

## فراوانی جدایه‌های کلی فرم مقاوم به آنتی‌بیوتیک در فاضلاب شهری قم

سمیه نیکوگفتار رنجبر<sup>۱</sup>، احمدعلی پوربابایی<sup>۲\*</sup>، کامبیز داوری<sup>۱</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله مؤثرترین داروهایی هستند که برای درمان انسان به کار می‌روند. این مواد پس از مصرف به طرق مختلف وارد فاضلاب‌ها شده و به‌عنوان آلاینده‌های مهم زیستی در محیط‌های آبی و زراعی محسوب می‌شوند. فراهم‌بودن شرایط انتقال ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک در بین باکتری‌های فاضلاب، پسماندهای حاصل از محیط‌های انسانی را به یکی از منابع مهم انتشار باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تبدیل کرده است. با توجه به گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بخش‌های درمانی استان قم، هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی و الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در بین باکتری‌های کلی‌فرم جداشده از سیستم تصفیه فاضلاب شهر قم در فصول مختلف سال بوده است.

**روش بررسی:** این مطالعه بر روی ۱۲۰ نمونه از پساب تصفیه‌خانه شهری قم (بخش‌های ورودی و خروجی) انجام شد. بعد از نمونه‌گیری، انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، جداسازی و شناسایی فنوتیپیک باکتری‌های موردنظر، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ طبق استانداردهای CLSI انجام شد. فراوانی باکتری‌ها با روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN) تعیین گردید.

**یافته‌ها:** در این مطالعه از مجموع ۳۸۴ جدایه باکتری (جداشده در فصل‌های بهار، تابستان و زمستان)، اشرشیاکلی (۵۰٪)، سیتروباکتر (۳۰٪)، انتروباکتر (۱۱٪)، کلبسیلا (۱٪) و باکتری غیرکلی‌فرم (پروتئوس) ۸٪ شناسایی شد. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به باکتری‌های سیتروباکتر و انتروباکتر (جداشده در فصل تابستان) نسبت به پنی‌سیلین G با فراوانی ۹۴٪ مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به فراوانی بالای سویه‌های سیتروباکتر و انتروباکتر مقاوم به آنتی‌بیوتیک در تصفیه‌خانه فاضلاب شهری استان قم، به‌خصوص در فصل تابستان می‌توان این اکوسیستم را به‌عنوان یکی از منابع مهم گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک گزارش کرد.

**کلید واژه‌ها:** کلی‌فرم‌ها؛ مقاومت دارویی میکروبی؛ فاضلاب شهری؛ مقاومت آنتی‌بیوتیک.

گروه میکروبی‌شناسی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، کردستان، ایران.

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

احمدعلی پوربابایی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

ahmadalipb@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Nikoogoftar Ranjbar S, Pourbabae AA, Davari K. The frequency of antibiotic resistant coliforms isolated from sewage of Qom City, Iran. Qom Univ Med Sci J 2016;10(10):69-77. [Full Text in Persian]

## مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله مؤثرترین داروهایی هستند که برای درمان انسان به کار می‌روند. با این وجود، چون می‌توانند با جمعیت میکروبی رقابت کنند به‌عنوان آلاینده‌های مهم نیز محسوب می‌شوند (۱). استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها برای اهداف انسانی، دامپزشکی و کشاورزی باعث انتشار مداوم آنها به محیط زیست شده است. نگرانی اصلی نیز از انتشار آن به محیط زیست در رابطه با پیدایش ژن‌ها و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک بوده که پتانسیل درمانی در برابر پاتوژن‌های انسانی و حیوانی را کاهش می‌دهد (۲،۱). برای شناخت کامل گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، لازم است بررسی وجود ژن‌های مقاوم نه تنها در کلینیک؛ بلکه در محیط‌های طبیعی نیز مورد توجه قرار گیرد (۳،۱). برعکس، فلزات سنگین که با تمام اشکال حیات آنتی‌میکروبیال رقابت می‌کنند، عمدتاً میکروبیوسفر را تغییر داده و احتمالاً به‌همین دلیل، به پیامدهای آلودگی آنتی‌بیوتیکی به‌علت تنوع زیستی کمتر توجه شده است. گمان می‌رود برون‌ریزهای تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری از منابع اصلی انسانی برای انتشار آنتی‌بیوتیک‌ها، ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به محیط زیست هستند. روند تصفیه زیستی به‌طور بالقوه، محیطی مناسب برای پیدایش و انتشار مقاومت است. باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک اغلب در باکتری‌های متعلق به شاخص‌های شايع آلودگی مدفوع؛ یعنی کلی‌فرم‌ها و انتروکوک‌ها قرار می‌گیرند (۴). همچنین عوامل مرتبط با عفونت‌های صعب‌العلاج انسان مانند *استاف اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، گونه‌های *انتروکوک* مقاوم به ونکومايسين، باکتری‌های گرم منفی از جمله انتروباکترها، سودوموناس‌ها و **اسیتوباکتر** مقاوم به فلوروکینولون‌ها، کارباپنم‌ها و تولیدکننده‌های وسیع‌الطیف بتالاکتامازها نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند. با این وجود، دانش کنونی درباره شیوع و انواع مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک در محیط زیست چندان کافی نیست. در مقایسه با آنچه که طی سالهای اخیر در رابطه با استانداردهای و طبقه‌بندی داده‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک با منشأ کلینیکی انجام شده، هنوز اطلاعات مربوط به مقاومت باکتری‌های محیطی بسیار پراکنده و ناقص است.

تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری شامل روندهای مختلفی مانند روش‌های مکانیکی، زیستی، فیزیکی، شیمیایی، فیزیکی-شیمیایی می‌باشد که می‌تواند به شیوه‌های مختلف بر سرنوشت آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و به تبع آن در پیدایش و انتشار مقاومت به محیط زیست، تأثیرگذار باشد (۵). بنابراین، این مطالعه با هدف جداسازی و تعیین فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های کلی‌فرم در پساب شهری قم، در سه بازه زمانی (زمستان، بهار، تابستان) صورت گرفت.

## روش بررسی

این مطالعه به روش توصیفی روی نمونه‌های پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، در سال ۱۳۹۳ انجام شد. نمونه‌گیری از پساب‌های آلوده، به‌وسیله ظروف نمونه‌برداری مخصوص (به‌طوری‌که سر ظرف نمونه‌گیری جهت همگن ساختن نمونه و برداشت آن تا ۳ سانتی‌متر خالی بماند) انجام شد. بعد از نمونه‌گیری، یادداشت دما، pH، تاریخ نمونه‌گیری و محل نمونه‌برداری؛ نمونه‌ها سریعاً به فلاسک یخ منتقل شدند تا در کمترین زمان ممکن (۸-۶ ساعت)، آزمایش‌های لازم روی آنها انجام گیرد. جهت جداسازی و شمارش باکتری‌های کلی‌فرم از نمونه‌های پساب، بعد از هموژن کردن نمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل، از محیط کشت برلیان گرین لاکتوز براث و روش MPN (Most Probable Number) استفاده گردید. بعد از کشت و گرماگذاری ۲۴ ساعته، کلنی‌های رشد یافته به محیط جامد EMB انتقال داده شدند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت گرماگذاری، از هر کلنی روی محیط BHI آگار به مدت ۴۸-۲۴ ساعت کشت داده شد (تمام محیط‌های کشت مورد استفاده از شرکت مرک آلمان به‌واسطه نمایندگی تهیه گردید).

بعد از خالص‌سازی و ثبت صفات ماکروسکوپی کلنی‌های رشد یافته، رنگ‌آمیزی گرم از کلنی‌ها انجام شد. وجود باسیل‌های گرم منفی، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی (جزء گروه کلی‌فرم‌ها) مورد شناسایی دقیق با تست‌های تأییدی قرار گرفت. برای شناسایی تأییدی این باسیل‌ها از تست‌های بیوشیمیایی شامل: تخمیر گلوکز، تست اندول، تولید  $H_2S$ ، احیای نیترات، MRVP و سیرتات استفاده شد.

