

آنالیز میکروبی هتروتروفي شبکه شرب آب شهرستان اراك و ارتباط آن با MPN، شاخص های فیزیکوشیمیایی آب و جنس لوله ها

فریا فتحی^{۱*}

Fathi_farimah@yahoo.com

محمد ارجمندزادگان^۲

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۰۹

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۸/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: تامین آب آشامیدنی سالم و بهداشتی نقش مهمی در سلامت و رفاه جامعه دارد. وجود شرایط نامناسب در انتقال و توزیع آب آشامیدنی، از مهم ترین علل ایجاد آلودگی ثانویه باکتریایی می باشد. این پژوهش با هدف آنالیز میکروبی هتروتروفي شبکه آب شهرستان اراك و ارتباط آن با پارامترهای فیزیکوشیمیایی و جنس لوله های شبکه آب صورت گرفته است. **روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی تحلیلی تعداد ۵۰۰ نمونه به صورت تصادفی و تحت شرایط استاندارد از شبکه آب آشامیدنی شهرستان اراك تهیه و متغیرهای HPC، MPN، کلر آزاد باقی مانده، کدورت، pH و دما اندازه گیری شد و تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده، از طریق آزمون آماری رگرسیون صورت گرفت.

یافته ها: بر اساس نتایج آنالیز آماری، HPC با متغیرهای MPN، pH و کدورت دارای رابطه ی معنی دار مستقیم می باشد ($P\text{-Value} < 0/05$). بین HPC و دما رابطه ی مستقیم وجود دارد ولی چندان معنی دار نیست ($P\text{-Value} < 0/05$). هم چنین مقادیر کلر آزاد باقی مانده با HPC دارای رابطه معنی دار معکوس می باشد ($P\text{-Value} < 0/01$). استفاده از دو روش Pour Plate و Spread Plate در تعیین تعداد باکتری های HPC نشان داد که روش Pour Plate در بیش تر مواقع بهتر از روش Spread Plate عمل می کند. در شناسایی باکتری های جدا شده از نمونه های HPC مثبت، مشاهده گردید که باسیلوس ها و خانواده میکروکوکاسه توانایی فعال بودن در کلر بالا را دارند.

بحث و نتیجه گیری: اندازه گیری HPC به عنوان یک متغیر مهم و تاثیر گذار در کنترل آب آشامیدنی ضروری است.

واژه های کلیدی: آب آشامیدنی، باکتری های هتروتروف، MPN، شاخص های فیزیکوشیمیایی، اراك.

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، آزمایشگاه باکتریولوژی آب شرکت آب و فاضلاب استان مرکزی، اراك، ایران. *مسئول مکاتبات

۲- دانشیار، میکروبیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراك، ایران.

Microbial heterotrophic analysis of water network in Arak city and its correlation with MPN, water physicochemical parameters and pipe material

Fariba Fathi ^{1*}

Fathi_farimah@yahoo.com

Mohammad Arjomandzadegan²

Admission Date: February 28, 2016

Data Received: October 31, 2015

Abstract

Background and Objective: Providing safe and hygienic drinking water has an important effect on the health and well-being of society. This study aims to analyze microbial heterotrophy in the water network in Arak city and its correlation with physicochemical parameters and the material of water pipe network.

Method: In this cross-sectional study, 500 samples have been randomly prepared from the drinking water network in Arak city in a standard condition, and some variables as HPC, MPN, free residual chlorine, turbidity, PH and temperature have been measured.

Findings: Evaluation of the results obtained through regression analysis has been performed. Based on the statistical analysis, HPC variables, MPN, PH and turbidity have a significant relationship with the place (P-Value <0.01). There is a direct, but not significant, relationship between HPC and temperature (P-Value <0.05), while free residual chlorine values reversely associate with HPC (P-Value <0.01). Application of Pour Plate and Spread Plate Method for determining the number of HPC bacteria showed that in most cases the Pour Plate Method super performs the Spread Plate Method. Identification of the bacteria isolated from positive HPC revealed that bacillus and Micrococcaceae family have the ability to be active in high chlorine condition.

