

# بررسی عملکرد تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان در حذف گونه بیماری‌زای لیستریا مونوسی‌توژنز

حسین موحدیان عطار<sup>۳</sup>

محمد جلالی<sup>۲</sup>

ناهید نویدجوی<sup>۱</sup>

پذیرش ۹۱/۵/۱

(دریافت ۹۰/۱۲/۱)

## چکیده

باکتری لیستریا از جمله باکتری‌هایی است که در محیط طبیعی پراکندگی گسترده‌ای دارد و مهم‌ترین گونه این باکتری‌ها لیستریا مونوسی‌توژنز است که عامل بیماری لیستریوزیس در انسان و حیوان است. در موارد حاد بیمار ممکن است منجر به مننژیت، مننگوآنسفالیت، سیتی سمی و سقط جنین شود. همچنین ممکن است باکتری به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق محیط به انسان یا مواد غذایی منتقل شود تاکنون در ایران مطالعه‌ای در زمینه شناسایی باکتری لیستریا در فاضلاب شهری صورت نگرفته، لذا در این مطالعه باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز از نمونه‌های فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان که برای مصارف کشاورزی کاربرد دارد، جداسازی و شمارش شده و عملکرد آن در حذف این باکتری مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق نمونه‌برداری از فاضلاب ورودی، پساب خروجی، لجن خام، لجن تثبیت شده و لجن خشک شده آماده فروش تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان، به تعداد ۶۵ نمونه در ۱۳ بازدید از ۵ نقطه انجام گرفت. برای جداسازی باکتری از روش USDA و برای شمارش لیستریا مونوسی‌توژنز از روش سه لوله‌ای MPN با محیط کشت فریزر برات ساپلیمنت‌دار استفاده شد. گونه‌های لیستریا مونوسی‌توژنز جدا شده هم به روش بیوشیمیایی و PCR نیز تایید شدند. گونه بیماری‌زای لیستریا مونوسی‌توژنز از نمونه‌های فاضلاب ورودی، پساب خروجی، لجن خام، لجن تثبیت شده و لجن خشک شده به ترتیب ۷۶/۹، ۳۸/۵، ۸۴/۶، ۶۹/۲ و ۴۶/۲ درصد جداسازی شد و کارایی فرایندهای تصفیه فاضلاب، تانک هاضم و بسترهای خشک کننده لجن برای حذف باکتری لیستریا مونوسی‌توژنز به ترتیب ۶۹/۶، ۶۴/۷ و ۷۳/۴ درصد محاسبه گردید. تمامی موارد لیستریا مونوسی‌توژنز شناسایی شده با آزمون‌های بیوشیمیایی با انجام آزمون PCR مورد تایید قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که گونه بیماری‌زای لیستریا مونوسی‌توژنز در پساب خروجی و لجن خشک شده آماده برای فروش تصفیه‌خانه شمال اصفهان وجود دارد. بنابراین می‌تواند باعث انتشار این باکتری در زمین‌های کشاورزی و محیط گردد. به‌عبارت دیگر محصولات کشاورزی ممکن است با توجه به قدرت بقاء باکتری در محیط، منشأ آلودگی انسان و دام باشند.

واژه‌های کلیدی: حذف لیستریا مونوسی‌توژنز، تصفیه‌خانه فاضلاب، پساب خروجی، لجن فاضلاب، تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان

## Performance of Isfahan North Wastewater Treatment Plant in the Removal of *Listeria monocytogenes*

Nahid Navidjoui<sup>1</sup>

Mohammad Jalali<sup>2</sup>

Hossein Movahedian Attar<sup>3</sup>

(Received May 31, 2011 Accepted July 10, 2012)

### Abstract

*Listeria* and in particular *Listeria monocytogenes* is considered a ubiquitous foodborne pathogen which can lead listeriosis in human and animals. Listeriosis can be serious and may cause meningitis, septicemia and abortion in pregnant women. Although wastewater or sludge may contaminate foods of plant origin, there are no data on occurrence of *Listeria* spp. in wastewater and sludge in Iran. The purpose of current investigation was to study the occurrence of *Listeria* spp. in various samples of wastewater and sludge in Isfahan North wastewater treatment plant. Influent, effluent, raw sludge and dried sludge samples were collected from Isfahan North municipal wastewater treatment plant. *L. monocytogenes* were enumerated by a three-tube most probable number (MPN) assay using enrichment Fraser broth. A total of 65 various samples from five step in 13 visits were collected. The presence of *Listeria* spp. also was determined using USDA procedure. Then, phenotypically identified *L. monocytogenes* were further confirmed by Polymerase Chain Reaction amplification. *L. monocytogenes* isolated from 76.9%, 38.5%, 84.6%, 69.2% and 46.2% of influent, effluent, raw sludge,

