مانند اختلال در گندزدایی) مرتبط می‌باشد (۱). افزودن کلر به آب با مقادیر متعارف نمی‌تواند آنرا از بین ببرد (۳). ژیاوردیا بعنوان یک معضل مهم برای تولید آب آشامیدنی از آبهای سطحی محسوب می‌شود (۴).

ازن یک گندزدای عالی است و می‌تواند حتی میکروارگانسیم‌های خیلی مقاوم به گندزدهای متداول را غیرفعال کند (۵). از آنجایی که غیر فعال کردن کیستهای پروتوزوئرها مولد بیماری در آب مهم است، ازن بطور متناوب جهت گندزدایی آب آشامیدنی استفاده می‌شود (۶). Hsu Binng و همکاران در سال ۲۰۰۳ اعلام کردند که ژیاوردیا یکی از عوامل بیماریزای منتقله از آب می‌باشد که نگرانیهای بهداشتی را بدنبال داشته است و ازن زنی مقدماتی موجب تخریب کیستهای ژیاوردیا می‌شود (۷). ازن قویترین ماده اکسید کننده است که می‌تواند در تصفیه آب بکار رود (۸). ازن به شدت با میکروارگانسیم‌ها وارد واکنش می‌شود. براساس گزارش‌های انجام شده این گند زدا در غیرفعال کردن گونه‌های باکتریایی و ویروسهای مقاوم نسبت به کلر از تأثیر بیشتری برخوردار است (۹). ازن زمانی تولید می‌شود که ملکولهای  $O_2$  بوسیله منبع انرژی دسوسیه شوند و اتمهای اکسیژن حاصل شده با ملکول اکسیژن دیگری ترکیب شده و یک گاز ناپایدار به نام ازن را تشکیل می‌دهد که جهت گندزدایی استفاده می‌گردد (۱۱). ازن از دو راه تولید می‌گردد. راه اول استفاده از پرتوهای UV است که در طول موج ۱۸۵ نانومتر موجب شکستن پیوند  $O_2$  شده و اتم O را حاصل می‌سازد که در ادامه با ملکول  $O_2$  دیگری واکنش داده و  $O_3$  تولید می‌شود (۱۲). راه دوم

عبور هوای خشک از بین الکترودهایی است که بوسیله یک شکاف هوا و یک دی الکتریک از یکدیگر جدا شده و با استفاده از جریان متناوبی با ولتاژ ۲۰۰۰-۸۰۰۰ ولت، ازن تولید می‌شود (روش تخلیه کرونا) (۹).

Khalifa و همکاران در سال ۲۰۰۱ تأثیر ازن و کلر را بر برخی پروتوزوئرها از جمله ژیاوردیا در آب آشامیدنی بررسی کردند. آنها در زمانهای ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه کلر زنی را با غلظت ۸-۴ ppm انجام دادند. آنها دریافتند که ازن در یک غلظت مناسب، پروتوزوئرها را بیماریزا را در آب غیرفعال می‌کند (۱۲). Widmer و همکاران در سال ۲۰۰۲ تأثیر ازن را بر کیستهای ژیاوردیا ارزیابی کردند. آنها از غلظت ۱/۵ میلیگرم بر لیتر و زمانهای تماس ۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه استفاده کردند و دریافتند در یک میزان غلظت مشخص، واکنش به غلظت کیستها وابسته است و تماس ۶۰ ثانیه موجب تخریب پروتئین شده و دیواره کیست و آنتی ژن تروفوزوئیت را از بین می‌برد (۶). ازن زنی مقدماتی در مهندسی آب آشامیدنی توسط Neumann و همکاران در سال ۲۰۰۷ مورد بررسی قرار گرفت. آنها دریافتند که جهت گندزدایی و اکسیداسیون ریزآلاینده‌ها در آبهای سطحی، می‌توان از ازن زنی بهره گرفت و این فن آوری در تصفیه آب آشامیدنی، کاربردی می‌باشد. همچنین دریافتند که بهترین راکتور جهت برآورد کینتیک آزمایش، راکتور بسته است (۱۳). هدف از این مطالعه، بررسی مقدار ازن مصرفی جهت از بین بردن کیستهای ژیاوردیا از آب می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:**

این مطالعه از نوع تجربی بوده و از روش تخلیه کرونا جهت تولید ازن استفاده گردید. دستگاه تولید ازن ساخت مرکز تحقیقات مهندسی جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی و با ظرفیت ۳-۰/۵ گرم در ساعت بود. راکتور مورد استفاده در این روش، از نوع بسته بود.