Discussion and Conclusion: Monitoring of HPC is necessary as an important variable and effective in the control of drinking water bacteriological quality.

Keywords: Drinking Water, Heterotrophic Bacteria, MPN, Water Physicochemical parameters, Arak.

1- Master of Microbiology, Export of Bacteriology Laboratory, Water and Wastewater Company of Markazi Province, Arak, Iran. * (Corresponding Author)

2- Associate Professor, Medical Microbiology, Infectious Diseases Research Center (IDRC) and Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Iran.

مقدمه

باکتری های هتروتروف گروهی از میکروارگانیسم ها هستند که قادر به سنتز همه ی مواد مغذی مورد نیاز خود نمی باشند. لذا به منبع خارجی مواد آلی و غیر آلی جهت تغذیه وابسته می-باشند (۱).

این باکتری ها شامل باکتری های هوازی و بی هوازی اختیاری هستند. در این گروه، باکتری های غیر بیماری زا و بعضا فرصت طلب (باکتری سودوموناس) و بیماری زا (مثل اشرشیا کلی و آئروموناس) وجود دارند و اغلب آن ها گرم منفی می-باشند (۲،۳).

این باکتری ها در صافی های ماسه ای و غشایی، شبکه های توزیع آب و اجزای آن، خنک کننده ها، مخازن تحت فشار و حتی جدار بطری های آب وجود دارند (۴،۵).

تغییرات جمعیتی این باکتری ها در شبکه های آب شرب از سه جهت حایز اهمیت می باشند: ۱- کیفیت ظاهری، ۲- اقتصادی و ۳- بیماری زا. شاخص متداول مورد استفاده در بررسی کیفیت میکروبی آب و تطابق آن با استانداردهای موجود عبارت است از تعیین حضور باکتری های کلی فرم و اشرشیاکلی در آب طی سه مرحله احتمالی، تاییدی و تکمیلی (۶).

با این حال امروزه باکتری های هتروتروف به صورت شاخص شمارش بشقابی هتروتروف (HPC) تحت عنوان مکمل شاخص کلی فرم در کنترل کیفی آب مورد توجه قرار گرفته است (۷).

در سازمان های آب از شاخص HPC عمدتا به منظور بررسی تاثیر کلر تزریقی به آب استفاده می شود. گاهی از این شاخص به صورت خام جهت بررسی وجود باکتری های چسبنده نیز بهره برداری می گردد ولی هیچ گاه آنالیز میکروبی مد نظر نبوده است. سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا حداکثر مجاز تعداد باکتری های هتروتروف را در شبکه توزیع ۵۰۰ CFU/ML تعیین کرده است (۸).

مطالعه ای توسط ادبرج و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان داده است که ۱ تا ۲ درصد باکتری های هتروتروف دارای قدرت بیماری زایی هستند (۹).

بر اساس تحقیق به عمل آمده در ایالت متحده، توسط استین و همکاران در سال ۲۰۰۵ مشخص می شود که آب آشامیدنی سهم کم تری نسبت به غذا در تماس انسان با باکتری های هتروتروف دارد (۱۰).

اما با در نظر گرفتن تجارب موجود در دنیا (۱۱) و جنبه های افت کیفی آب در اثر تشکیل بیوفیلم نیز، احتمال ایجاد عفونت در افرادی که دارای نقص سامانه ایمنی هستند (۱۲،۱۳) می-توان نتیجه گرفت که پایش HPC می تواند در ردیف فعالیت های روتین کنترل کیفی آب جهت حصول اطمینان از سلامت مصرف کنندگان مد نظر قرار گیرد (۱۴).

از سویی، در مطالعاتی دیگر توسط فرانسیسکو و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داده شده است که بین پارامترهای میکروبی سیستم شبکه توزیع با مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب ارتباط وجود دارد (۱۵،۱۶).

در مطالعه ای دیگر، توسط کارتر و همکاران در سال ۲۰۰۰، باکتری های HPC به عنوان شاخص کلی فرم در کنترل کیفی آب مورد توجه قرار گفت (۷).