1. M.Sc. of Env. Health Eng., Faculty Member of Urmia Univ. of Med. Sciences, Urmia (Corresponding Author) (+98 441) 277047 n.navidjoui@gmail.com

2. Assoc. Prof. of Research Center for Food Security, School of Food Science and Nutrition, Isfahan Univ. of Medical Sciences, Isfahan

3. Prof. of Environmental Health Eng., Faculty of Public Health, Isfahan Univ. of Medical Sciences, Isfahan

۱- کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول) ۲۷۷۰۴۷ (۰۴۴۱) n.navidjoui@gmail.com

۲- دانشیار مرکز تحقیقات امنیت غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- استاد و عضو هیئت علمی گروه مهندسی بهداشت محیط و دانشکده بهداشت و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

stabilized sludge and dried sludge respectively. The efficiency of wastewater treatment processes, digester tank and drying bed in removal *L. monocytogenes* were 69.6%, 64.7% and 73.4% respectively. All phenotypically identified *L. monocytogenes* were further confirmed by Polymerase Chain Reaction. The results of present study have shown that *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in particular, were present in wastewater treatment plant effluents and sludge at high level. The bacteria may spread on agriculture land and contaminate foods of plant origin. This may cause a risk of spreading disease to human and animals.

**Keywords:** Removal of *Listeria Monocytogenes*, Wastewater Treatment Plant, Effluent, Sludge, Isfahan North Wastewater Treatment Plant.

## ۱- مقدمه

به طور معمول، پساب خروجی از تصفیه‌خانه فاضلاب شهری، برای آبیاری زمین‌های کشاورزی و لجن تولید شده به‌عنوان کود، برای اصلاح خاک مزارع و باغات مورد استفاده مجدد قرار می‌گیرد [۴-۱]. اگرچه لجن فاضلاب به دلیل دارا بودن مواد مغذی برای گیاه مفید است و می‌تواند باعث اصلاح و بهبود خاک شود، لیکن به دلیل این که حاوی انواع باکتری‌ها، ویروس‌ها، پروتوزئرها، انگل‌ها و سایر ارگانیسم‌ها است، می‌تواند موجب بیماری در انسان و دام شود. لذا پایش بیولوژیکی و بررسی وجود باکتری‌های بیماری‌زا در پساب خروجی از تصفیه‌خانه فاضلاب و لجن مورد استفاده در زمین‌های کشاورزی اهمیت به‌سزایی خواهد داشت [۱]. بر اساس استاندارد سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا<sup>۱</sup>، پساب نهایی و لجن خروجی از تصفیه‌خانه باید قبل از هر نوع مصرفی کنترل شود [۵]. امروزه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در محیط باشد. برای اینکه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در پساب خروجی و لجن دفعی از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری شناسایی شده‌اند که با استانداردهای قدیمی مورد پایش قرار نمی‌گیرند. لذا تخلیه پسابها به محیط می‌تواند باعث انتشار آلودگی و بالا رفتن خطرات بهداشتی این‌گونه باکتری‌ها شود [۶]. از جمله این پاتوژن‌ها که گستردگی وسیعی در محیط طبیعی دارد، باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز*<sup>۲</sup> است که مدت بقاء آن در محیط بیشتر از *سالمونلا* بوده و در شرایط بد محیطی مقاوم‌تر است [۷ و ۸]. این باکتری باعث ایجاد بیماری لیستریوزیس در انسان و حیوان می‌شود. لیستریوزیس به‌عنوان یک بیماری ناشی از غذا مطرح بوده و تظاهرات آن در انسان علاوه به عفونت غذایی، ممکن است به‌صورت مننژیت، مننگوآنسفالیت، سپتی سمی و سقط جنین بروز کند [۷ و ۹]. افراد سالم و غیر آبلستنی که ضعف ایمنی ندارند، مقاومت بالایی در مقابل عفونت لیستریا مونوسیتوژنز از خود بروز می‌دهند، ولی زنان آبلستن، نوزادان، افرادی با سیستم ایمنی ضعیف (افراد مبتلا به سرطان، ایدز، بیماری‌های کلیوی، دیابت، افراد الکلی و سالمندان) بیشتر در معرض این بیماری قرار دارند [۹]. باکتری از طریق خوردن شیر، گوشت و سبزیجات آلوده به باکتری، تماس مستقیم با فضولات