**طراحی دستگاه:**

همانطور که در شکل شماتیک ۱ مشاهده می‌شود، اکسیژن از طریق پمپهای مکنده دستگاه تولید ازن وارد دستگاه شده و از بین دو

### آزمون تأثیر ازن بر کیست ژیا ردیا:

سوسپانسیونی حاوی ۱۲۰/۰۰۰ cyst/lit به رآکتور شماره ۴ اضافه شده و در زمانهای ۹، ۷ و ۵ دقیقه و با غلظت ۱/۳ mg/lit تحت تأثیر ازن قرار گرفت. با استفاده از پمپ خلأ و عبور محلول مورد آزمایش از فیلتر ۰/۴۵ میکرون، رسوب حاصل با دور ۲۵۰۰ rpm بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. به پلت بدست آمده یک قطره رنگ حیاتی اتوزین اضافه شده (انگلهای مرده بعلت تخریب غشاء و نفوذ رنگ به داخل کیست قرمز دیده می‌شوند) و به کمک لام Thoma و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ X و ۴۰ X، ده بار شمارش انجام گرفت و میانگین آن محاسبه شد. آزمایشهای این مرحله در ۳ محیط آب شهری کلرزدایی شده، آب مقطر و سرم فیزیولوژی انجام گرفت. آزمایش با شرایط فوق در ۵ روز تکرار شد.

در آزمون دیگری تأثیر گذشت زمان بر مقاومت کیستهای ژیا ردیا در یک دوره ۶ روزه و در روزهای اول، سوم و ششم، با  $Ct^2$  های (غلظت  $\times$  زمان تماس) مختلف در زمانهای ۹، ۷، ۵، ۳ و ۱ دقیقه ارزیابی شد. غلظت در این مرحله  $mg/lit^2$  بود. این آزمایش منحصراً در محیط آب شهری انجام گرفت. در تمام مراحل آزمایش میانگین دما ۲۱ درجه سانتیگراد و میانگین pH ۷/۹ بود.

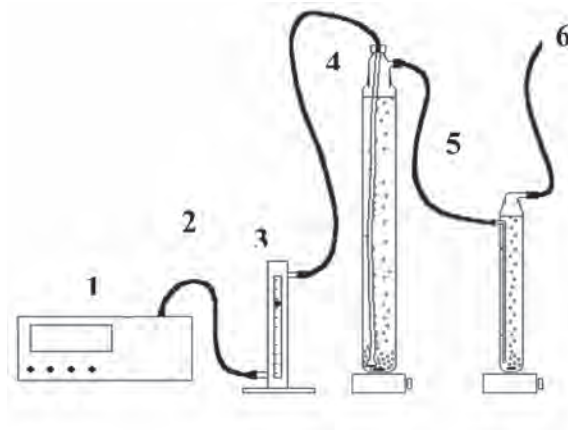
### نتایج:

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود در زمانهای ۵ و ۷ دقیقه بعد از ازن زنی کیستهای زنده مشاهده شدند. فقط در زمان ۹ دقیقه بعد از ازن زنی، تمام کیستها از بین رفتند. هنگامیکه آزمایشها

جدول شماره ۱) مدت زمان بقای کیستهای ژیا ردیا در  $Ct$  و آبهای مختلف بعد از ازن زنی

زمان	$Ct$	آب شهری کلرزدایی شده	آب مقطر	سرم فیزیولوژی
۹	۱۱/۷	-	-	-
۷	۹/۱	+	-	-
۵	۶/۵	+	-	-
		- : عدم وجود کیست زنده	+ : وجود کیست زنده	

2 Concentration  $\times$  time



شکل شماره ۱: نمایی شماتیک از پایلوت مطالعه

توضیحات: ۱) دستگاه تولید ازن ۲) شیلنگ رابط سیلیکونی ۳) جریان سنج ۴) رآکتور واکنش ۵) رآکتور حاوی KI جهت جلوگیری از انتشار ازن مازاد ۶) خروجی

الکتروود با ولتاژ بالا عبور داده شد. بدین ترتیب ۳ ملکول اکسیژن به ۲ ملکول ازن تبدیل گردید. ازن حاصله از طریق شیلنگ رابط از جنس سیلیکون وارد یک جریان سنج شده و میزان جریان اندازه گیری گردید. سپس ازن وارد یک رآکتور بسته‌ای (نسبت طول به عرض آن ۶ به ۱) شد که داخل آن با آب شهری کلرزدایی شده با تیوسولفات سدیم ۰/۰۲۵ نرمال پر شده بود سپس ازن از انتهای رآکتور به روش دیفیوژری وارد آب گردید. جابجایی حاوی ازن از انتها وارد رآکتور شده و به طرف بالا حرکت نموده و در مسیر در آب حل شدند. گاز اضافی از خروجی رآکتور خارج و وارد رآکتور دیگری شد که با ۱ KI ۲ درصد پر شده بود. ازن در اثر واکنش با KI تثبیت شده و رنگ آب مقطر داخل رآکتور زرد گردید. در انتها نیز گازهای بی خطر حاصل از واکنش از خروجی رآکتور خارج شدند.