باکتری هایی از قبیل لژیونلا و آئروموناس که بیماری زا هستند ممکن است در آب حضور داشته باشند و نبودن کلی فرم به معنی عدم حضور این میکروارگانیسم ها نیست. در مطالعه ای انجام شده توسط مسافری و همکاران در سال ۲۰۱۱ در شهر تبریز، تداخل جمعیت بالای هتروتروف ها را در آزمایش کلی فرم در کشت لاکتوز نشان می دهد هم چنین مطالعه انجام شده در این شهر، حاکی از وجود بیش از حد مجاز باکتری های هتروتروف در آب آشامیدنی ۶ منطقه است که بیش تر به دلیل نامطلوب بودن غلظت کلر آزاد باقی مانده در این مناطق می-باشد (۲).

از سویی، در مطالعه ای مشابه در شهرستان سمنان توسط خدادی و همکاران در سال ۲۰۱۲ میزان HPC در ۹۹/۶۲ درصد از نمونه ها کم تر از حد مجاز گزارش شده است (۱۷). تاکنون کار دقیق و علمی در زمینه آنالیز میکروبی HPC، ارتباط عدد HPC با نتیجه کلی فرم، تاثیر مقادیر مختلف کلر

در نوع باکتری های باقی مانده در HPC، تفاوت باکتری های موجود در HPC در نقاط مختلف یک شهر و فراوانی آن ها کم تر ارایه شده است. با توجه به این که مطالعات انجام شده در این زمینه، در کشورهایی با شاخص های بالای توسعه یافتگی بوده است، از این رو کمبود مطالعاتی از این دست، در کشورهای در حال توسعه که سفره های آب زیرزمینی آن در حال کم شدن می باشد به چشم می خورد.

در این تحقیق، شاخص HPC و ارتباط آن با پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب و جنس لوله در آب آشامیدنی شهرستان اراک که یکی از شهرهای صنعتی ایران است بررسی شده است، این احتمال وجود دارد که با انجام آنالیز دقیق میکروبی یعنی تعیین جنس های میکروبی موجود در هر تست و ارزیابی ارتباط آن با عوامل پیش گفته بتوان از این تست به صورت کاربردی و عملیاتی بهتر استفاده نمود.

روش بررسی

در این تحقیق، وضعیت آب آشامیدنی شهرستان اراک از نظر شاخص HPC در سال ۱۳۹۴ مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور ۵۰۰ نمونه آب از مناطق مختلف شهرستان، با فواصل ۳ روزه به گونه ای تهیه شد (مناطق مختلف سازند، آستانه، عمران، خنداب، پالایش گاه و هندودر) که کل شهر را تحت پوشش قرار دهد (۱۸).

نمونه ها به صورت تصادفی و با رعایت شرایط استاندارد به منظور جلوگیری از آلودگی ثانویه با استفاده از بطری های شیشه ای استریل حاوی تیوسولفات برداشته شده و از نظر شاخص HPC، کلی فرم و هم چنین شاخص های فیزیکی شیمیایی از جمله کلر آزاد باقی مانده، کدورت، دما و pH مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری از شیرهای آب فاقد شیلنگ و بدون آلودگی ظاهری انجام شده و نمونه ها در مجاورت یخ نگه داری و در مدت کم تر از دو ساعت جهت آزمایشات به آزمایش گاه آب و فاضلاب منتقل شدند (۱۸). اندازه گیری شاخص های دما و کلر باقی مانده در محل نمونه برداری صورت گرفت. محیط کشت لاکتوز برات (Lactose Brilliant) و بریلیانت گرین لاکتوز برات (BGB Brilliant)