انسان‌های ناقل و فراورده‌های حیوانی آلوده، انتقال می‌یابد. نتایج به‌دست آمده، نشان می‌دهد که باکتری *لیستریا*، پراکندگی بسیار وسیعی را در فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه فاضلاب دارد. لذا سازمان بهداشت جهانی<sup>۳</sup> و سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا، علاوه بر استانداردهای قبلی تدوین استانداردهای جدید، مبنی بر پایش و کنترل باکتری‌هایی مانند *لیستریا* در پساب خروجی از تصفیه‌خانه‌ها و لجن مورد استفاده در مزارع کشاورزی را پیشنهاد داده‌اند [۵].

آلودگی لیستریایی مواد غذایی در ایران در اصفهان گزارش شده است. همچنین مطالعات انجام شده بر روی سقط جنین لیستریایی دامهای مناطق اطراف اصفهان بیشترین شیوع این بیماری را از دامهای منطقه برخوردار و خوراسگان که در نزدیکی تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان قرار دارد، گزارش نموده‌اند (شیوع بالای ۳۰ درصد). در این گزارش یکی از دلایل احتمالی این امر استفاده دامهای این منطقه، از مراتع و علوفه‌های آبیاری شده با پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شمال ذکر گردیده است [۱۰]. در ایران تا کنون مطالعه‌ای بر روی فراوانی باکتری *لیستریا* و حذف آن در تصفیه‌خانه فاضلاب انجام نشده است. لذا با توجه به اهمیت موضوع، این تحقیق با هدف جداسازی و شمارش باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه‌های فاضلاب و لجن و بررسی عملکرد تصفیه‌خانه در حذف این باکتری انجام گرفت.

## ۲- مواد و روشها

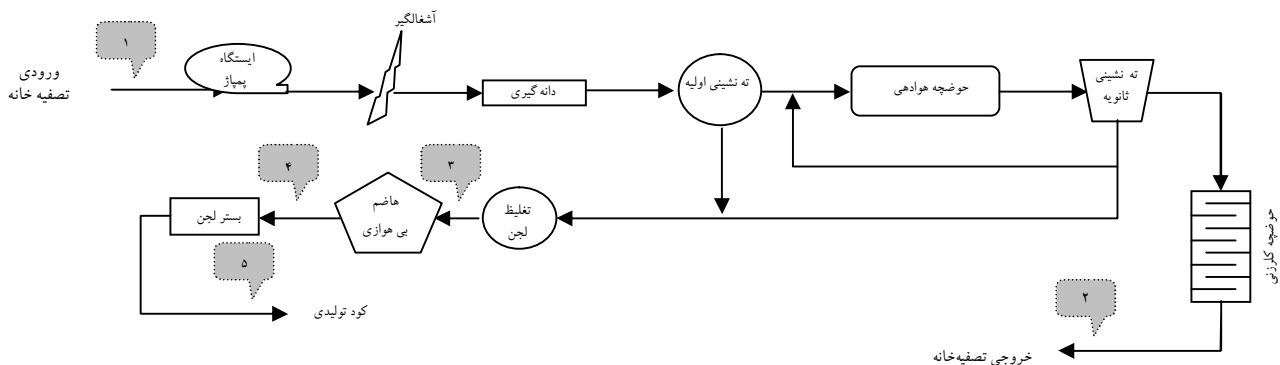
تصفیه‌خانه شمال اصفهان، بزرگ‌ترین تصفیه‌خانه اصفهان بوده و در حال حاضر با دبی ورودی ۱/۶ متر مکعب بر ثانیه، بخشی از فاضلاب شهر اصفهان را تصفیه می‌کند. پساب خروجی از این تصفیه‌خانه، به‌منظور آبیاری کشاورزی دشت برخوردار و حبیب آباد استفاده شده و لجن خشک شده آن نیز برای کوددهی زمین‌های کشاورزی در مناطق اطراف به کشاورزان فروخته می‌شود.