### تغلیظ کیستهای ژیا ردیا:

کیستهای ژیا ردیا لامبلیا با روش تغلیظ شیب غلظت با سوکروز، جداسازی شده و با لام Thoma ده بار شمارش شد و میانگین آن محاسبه گردید.

1 potassium iodide

کیستهای ژیا ردیا بیان می‌دارد (۱۴). دلیل این اختلاف را می‌توان اینطور ارزیابی نمود که با توجه به شرایط آب و هوایی، کیفیت منابع آب از لحاظ املاح، کیفیت آزمایشگاه، مواد مصرفی و نوع ژیا ردیا نتایج متفاوتی حاصل می‌گردد. علاوه بر این در منابع خارجی ذکر نگردیده که منبع آب مورد آزمایش، آب مقطر و یا سرم فیزیولوژی بوده یا خیر. شایان ذکر است که آب مقطر و سرم فیزیولوژی در آزمایش اختلال ایجاد نموده و نتایج صحیحی بدست نمی‌آید. به همین دلیل در این مطالعه از آب شهری کلرزدایی شده استفاده شد. همچنین در هیچ یک از منابع تعداد کیستهای مورد آزمایش ذکر نشده است ولی در این مطالعه تعداد ۱۲۰/۰۰۰ عدد کیست در هر لیتر مورد آزمایش قرار گرفت.

نمودار شماره ۱ مشخص می‌کند که با گذشت زمان، علیرغم عدم تغییر در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محیط شامل pH و دما دیواره کیست به مرور زمان مقاومتر شده و از بین بردن همه کیستهای ژیا ردیا با همان Ct روز اول امکان پذیر نمی‌باشد. بنابراین با کاهش اثر گندزدا با گذشت زمان بر کیستهای ژیا ردیا روبرو شدیم. هرچه کیستها تازه تر باشند از بین بردن آنها آسانتر و هرچه کهنه تر باشند احتمالاً به دلیل مقاوم شدن دیواره کیست از بین بردن آنها دشوارتر می‌گردد. در هیچ یک از منابع به این نکته توجهی نشده و مقاومت کیستی بررسی نگردیده است.

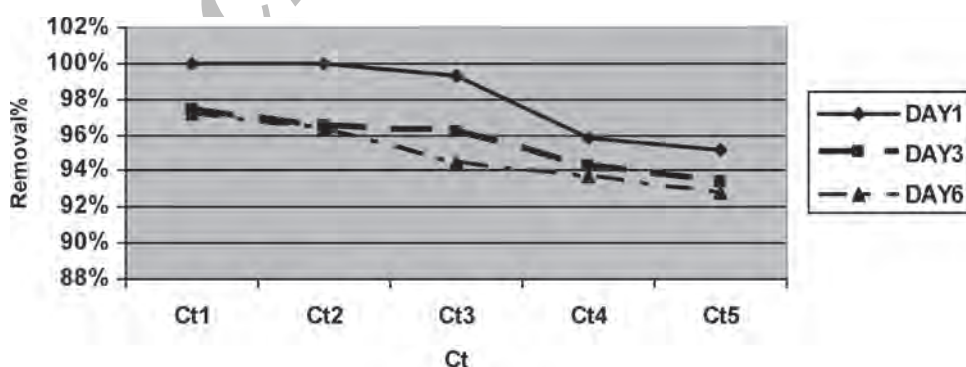
بدست آوردن نتایج دیگری با توجه به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

با آب مقطر و سرم فیزیولوژی انجام شد، کلیه کیستها در تمامی زمانهای تماس از بین رفتند. در این آزمایش فقط وجود یا عدم وجود کیست ارزیابی گردید.