در نهایت، قطر هاله عدم رشد با خط کش میلی متری، اندازه‌گیری و با عناوین مقاوم، حساس و حدواسط طبق استانداردهای CLSI گزارش گردید (۷). اطلاعات به‌دست‌آمده به‌وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

### یافته‌ها

در این پژوهش، از ۱۲۰ نمونه مورد بررسی در سه دوره زمانی (زمستان، بهار و تابستان)، ۳۸۴ باکتری (کلی فرم و غیرکلی فرم) جداسازی گردید. این نمونه‌ها از دو بخش تصفیه‌خانه، حوضچه ورودی {آب‌خام موجود در تجهیزات ورودی تصفیه‌خانه شامل: حوضچه تنظیم جریان (حوضچه آرامش) مجهز به سرریز جانبی آشغالگیر مکانیکی و دستی دریچه‌های کشویی، اندازه‌گیر دبی و حوضچه اختلاط سریع و توزیع جریان} و حوضچه خروجی (شامل آب زلال) تهیه شدند. توزیع باکتری‌های جداسازی براساس فصل در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱: توزیع باکتری‌های جداسازی از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

نام باکتری	تابستان	بهار	زمستان	درصد کل
اشرشیاکلی	۲۲	۷۹	۶۴	۵۰
سیتروباکتر	۲۷	۳۸	۳۹	۳۰
انتروباکتر	۱۰	۱۵	۱۴	۱۱
کلبسیلا	۸	۱۴	۲	۱
باکتری غیر کلی فرم (پروتئوساها)	۳۲	۱۰	۱۰	۸
مجموع	۹۹	۱۵۶	۱۲۹	۱۰۰
جمع کل	۳۸۴			۱۰۰

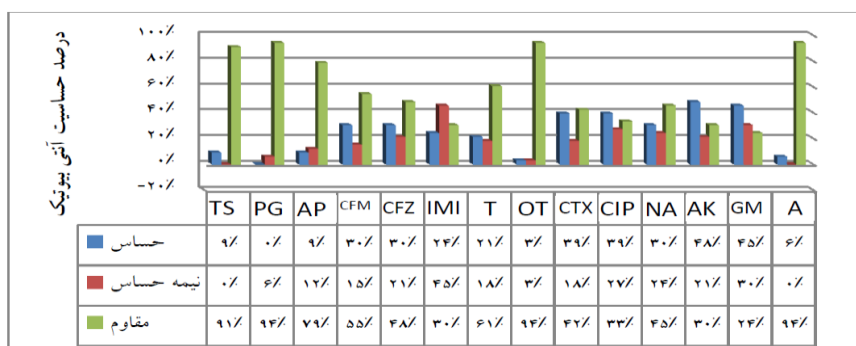
اکسی‌تتراسایکلین ۹۴٪ نشان دادند. همچنین در این فصل در مقایسه پساب‌های ورودی و خروجی، مقاومت جدایه‌ها در پساب خروجی نسبت به انواع گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی، کاهش داشت (نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی باکتری‌های جداسازی در فصل زمستان از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

نام باکتری	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
اشرشیاکلی	۳۳ (۴۸)	۳۱ (۵۲)
سیتروباکتر	۲۸ (۴۰)	۱۱ (۱۸)
انتروباکتر	۴ (۶)	۱۰ (۱۷)
کلبسیلا	۰ (۰)	۲ (۳)
باکتری‌های غیر کلی فرم (پروتئوساها)	۴ (۶)	۶ (۱۰)
مجموع	۶۹ (۱۰۰)	۶۰ (۱۰۰)

جهت تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها، تست آنتی‌بیوگرام روی محیط مولر هینتون آگار MHA به روش دیسک دیفیوژن انجام گرفت. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تی‌متوپریم - سولفامتوکسازول (TS25)، پنی‌سیلین G (PG10)، آمپی‌سیلین (AP10)، سفکسیم (CFM5)، سفنازیدیم (CAZ30)، ایمپنم (IMI10)، تتراسایکلین (T10)، اکسی‌تتراسایکلین (OT30)، سفوتاکسیم (CTX30)، سیپروفلوکسازین (CIP5)، نالیدیکسیک اسید (NA30)، آمیکاسین (AK30)، جنتامایسین (GM10) و آموکسی‌سیلین (A25) از شرکت Mast,UK استفاده شد (۶). برای آنتی‌بیوگرام از کشت ۲۴ ساعته باکتری موردنظر، محلول سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند تهیه گردید، سپس به‌وسیله سواب استریل از هر نمونه، برداشت و در محیط مولر هینتون آگار به‌طور انبوه کشت داده شد و دیسک‌ها با فواصل مشخص (۲/۵ سانتی‌متر از مرکز دیسک کناری و ۱/۵ سانتی‌متر از لبه پلیت) قرار داده شدند و پلیت‌ها نیز به‌صورت وارونه در دمای ۳۴ درجه سانتیگراد انکوبه شدند.