در این مطالعه، نمونه‌ها از ۵ محل در تصفیه‌خانه شمال اصفهان با رعایت شرایط آسپتیک و از هر محل به تعداد ۱۳ مرتبه جمعاً ۶۵ نمونه در ماههای اسفند ۸۵ و فروردین ۸۶ جمع‌آوری شد (شکل ۱).

<sup>1</sup> U.S. Environmental Protection Agency (USEPA)

<sup>2</sup> *Listeria monocytogenes*

<sup>3</sup> World Health Organization (WHO)



شکل ۱- فلودیگرام محل‌های نمونه‌برداری فاضلاب و لجن از تصفیه‌خانه شمال اصفهان

۱: فاضلاب ورودی تصفیه‌خانه ۲: خروجی تصفیه‌خانه فاضلاب ۳: لجن خام (مخلوط لجن اولیه + لجن ثانویه) ۴: لجن تثبیت شده (لجن خام از هاضم) ۵: لجن نهایی (لجن خروجی از بسترهای لجن خشک کن)

میزان  $10^{-1}$  و لجن خشک شده به میزان  $10^{-2}$  رقیق‌سازی شده و MPN این نمونه‌ها در گرم ماده خشک شده، گزارش شد. MPN نمونه‌ها، از روی جدول تعیین MPN یادداشت و ضرایب رقیق‌سازی در نظر گرفته شد [۱، ۲، ۱۳، ۱۴ و ۱۵]. علاوه بر آزمایش‌های بیوشیمیایی، باکتری‌های لیستریا مونوسیژنر جدا شده از نمونه‌های فاضلاب و لجن به روش ژنوتیپی (PCR) و با تشکیل باند ۴۱۷ ژن hly A مورد تأیید قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون پرایمرهای اختصاصی (۲۳۴ و ۳۱۹) سنتز شده از روی ژن لیستریولازین O<sup>۲</sup> بودند که در مطالعه فیترو همکاران در سال ۱۹۹۲ برای تکثیر قطعه ۴۱۷ bp ژن hly A در باکتری لیستریا مونوسیژنر به کار گرفته شد [۱۶]. برای تکثیر DNA، به روش جوشاندن، DNA باکتری جدا گردید و محلول PCR آماده شد، و با استفاده از دستگاه PCR در طی ۳۰ سیکل (یک دقیقه دناتوریشن در ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه انوالینگ پرایمرها در ۶۲ درجه سلسیوس و ۳۰ ثانیه اکستنشن در ۷۲ درجه سلسیوس قسمتی از ژن لیستریوزین O (۴۱۷ bp) تکثیر شد. محصول PCR در ژل آگارز ۱/۸ درصد الکتروفورز و با رنگ آمیزی در اتیدیوم بروماید ۱ درصد و تابانیدن UV مشاهده شد [۱۶].

### ۳- نتایج و بحث

در این مطالعه، از ۶۵ نمونه فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه شمال اصفهان، ۴۱ مورد حاوی باکتری لیستریا مونوسیژنر بود و این باکتری از ۶۳/۱ درصد نمونه‌ها جداسازی و مورد شمارش قرار گرفت. نتایج جداسازی و شمارش باکتری لیستریا مونوسیژنر در

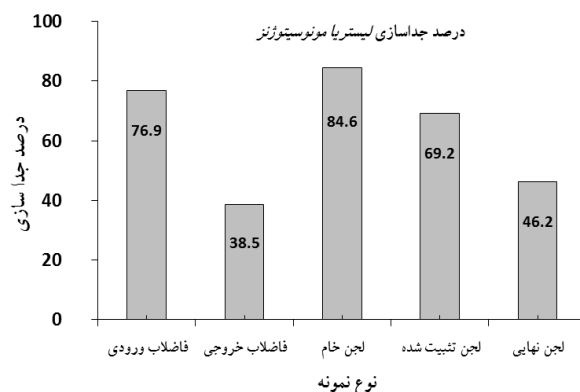
۱-۲- جداسازی و شمارش لیستریا مونوسیژنر  
برای جداسازی باکتری از روش USDA<sup>۱</sup> استفاده شد [۱۱]. به این منظور، نمونه‌های گرفته شده ابتدا در محیط کشت غنی کننده UVM1 مطابق استانداردهای USDA حل شد. ظرف محتوی نمونه و محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محیط اولیه، به ۹/۹ میلی‌لیتر محیط غنی کننده ثانویه (فریزر برات ساپلیمنت دار) منتقل شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه گردید [۱۱ و ۱۲]. نمونه‌های مثبت برای جداسازی و تشخیص لیستریا، بر روی محیط کشت اختصاصی - افتراقی پالکام به صورت خطی کشت داده شد. در صورت وجود لیستریا، کلنی‌های تیبیک سیاه‌رنگ بر روی سطح محیط کشت پالکام تشکیل شد. به منظور تشخیص قطعی و افتراقی لیستریا، حداقل سه تا پنج کلنی تیبیک برداشت شده و بر روی محیط کشت TSAYE کشت خطی داده شد و سپس آزمون‌های بیوشیمیایی برای شناسایی لیستریا انجام گردید. آزمون‌های شناسایی شامل رنگ آمیزی گرم، تخمیر کربوهیدرات‌ها، آزمون کاتالاز، MR/VP، CAMP و آزمون حرکت بود [۱۱ و ۱۲].