با توجه به نمودار شماره ۱ در روز اول، در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه، ۱۰۰ درصد کیستها حذف شدند. کیستهای فاقد حیات کمی دیده شدند چراکه اکثر کیستها متلاشی شده بودند. در سایر زمانها یعنی ۱، ۳ و ۵ دقیقه، اکثر کیستهای مرده متلاشی نشده بودند ولی بدلیل نفوذ رنگ حیاتی اتوزین فاقد حیات بودند. در روزهای سوم و ششم، راندمان حذف در زمانهای ۷ و ۹ دقیقه کاهش یافت و کیستهای زنده نیز مشاهده شدند. در زمانهای ۱، ۳ و ۵ دقیقه، تعداد کیستهای زنده افزایش یافت. همچنین با گذشت زمان (روز) تعداد کیستهای زنده افزایش پیدا کرد و مقاومت به گندزدا مشاهده شد. علیرغم کاهش تعداد کیستهای متلاشی شده در روزهای سوم و ششم تفاوت معنی داری بین روزهای سوم و ششم دیده نشد. ( $p < 0/05$ )

## بحث و نتیجه گیری:

با توجه به نتایج بدست آمده در جدول شماره ۱ مشخص می‌شود که ازن زنی با  $Ct = 11/7$  و با زمان ۹ دقیقه بهترین راندمان را در حذف تمامی کیستهای ژیا ردیا از آب فراهم می‌سازد. این در حالی است که انجمن حفاظت محیط زیست ایالات متحده  $Ct = 4$  و زمان تماس ۵ دقیقه را در از بین بردن یا غیرفعال کردن ۹۹/۹ درصد



نمودار شماره ۱) رابطه بین تأثیر گذشت زمان بر مقاومت کیستهای ژیا ردیا در یک دوره ۶ روزه و در روزهای اول، سوم و ششم و با Ct های مختلف در محیط آب شهری کلرزدایی شده

توضیحات: در این نمودار محور افقی بیانگر CT های مختلف است که عبارتند از:

$$2=Ct5 \quad 6=Ct4 \quad 10=Ct3 \quad 14=Ct2 \quad 18=Ct1$$

متفاوت منابع آبی و نوع کیست محتمل است.

۸- واعظی فروغ، صیدمحمدی عبدالمطلب. مقررات گندزدایی آب و بهره برداری

از گندزداها، چاپ اول، تهران، انتشارات سه استاد، ۱۳۸۲، صفحه ۱۳۳.

۹- ه.س.پوی، در.روو، ج . چنانگلاس. مهندسی محیط زیست (جلد اول)،

مترجمین: کی نژاد محمدعلی، ابراهیمی سیروس. چاپ دوم، آذربایجان، دانشگاه

صنعتی سهند، ۱۳۸۲، صفحات ۲۳۵-۲۳۴.

10- EPA, Wastewater technology fact sheet Ozone disinfection, www.EPA.org. 1999.

11- Deborah Kon. The power of ozone the crucial step to clean Spa water. August 2005.

12- EPA, Ozone in drinking water treatment a brief overview 106 years & still going. www.EPA.org 1999.

13- Khalifa AM, El Tamsahy MM, Abou El Naga IF. Effect of ozone on the viability of some protozoa in drinking water. J Egypt Soc Parasitol 2001; 31: 603-16.

14. Neumann M.B, von Gunten U, Gujer W. Sources of parameter uncertainty in predicting treatment performance: the case of preozonation in drinking water engineering. Environ Sci Technol 2007; 41:3991-6.

## تقدیر و تشکر:

مطالعه حاضر بخشی از طرح تحقیقاتی می باشد که با حمایت مالی مرکز تحقیقات بهداشت نظامی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) به انجام رسیده است. همچنین از گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات مهندسی جهاد کشاورزی آذربایجان شرقی و کلیه افرادی که در این مطالعه ما را یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

## منابع:

۱- میرهندی سیدحسین، نیک آئین مهنار. میکروبیولوژی فاضلاب. چاپ اول، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۸۳، صفحات ۱۴۱، ۱۴۲ و ۲۰۲-۱۹۶.

۲- غلامی میترا، محمدی حامد. میکروبیولوژی آب و فاضلاب. چاپ دوم، تهران، انتشارات حیان، ۱۳۷۸، صفحه ۱۲۵.

۳- حجاتبار محمد. مسمومیت‌های غذایی در انسان. چاپ اول، تهران، دانشکده حفاظت و بهداشت کار، ۱۳۸۱، صفحه ۳۶۸.

4- Mazoua S, Chauveheid E. Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. Water Res 2005; 39:5186-98.

5- von Gunten U. Ozonation of drinking water: part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. Water Res 2003; 37:1469-87.

6- Widmer G, Clancy T, Ward HD, Miller D, Batzer GM, Pearson CB, et al. Structural and biochemical alterations in Giardia lamblia cysts exposed to ozone. J Parasitol 2002; 88:1100-6.

7- Hsu Bing Mu, Yeh Hsuan Hsien. Removal of Giardia and Cryptosporidium in drinking water treatment: a pilot-scale study. Water research 2003; 37:1111-17.