به منظور مطالعه باکتری های کلی فرم و محیط کشت R2A جهت مطالعه باکتری های هتروتروف مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش MPN به شرح ارایه شده در کتاب استاندارد اجرا گردید (۱۹). به طور خلاصه، در مرحله ی احتمالی از آزمایش تخمیر چند لوله ای، از محیط کشت لاکتوز برات استفاده شد. برای آب آشامیدنی، ده لوله حاوی ۱۰ میلی لیتر نمونه آماده گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵، لوله ها از نظر رشد میکروبی و تولید گاز مورد بررسی قرار گرفتند. در صورتی که بعد از ۲۴ ساعت تمامی نمونه ها نتایج منفی را نشان دادند، جهت اطمینان از صحیح بودن نتایج منفی، ۲۴ ساعت دیگر نمونه ها در انکوباتور قرار داده می شوند. عدم واکنش اسیدی یا تولید گاز پس از ۴۸ ساعت، بیانگر نتیجه منفی بود. ایجاد واکنش اسیدی یا تولید گاز پس از ۴۸ ساعت، بیانگر مثبت بودن آزمایش احتمالی بود. لوله های مثبت در واکنش احتمالی به مرحله ی تأییدی منتقل شدند.

نمونه های آب آشامیدنی که رشد میکروبی را بدون واکنش اسیدی و یا تولید گاز نشان دادند، نیز به مرحله ی تأییدی منتقل شدند. در مرحله تأییدی، از لوله های تخمیری آبگوشت برلیانت گرین لاکتوز بایل (BGB) استفاده شد. لوله ها یا بطری های مرحله ی احتمالی که تولید گاز و اسید در آن ها مشاهده شده بود، به آرامی تکان داده شدند تا ارگانیسم ها در آن به حالت شناور درآیند. با استفاده از یک لوپ استریل ۳ میلی متر قطر، یک یا بیش تر لوپ کامل از لوله تخمیری مرحله ی اول به لوله تخمیر حاوی آبگوشت برلیانت گرین لاکتوز بایل در مرحله ی تأییدی منتقل شد. لوله های مرحله ی تأییدی در دمای ۳۵ گرمگذاری شدند. تشکیل گاز به هر میزان در لوله های دوره ام و در هر زمان تا پایان ۴۸ ساعت انکوباسیون، بیانگر پاسخ در این مرحله است (۱۹).

آزمون HPC به دو روش پخش بشقابی (Spread Plate Count) و روش پورپلیت به منظور مقایسه رشد باکتری های هتروتروف صورت گرفت و دمای انکوباسیون محیط های کشت

به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد تنظیم گردید (۶).

همچنین آزمایش های بیوشیمیایی برای شناسایی سویه های جدا شده باکتریایی در کنار رنگ آمیزی گرم انجام شد (۲۰). علاوه بر آن به منظور تعیین اثر جنس لوله در شبکه توزیع آب شرب، از نقشه های شبکه توزیع بر اساس جنس لوله استفاده گردید. دما با دماسنج پرتابل (سازنده Metrohm) و کلر باقی مانده آزاد توسط کیت کلرسنج DPD اندازه گیری شدند. برای تعیین pH از دستگاه pH متر دیجیتالی مدل ۸۲۷ (سازنده Metrohm) استفاده گردید. پس از کالیبره نمودن دستگاه با بافرهای درجه ۴، ۷ و ۱۰، نمونه ها اندازه گیری گردیدند. کدورت با استفاده از دستگاه کدورت سنج مدل A2100 (سازنده HACH) برحسب NTU سنجش شدند قبل از اندازه گیری، کالیبره کردن دستگاه با سوسپانسیون های

۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ واحد کدورت انجام گرفت. تمام آزمایشات در آزمایشگاه باکتریولوژی آب و فاضلاب استان مرکزی انجام گردید. در نهایت، آنالیز آماری به منظور بررسی ارتباط بین شاخص های فیزیکی-شیمیایی و HPC به روش آزمون های رگرسیون و Ttest با استفاده از نرم افزار SPSS 10.0 صورت گرفت.

بحث و یافته ها

نتایج آنالیز فیزیکی - شیمیایی و بیولوژیکی آب آشامیدنی برای نمونه های مثبت در جدول (۱) ارائه شده است. در این جدول رابطه ی HPC با پارامترهای pH، کلر، کدورت، MPN و دما به وسیله آمار توصیفی (جدول ۲) و آزمون همبستگی پیرسون (جدول ۳) مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی میکروارگانیسم های تلخیص شده از HPC در جداول (۵، ۴ و ۶) نشان داده شده است.