برای شمارش باکتری لیستریا مونوسیژنر از روش MPN سه لوله‌ای در محیط کشت فریزر برات ساپلیمنت دار استفاده شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده فاضلاب و لجن به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر، (یا میلی‌گرم)، ۱ میلی‌لیتر و ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه در هر سری از این لوله کشت داده شد [۱ و ۲]. آزمایش‌های تکمیلی و تشخیصی ذکر شده در بالا، بر روی موارد مثبت انجام گرفت؛ تا گونه باکتری لیستریا شناسایی و تأیید شود. نمونه‌های لجن خام و لجن تثبیت به

<sup>2</sup> Listriolysin Ogene

<sup>1</sup> U.S. Department of Agriculture

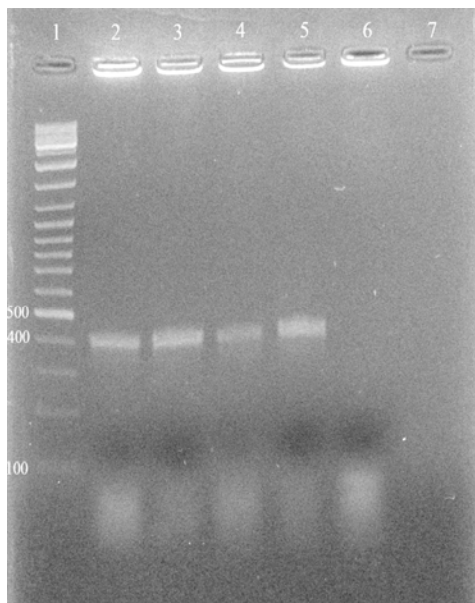
نقاط مختلف تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان، به ترتیب در شکل ۲ و جدول ۱ آورده شده است.



شکل ۲- درصد جداسازی لیستریا مونوسی‌توزنر از نمونه‌های مختلف فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان

جدول ۱- میانگین MPN/لیستریا مونوسی‌توزنر در فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه شمال اصفهان

نوع نمونه	واحد	میانگین MPN	پیشینه
فاضلاب ورودی	MPN / 100 mL	۶/۰۸	۲۸
پساب خروجی	MPN / 100 mL	۱/۸۵	۱۱
لجن خام	MPN / gr dry matter	۵۷	۲۳۳
لجن تثبیت	MPN / gr dry matter	۲۰/۱۲	۸۸/۴۶
لجن نهایی	MPN / gr dry matter	۵/۵۳	۲۳/۹



شکل ۳- ژل الکتروفورس ۱/۸ درصد از محصول PCR آمپلی‌فای شده نمونه‌های لیستریا مونوسی‌توزنر جدا شده از نمونه‌های فاضلاب و لجن. (رنگ آمیزی ژل در اتی‌دیوم بروماید ۱درصد و عکس برداری با تابش اشعه UV).

چاهک ۱: مارکر ۱، چاهک ۲: کنترل مثبت، باکتری لیستریا مونوسی‌توزنر IRTCC 1293 سرو تیپ 4a تهیه شده از انستیتو رازی، چاهک ۳: لیستریا مونوسی‌توزنر جداسازی شده از پساب خروجی، چاهک ۴: لیستریا مونوسی‌توزنر جداسازی شده از لجن خام، چاهک ۵: لیستریا مونوسی‌توزنر جداسازی شده از لجن تثبیت، چاهک ۶: کنترل منفی.