بیشترین باکتری جداسازی در فصل زمستان، اشرشیاکلی و بعد از آن، سیتروباکتر بود و جدایه‌های کلبسیلا، کمترین میزان جدایه بودند (جدول شماره ۲). در این فصل، سویه‌های سیتروباکتر در مقایسه با سه باکتری دیگر، بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه پنی‌سیلین شامل: آموکسی‌سیلین و



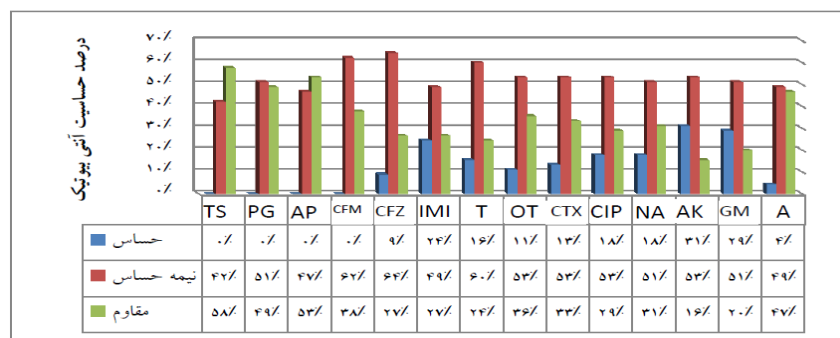
نمودار شماره ۱: الگوی آنتی‌بیوگرام باکتری سیتروباکتر جدا شده در فصل زمستان از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

در این فصل بیشترین مقاومت مربوط به جدایه‌های باکتری *انتروباکتر* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم-سولفومتوکسازول (۵۸٪) و جدایه‌های *اشرشیاکلی* نسبت به آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین G و تری‌متوپریم - سولفومتوکسازول (۵۶٪) بود (جدول شماره ۳، نمودار شماره ۲).

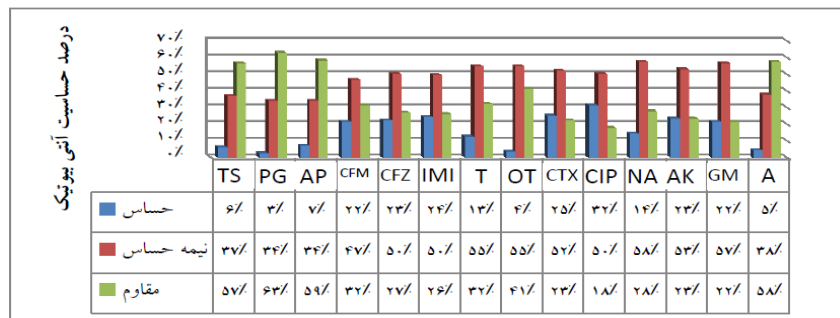
بیشترین باکتری جدا شده در فصل بهار مربوط به جدایه‌های *اشرشیاکلی* و سپس جدایه‌های سیتروباکتر بود. در این فصل در مقایسه با فصل زمستان، میزان جدایه‌های *کلبسیلا* و *انتروباکتر* بیشتر گزارش شد. در فصل بهار نیز باکتری‌های جدا شده، بیشترین مقاومت را به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم - سولفومتوکسازول، پنی‌سیلین G، آمپی‌سیلین و سفنازیدیم نشان دادند.