لیستریا و به‌ویژه گونه لیستریا مونوسی‌توزنر به‌علت شیوع و میزان مرگ و میر مورد توجه بسیاری از محققان بوده است. این باکتری همچنین مسئول بروز اپیدمی‌های مسمومیت غذایی به‌ویژه در کشورهای صنعتی است [۹]. آمار و اطلاعات دقیقی از تعداد مبتلایان به این بیماری و یا بروز اپیدمی‌های مسمومیت غذایی ناشی از لیستریا در ایران وجود ندارد. هر چند مطالعات محدودی آلودگی مواد غذایی را به‌ویژه در شهر اصفهان گزارش کرده‌اند [۱۷] و [۱۸] اما میزان آلودگی فاضلاب شهری در ایران به‌عنوان یک منشاء بالقوه آلودگی انسان و غذا مشخص نیست. در این مطالعه، باکتری لیستریا مونوسی‌توزنر به‌عنوان گونه غالب از تمامی نمونه‌های فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان جداسازی شد. بیشترین جداسازی از لجن خام بود و تمامی باکتری لیستریا جداسازی شده از لجن خشک شده از نوع گونه لیستریا مونوسی‌توزنر بودند. تایید گونه با استفاده از روش مولکولار PCR با دقت و سرعت زیاد صورت گرفت. به‌عبارت دیگر هر چند روش‌های سنتی بیوشیمیایی، ارزش تشخیصی خاص خود را دارد، اما استفاده از پرایمرهای اختصاصی، علاوه بر حساسیت بالا، در زمان بسیار کوتاهی پایش مراحل مختلف فرایند تصفیه را میسر

آزمون t مستقل، برای مقایسه MPN/لیستریا مونوسی‌توزنر بین ورودی و خروجی، لجن خام و لجن تثبیت، لجن تثبیت و لجن نهایی انجام شد و P value مربوط به هر سه مقایسه کوچک‌تر از ۰/۰۵ به‌دست آمد، بنابراین اختلاف معنی‌دار بوده است. با توجه به میانگین‌های MPN/لیستریا مونوسی‌توزنر، درصد حذف این باکتری در فرایند تصفیه فاضلاب ۶۹/۶ درصد، تانک هاضم ۶۴/۷ درصد و بسترهای خشک‌کننده لجن ۷۳/۴ درصد محاسبه گردید.

باکتری‌هایی که با استفاده از روش‌های فنوتیپی به‌عنوان گونه لیستریا مونوسی‌توزنر تشخیص داده شده بودند، تحت آزمون PCR قرار گرفته و با تشکیل باندها ۴۱۷ bp تایید شدند. تصاویری از آزمون PCR و تشکیل باندها ۴۱۷ bp در شکل ۳ آورده شده است. بنابراین هر چند آزمون‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژی مانند CAMP به‌عنوان یک روش ارزان و ساده از حساسیت خوبی برخوردارند، ولی استفاده از روش‌های مبتنی بر مولکولار بیولوژی در جداسازی، تایید و تشخیص پاتوژن‌ها در نمونه‌های محیطی می‌تواند با توجه به سرعت بالا نقش عمده‌ای را در پایش آنها ایفا نماید.

<sup>1</sup> Leader

۳۸/۵ درصد نمونه‌های پساب خروجی و در ۴۶/۲ درصد نمونه‌های لجن آماده فروش جداسازی شده‌اند. از آنجا که پساب خروجی برای آبیاری مزارع کشاورزی و لجن خشکیده، به‌عنوان کود برای اصلاح خاک باغات استفاده می‌شود، این موضوع می‌تواند باعث افزایش حضور احتمالی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در خاک، آبهای سطحی و طبیعت شود. آلودگی محصولات کشاورزی از جمله سبزیجات خوراکی نیز می‌تواند برای سلامت انسان‌ها هشدار دهنده باشد. آلودگی سبزیجات توسط لیستریا در ایران و برخی نقاط دیگر جهان گزارش شده است [۲۲ تا ۲۵]. این آلودگی می‌تواند در اثر مصرف لجن آلوده به‌عنوان کود رخ دهد.