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی باکتری‌های جدا شده در فصل بهار از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

نام باکتری	نمونه‌های پس از تصفیه تعداد (درصد)	نمونه‌های پیش از تصفیه تعداد (درصد)
<i>اشرشیاکلی</i>	۴۲ (۶۲)	۳۷ (۴۲)
<i>سیتروباکتر</i>	۱۸ (۲۶)	۲۰ (۲۳)
<i>انتروباکتر</i>	۰ (۰)	۱۵ (۱۷)
<i>کلبسیلا</i>	۰ (۰)	۸ (۹)
باکتری‌های غیر کلی فرم (پروتئوس)	۶ (۹)	۸ (۹)
مجموع	۶۸ (۱۰۰)	۸۸ (۱۰۰)



نمودار شماره ۲: الگوی آنتی‌بیوگرام سیتروباکتر جدا شده در فصل بهار از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳



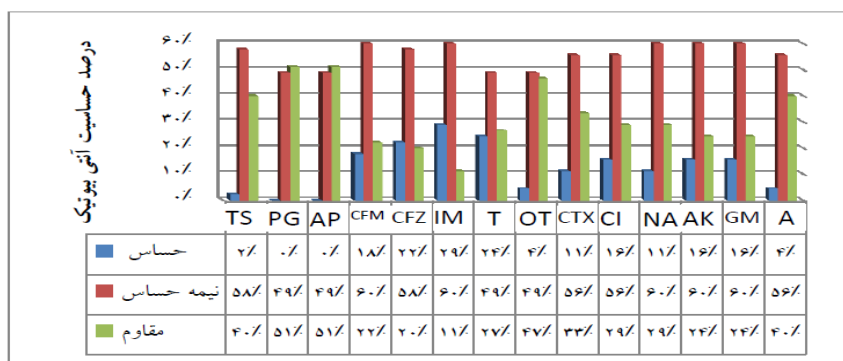
نمودار شماره ۳: الگوی آنتی‌بیوگرام *اشرشیاکلی* جدا شده در فصل بهار از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

در فصل تابستان، بیشترین مقاومت مربوط به جدایه‌های باکتری‌های سیتروباکتر و اتروباکتر نسبت به پنی‌سیلین G مشاهده گردید (جدول شماره ۴، نمودارهای شماره ۴، ۵).

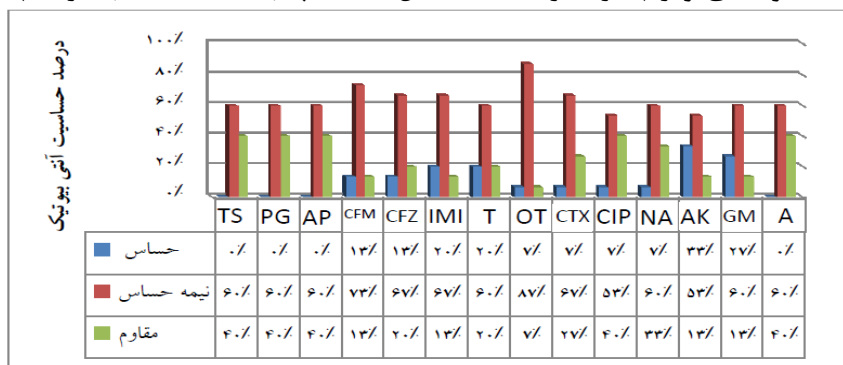
در فصل تابستان، بیشترین باکتری مربوط به جدایه‌های سیتروباکتر و کمترین آن مربوط به جدایه‌های کلبسیلا بود، همچنین در مقایسه با فصول دیگر، میزان باکتری‌های کلی غیرکلی فرم در این فصل، بیشتر بود.

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی باکتری‌های جدایشده در فصل تابستان از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

نام باکتری	نمونه‌های پس از تصفیه تعداد (درصد)	نمونه‌های پیش از تصفیه تعداد (درصد)
اشرشیاکلی	۱۳ (۲۵)	۹ (۱۹)
سیتروباکتر	۱۲ (۲۲)	۱۵ (۳۲)
اتروباکتر	۵ (۱۰)	۵ (۱۰)
کلبسیلا	۳ (۶)	۵ (۱۱)
باکتری‌های غیرکلی فرم (پروتئوس)	۱۹ (۳۷)	۱۳ (۲۸)
مجموع	۱۳ (۱۰۰)	۸۸ (۱۰۰)



نمودار شماره ۴: الگوی آنتی‌بیوگرام سیتروباکتر جدایشده در فصل تابستان از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳



نمودار شماره ۵: الگوی آنتی‌بیوگرام اتروباکتر جدایشده در فصل تابستان از پساب تصفیه‌خانه فاضلاب شهری قم، سال ۱۳۹۳

آلودگی آنتی‌بیوتیکی می‌تواند جمعیت میکروارگانیزم‌های مقاوم را بیشتر کرده و جمعیت ارگانیزم‌های زنده آسیب‌پذیر را کاهش دهد (۸). غلظت بالای آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً در مناطق فعالیت انسان متمرکز است، در حالی که در محیط‌های سالم و تازه، غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها کم است. اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی تجزیه می‌شوند؛ بدین معنی نیست که آنها آلاینده‌های بی‌خطر بوده و یا اینکه بقایای آنها در محیط از بین می‌رود،

## بحث

افزایش شدید غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی، در نتیجه فعالیت‌های انسان همچون درمان انسان، کشت و زرع؛ خواص آنتی‌میکروبیال را تغییر می‌دهد. این تغییرات نه تنها مجموعه میکروارگانیزم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک؛ بلکه ساختار جمعیت میکروبی را تحت تأثیر قرار داده و فیزیولوژی میکروارگانیزم‌ها را نیز تغییر می‌دهد.

به‌عنوان مثال فرآیند تجزیه در زمستان، کند بوده و ترکیب‌بندی و رطوبت خاک نیز به‌نحوی است که تجزیه آنتی‌بیوتیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۹). از طرفی، برخی اکوسیستم‌ها انتشار مداوم آنتی‌بیوتیک‌ها را (مانند فاضلاب بیمارستان‌ها یا پسمانده‌های مزارع) تحمل می‌کنند، به‌طوری‌که صرف‌نظر از تجزیه آنتی‌بیوتیکی، همواره آلوده هستند (۱۰). در مقایسه بین دو فاضلاب شهری و بیمارستانی می‌توان گفت هر دو این فاضلاب‌ها حاوی تعداد زیادی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک بوده و در این میان، باسیل‌های مقاوم گرم منفی قادرند در محیط باقی بمانند و به‌عنوان مخازن ژن‌های مقاوم عمل کنند (۱۱). در این مطالعه در فصل زمستان، در آب ورودی پیش از تصفیه، تعداد ۶۰ باکتری و در آب پس از تصفیه، تعداد ۶۹ باکتری کلی‌فرم جدا شد که بیشترین مقاومت در جنس *سیتروباکتر* نسبت به بتالاکتام‌ها مشاهده گردید. در فصل بهار نیز در نمونه‌های ورودی، ۸۸ باکتری و در نمونه خروجی، ۶۸ باکتری جدا شد که مقاومت *انتروباکتر* به تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول بیشتر از سایرین بود. در فصل تابستان، تعداد ۴۷ باکتری در آب ورودی و ۱۳ باکتری در آب خروجی جدا گردید که جنس‌های *سیتروباکتر* و *انتروباکتر* نسبت به پنی‌سیلین، بیشترین مقاومت را نشان دادند. قانع و همکاران (سال ۱۳۹۳)، در بررسی فاضلاب بیمارستانی شهر تهران بر روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی نشان دادند در مجموع، از ۳۲۰ سویه جداسازی‌شده، بیشترین فراوانی مقاومت مربوط به باسیل گرم منفی و بیشترین سویه جداسازی شده مربوط به *اشرشیاکلی* (۳۳٪) بوده است. همچنین این مطالعه نشان داد بیشترین مقاومت باکتریایی در گروه آمینوگلیکوزیدها می‌باشد (۱۲). در مقایسه با این پژوهش، بیشترین سویه باکتری جدا شده مربوط به *اشرشیاکلی* (۵۰٪) بود که می‌توان گفت فراوانی این باکتری چه در فاضلاب بیمارستانی و چه در فاضلاب شهری بالا می‌باشد. همچنین در این پژوهش، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گروه پنی‌سیلین‌ها قرار داشت که از این جهت، این یافته با نتایج مطالعه قانع همخوانی نداشت. در مطالعه‌ای که توسط Olayemi و همکاران صورت گرفت تمامی سویه‌های جدا شده از فاضلاب بیمارستانی و شهری، حداقل به دو آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین و تتراسایکلین بسیار بالا گزارش شد.