#### ۴- نتیجه‌گیری

مقایسه MPN باکتری لیستریا مونوسیتوژنز نشان داد که فرایند تصفیه فاضلاب و تصفیه لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان، توانسته میزان این باکتری را کاهش دهد ولی نتوانسته به‌طور کامل آن را از بین ببرد؛ بنابراین استفاده از پساب و لجن این تصفیه‌خانه فاضلاب می‌تواند باعث انتشار این باکتری در محیط شده و باعث آلودگی حیوانات و انسان‌ها در منطقه شود. لذا پیشنهاد می‌شود که آلودگی لیستریا مونوسیتوژنز در خاک و محصولات کشاورزی مزارع آبیاری شده با پساب خروجی از تصفیه‌خانه، و استفاده از لجن فاضلاب به‌عنوان کود، مورد مطالعه قرار گرفته و شیوع لیستریوزیس در دامها، مواد غذایی و همچنین ساکنان منطقه بررسی گردد.

#### ۵- قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از مسئولان محترم دانشکده بهداشت به‌ویژه آزمایشگاه تحقیقاتی گروه تغذیه و همچنین از آقای مهندس اکبر حسن زاده، مشاور محترم آماری ابراز نمایند.

ساخت. این یافته‌ها، بیانگر آن است که لیستریا مونوسیتوژنز مقاوم‌تر از سایر گونه‌ها بوده و حتی بعد از طی مرحله هضم و بسترهای لجن خشک کن، می‌تواند زنده بماند. به‌نظر می‌رسد سیستم گندزدایی پساب تصفیه‌خانه شمال اصفهان کارایی لازم را در حذف لیستریا ندارد. عملکرد تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان در حذف این باکتری در پساب خروجی ۶۹/۶ درصد و از لجن خشک شده ۹۰/۲ درصد محاسبه شد. در نقاط مختلف جهان طی چندین مطالعه، گونه‌های مختلف باکتری لیستریا به‌ویژه لیستریا مونوسیتوژنز از فاضلاب و لجن تصفیه‌خانه‌های فاضلاب مورد استفاده برای زمین‌های کشاورزی، پساب خروجی و آبهای سطحی جداسازی و شمارش شده است [۱، ۲، ۹، ۱۹، ۲۰ و ۲۱]. به‌عنوان مثال در فرانسه طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ صورت گرفته، میزان جداسازی باکتری لیستریا از پساب خروجی ۸۴/۴ درصد و از لجن خام ۸۹/۲ درصد گزارش شده و همچنین در مطالعه دیگری در فرانسه میزان جداسازی باکتری لیستریا از لجن تغلیظ شده ۸۷ درصد و لجن هضم شده در تانک ۹۶ درصد بوده است و مقدار لیستریا مونوسیتوژنز در لجن آبیگری شده ۲۰-۱۵/۰ MPN/gr و در لجن هضم شده ۲۴۰-۱ MPN/gr شمارش شده است [۱ و ۲]. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج مطالعه صورت گرفته در فرانسه بر روی فراوانی لیستریا مونوسیتوژنز در تصفیه‌خانه فاضلاب شهری همخوانی دارد [۱ و ۲]. مطالعاتی نیز در خصوص کارایی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری در حذف لیستریا مونوسیتوژنز انجام شده است. الغزالی و همکاران در عراق میزان کارایی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری را در حذف باکتری لیستریا مونوسیتوژنز ۸۵ تا ۹۹/۷ درصد برآورد کرده‌اند [۱۳]. در اسپانیا این میزان ۹۲ درصد اعلام شده است [۲۱]. نتایج به‌دست آمده در اسپانیا و عراق در خصوص کارایی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در حذف لیستریا مونوسیتوژنز با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۱۳ و ۲۱]. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در

#### ۶- منابع

- 1- Garret, N., Picard-Bonnaud, F., and Pourcher, A.M. (2002). "Occurrence of *Listeria* spp. and *L. monaytogenes* in sewage sludge used for land application: effect of dewatering, liming and storage in tank on survival of *Listeria* species." *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 35, 275-283.
- 2- Paillard, D., and Dubois, V. (2005). "Occurrence of *Listeria* spp. in effluents of French urban wastewater treatment plants." *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 7562-7566.
- 3- Atlas, R.M. (1995). "Biological treatment of waste and pollutants." Atlas, R.M. (Ed), *Principles of Microbiology*, Mosby Year Book Inc., St Louis, Missouri.
- 4- Walker, I.M. (1998). "Biosolid management, use and disposal." Meyers, R.A. (Ed.), *Encyclopedia of environmental analysis and remediation*, John Wiley, New York.
- 5- EPA. (1992). *Environmental regulations technology, control of pathogens and vector attraction in sewage sludge*, EPA/625/R-92/013.