در این تحقیق، مقاومت بالا به آمپی‌سیلین و تتراسایکلین نیز مشاهده گردید (۱۳). اما در پژوهش حاضر، سویه‌های جدا شده در گروه پنی‌سیلین مربوط به پنی‌سیلین G و تری‌متوپریم سولفومتوکسازول از گروه سولفانامیدها، مقاومت بالایی نشان دادند. در مقایسه نتایج این دو تحقیق، گروه‌های آنتی‌بیوتیکی که بیشترین مقاومت را نشان داده‌اند با هم همخوانی ندارند. Usha و همکاران، ۱۲۱ باسیل گرم منفی را از فاضلاب‌های بیمارستانی جداسازی کردند که بیشترین سویه جدا شده مربوط به باکتری *اشرشیاکلی* (۳۷٪) بود. در این مطالعه که بر روی فاضلاب شهری انجام شد، از بین ۳۸۴ باسیل گرم منفی جداسازی‌شده، بیشترین سویه جدا شده مربوط به *اشرشیاکلی* (۵۰٪) بود (۱۴) که در مقایسه این دو نوع فاضلاب، با نتایج این تحقیق همخوانی داشت. Reintha و همکاران، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشرشیاکلی* را در فاضلاب بیمارستانی و شهری استرالیا بررسی و مشاهده کردند در بین عوامل ضد میکروبی، بالاترین میزان مقاومت در گروه پنی‌سیلین‌ها مربوط به آمپی‌سیلین و پی‌پراسیلین بوده است. همچنین آنان گزارش کردند ۵۷٪ سویه‌های جدا شده به تتراسایکلین مقاوم هستند (۱۱). در این مطالعه که بر روی فاضلاب شهری انجام گرفت، بیشترین میزان مقاومت *اشرشیاکلی* در گروه پنی‌سیلین‌ها، مربوط به پنی‌سیلین G (۵۸٪) بود. همچنین بیشترین مقاومت در گروه سولفانامیدها (۵۷٪) نیز دیده شد که نتایج این دو نوع فاضلاب با هم همخوانی داشت. Rizzo و همکاران (سال ۲۰۱۳)، با مطالعه ۱۹۹ جدایه از یک تصفیه‌خانه شهری در دانشگاه کیپ تاون، افزایش مقاومت به سفنازیدیم و کینولون‌ها را در پساب خروجی مشاهده کردند، به‌طوری‌که مقاومت کلی‌فرم‌ها در پساب ورودی، ۷۳٪ و در پساب خروجی، ۷۸٪ اعلام شد (۱۵). این در حالی است که در این پژوهش، کلی‌فرم‌های مقاوم به سفنازیدیم و سپروفلوکسازین در پساب خروجی، ۴۰٪ و در پساب ورودی، ۱۷٪ بود.

### نتیجه‌گیری

طبق نتایج به‌دست‌آمده در فصل تابستان، هر ۴ باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین G، بیشترین مقاومت را داشته‌اند.

همچنین با توجه به فراوانی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در تصفیه‌خانه فاضلاب شهری، می‌توان این اکوسیستم را به‌عنوان یکی از منابع گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در شهر قم معرفی کرد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کارشناسان سازمان آبفا استان قم در نمونه‌برداری، همچنین از کمک‌های آقای علی جوادی از بخش باکتری‌شناسی دانشکده بهداشت سپاسگزاری می‌شود.

در مجموع در این مطالعه، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در فصل تابستان باکتری‌های سیتروباکتر و انتروباکتر نسبت به پنی‌سیلین G از خود نشان دادند.

در فصل بهار نیز بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم - سولفومتوکسازول، پنی‌سیلین G، آمپی‌سیلین و سفنازیدیم بود. همچنین در فصل زمستان، سیتروباکتر بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، اکسی‌تراسایکلین و پنی‌سیلین G ۹۴٪ از خود نشان داد. افزایش مصرف بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک در جامعه و وجود بقایای آنتی‌بیوتیک در اکوسیستم‌های آبی و فاضلاب شهری،