- 6- National Research Council. (2002). *Biosolids applied to land: Advancing standards and practices*, USEPA.
- 7- Hocking, A. D., Arnold, G., Jenson, I., Newton, K., and Sutherland, P. (1997). *Foodborne microorganisms of public health significance*, 5<sup>th</sup> Ed., North Sydney: Australian Institute of Food Science and Technology INC. NSW Branch, F.M.G.
- 8- Jawetz, E., Melink J. L., and Adelberg, C. A. (1987). *Review of medical microbiology*, 17<sup>th</sup> Ed., Los Altos: Prentice Hall International, USA.
- 9- Ryser, E. T., and Marth, E. H. (2007). *Listeria, Listeriosis, and food safety*, 3<sup>rd</sup> Ed., Marcel Dekker, New York.
- 10- Sadeghiyan, G. (1995). "Brucella and Listeria monocytogenes isolated from aborted fetuses of cattle." Ph.D. Thesis, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan. (In Persian)
- 11- Harrigan, W.F. (1998). *Laboratory methods In food microbiology*, 3<sup>rd</sup> Ed., Academic Press, London.
- 12- Bridson, E.Y. (1990). *The Oxiod manual, unipath ltd.wade Road, Basing stoke RG24 opn*, 6<sup>th</sup> Ed., Unipath Ltd., London.
- 13- Ghazali, A.L., and Azawi, A.L. (1986). "Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in sewage treatment plant in Iraq." *Appl. Bacterol.*, 60, 251-254.
- 14- APHA. (2003). *Standard method for examination of water and wastewater*, 21<sup>th</sup> Ed., American Public Health Association, Washington D.C.
- 15- Gholami, M., and Mohammadi, H. (1991). *Water and wastewater microbiology*, 2<sup>nd</sup> Ed., Hayan Pub. Tehran. (In Persian)
- 16-Fitter, S., Heuzenroeder, M., and Thoms C.J. (1997). "A combined PCR and selective enrichment method for rapid detection of *Listeria monocytogenes*." *J. of Applied Bacteriology*, 73, 53-59.
- 17- Jalali, M., and Abedi, D. (2008). "Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan." *International J. of Food Microbiology*, 122 (3), 336-340.
- 18- Rahimi, E., Ameri, M., and Momtaz, H. (2010). "Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran." *Food Control*, 21(11), 1448-1452.
- 19- Watkins, J., and Sleath, K.P. (1981). "Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage, sewage sludge and river water." *J. Appl. Bacteriol.*, 50, 1-9.
- 20- Garrec, N., and Stura, L. (2003). Development of protocol for isolation of *Listeria monocytogenes* from sludge." *Water Research*, 37, 4810-4814.
- 21- Combarro M.P., Gonzalez, M., Araujo, M., Amezaga, A.C., Sueiro, R. A., and Garrido, M.J. (1997). *Listeria species* incidence & characterization in a river receiving town sawage from a swage treatment plant." *J. of water, Sci Tech*, 35, 201-204.
- 22- Cordano, A. M., and Jacquet, C. (2009). "*Listeria monocytogenes* isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: Prevalence and strain characterization." *International J. of Food Microbiology*, 132, (3), 176-179.
- 23- Anderson, S., Sant'Ana, M., Igarashi, C., Landgraf, M., Teresa Destro, M., and Bernadette, D.G.M. (2012). "Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil." *International J. of Food Microbiology*, 155 (1-2), 1-9.
- 24- Ponniah, J., Tunung, R., Selina Paie, M., Farinazleen, S.R., Ghazali, M., Kqueen, C., Nishibuchi, M., Nakaguchi, Y., and Malakar, P. R. (2010). "*Listeria monocytogenes* in raw salad vegetables sold at retail level in Malaysia." *Food Control*, 21(5), 774-778.
- 25- Little, C.L., Taylor, F.C., Sagoo, S.K. Gillespie, I.A., Grant, K., and McLauchlin, J. (2007). "Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail pre-packaged mixed vegetable salads in the UK." *Food Microbiology*, 24 (8), 711-717.