### References:

1. Li W, Shi Y, Gao L, Liu J, Cai Y. Occurrence and removal of antibiotics in a municipal wastewater reclamation plant in Beijing, China. *Chemosphere* 2013;92(4):435-44.
2. Novo A, André S, Viana P, Nunes OC, Manaia CM. Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban. *Water Res* 2013;47(5):1875-87.
3. Auerbach EA, Seyfried EE, McMahon KD. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. *Water Res* 2007;41(5):1143-51.
4. Baquero F, Blazquez J, Loza E, Canton R. Molecular basis of resistance to beta-lactams in infections by *Streptococcus pneumoniae*. *Med Clin (Barc)* 1998;110 Suppl 1:8-11.
5. Baquero F, Martínez JL, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol* 2008 ;19(3):260-5.
6. Armstrong, JL, Shigeno DS, Calomiris JJ, Seidler RJ. Antibiotic-resistant bacteria in drinking water. *Appl Environ Microbiol* 1981;42(2):277-83.
7. Wikler MA. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006:35(1):45-9.
8. Brown KD, Kulis J, Thomson B, Chapman TH, Mawhinney DB. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. *Sci Total Environ* 2006;366(2-3):772-83.
9. Cabello FC. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: A growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol* 2006;8(7):1137-44.
10. Cha J, Yang S, Carlson K. Trace determination of  $\beta$ -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2006;1115(1-2):46-57.
11. Reinthaler F, Posch J, Feierl G, Wüst G, Haas D, Ruckebauer G, et al. Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water Res* 2003;37(8):1685-90.

12. Ghane M, Khanpour R. Antibiotic resistance of gram-negative bacteria isolated from treatme price Data from hospitals and multi-drug resistant plasmid profile. *Med Sci J Islamic Azad Univ* 2014;24(4):235-41. [Full Text in Persian]
13. Olayemi A, Opaleye F. Antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from hospital and urban wastewaters. *World J Microbiol Biotechnol* 1990;6(3):285-8.
14. Usha K, Kumar E, Gopal DS. Occurrence of various beta-lactamase producing gram negative bacilli in the hospital effluent. *Asian J Pharm Clin Res* 2013;6(3):42-6.
15. Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy M, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Water Res* 2013;47(3):957-95.



## The Frequency of Antibiotic Resistant Coliforms Isolated from Sewage of Qom City, Iran

Somaye Nikoogoftar Ranjbar<sup>1</sup>, Ahamd Ali Pourbabaee<sup>2\*</sup>, Kambiz Davari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Science & Research Branch, Sanandaj Islamic Azad University, Kordestan, Iran.

<sup>2</sup>Department of Agricultural Biotechnology, Pardise of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

\*Corresponding Author:  
Ahamd Ali Pourbabaee,  
Department of Agricultural Biotechnology, Pardise of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.

Email:  
ahmadalipb@gmail.com

Received: 8 Aug, 2015

Accepted: 21 Dec, 2015

### Abstract

**Background and Objectives:** Antibiotics are among the most effective drugs used to treat humans. These materials enter in different ways into sewage and known as important biological contaminants in aquatic and agricultural environment. The availability of conditions for antibiotic resistance gene transfer to sewage bacteria, converted human environmental wastes to an important source of antibiotic resistant bacteria. Considering the spread of antibiotic resistant strains in treatment centers of Qom province, the aim of this study is to investigate the frequency and antibiotic resistance pattern in coliform bacteria isolated from wastewater treatment system of Qom city in different seasons.

**Methods:** This study was carried out on 120 samples of municipal wastewater treatment plant (incoming and outgoing) in Qom. After sampling, transport of samples to the laboratory, isolation and phenotypic identification of bacteria, and Determination of antibiotic resistance pattern, were performed according to CLSI standards. The frequency of bacteria was determined using most probable number (MPN) method.

**Results:** In this study, of 384 strains of bacteria (isolated in spring, summer, and winter), *Escherichia coli* (50%), *Citrobacter* (30%), *Enterobacter* (11%), *Klebsiella* (1%) and non-coliform bacteria (*Proteus* sp.) 8%, were identified. The most antibiotic resistance was observed in *Citrobacter* and *Enterobacter* bacteria (isolated in summer) to penicillin G with a frequency of 94%.

**Conclusion:** Due to the high frequency of antibiotic resistance in *Citrobacter* and *Enterobacter* strains in the sewage treatment plant in Qom province, especially in the summer, this ecosystem can be reported as an important source of spread of antibiotic-resistant strains.

**Keywords:** Coliforms, Antimicrobial drug resistance, Municipal sewage, Antibiotic resistance.