جدول ۱- نتایج آنالیز فیزیکی-شیمیایی و بیولوژیکی آب آشامیدنی برای نمونه های مثبت
Table 1-Physical-chemical and biological analysis of drinking water for positive samples

نوع باکتری های جدا شده	مرحله تاییدی	MPN	مرحله احتمالی	MPN	HPC/Spread plate	HPC/Pour plate	حما C°	کدورت (NTU)	بقیه ماند (mg/l) کل آزاد	pH	چسب لوله	منطقه نمونه برداری	ردیف
میکروکوکوس روزنوس و باسیلوس سرتوس					۰	۳۵	۲۲	۰/۷۲	۰/۳	۷/۴۹	پای تیان	شازند ۱	۱
میکروکوکوس روزنوس و باسیلوس سرتوس					۰	۹	۲۲	۰/۳۹	۰/۴	۷/۵۶	پای تیان	شازند ۲	۲
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۳	۲۳	۰/۲۷	۰/۵	۷/۴۸	آزبست	شازند ۳	۳
باسیلوس سرتوس					۲	۰	۲۲	۰/۴	۰/۶	۷/۶	پای تیان	عمران ۱	۴
باسیلوس سرتوس					۰	۰	۲۲	۰/۳۱	۰/۵	۷/۵۶	آزبست	عمران ۲	۵
استافیلوکوک اپیدرمیدیس و باسیلوس سرتوس	۲				۱۹	۱۴	۲۳	۱/۴	۰/۵	۷/۵۴	آزبست	پالایشگاه ۱	۶
باسیلوس سرتوس					۱	۰	۲۲	۰/۴۳	۰/۶	۷/۴۵	آزبست	استاده ۱	۷
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۱	۲۰	۰/۲۵	۰/۶	۷/۳۱	آزبست	استاده ۲	۸
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۱	۲۱	۰/۳۶	۰/۵	۷/۳۳	آزبست	استاده ۳	۹
باسیلوس سرتوس					۲	۰	۲۲	۰/۵۴	۰/۷	۷/۳۵	پای تیان	استاده ۵	۱۰
باسیلوس سرتوس					۰	۱	۲۳	۰/۶۷	۰/۷	۷/۴۲	آزبست	استاده ۶	۱۱
میکروکوکوس روزنوس					۰	۱	۲۰	۰/۲۸	۰/۷	۷/۲۹	آزبست	استاده ۷	۱۲
میکروکوکوس لوتوس					۲	۲	۲۰	۰/۳۸	۰/۷	۷/۳۱	پای تیان	استاده ۸	۱۳
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۱	۱	۲۰	۰/۱۷	۰/۷	۷/۳۶	آزبست	استاده ۸	۱۴
سالمونلا پاراتیفی A					۰	۳	۲۱	۰/۵۴	۰/۵	۷/۶۵	آزبست	عمران ۲	۱۵
باسیلوس سرتوس					۰	۳	۲۰	۰/۳۸	۰/۵	۷/۶۵	آزبست	عمران ۴	۱۶
سالمونلا پاراتیفی A					۱	۵	۲۰	۰/۴۳	۰/۳	۷/۷۶	پای تیان	عمران ۵	۱۷
میکروکوکوس روزنوس					۰	۱	۲۳	۰/۵۵	۰/۴	۷/۵۵	پای تیان	شازند ۴	۱۸
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۲	۲۰	۰/۶۲	۰/۵	۷/۶۱	پای تیان	شازند ۵	۱۹
سالمونلا پاراتیفی A و باسیلوس سرتوس					۶	۸	۲۴	۰/۸۴	۰/۴	۷/۴۲	آزبست	خنداب ۱	۲۰
استافیلوکوک اپیدرمیدیس و سالمونلا پاراتیفی A					۲	۲	۲۲	۰/۵۳	۰/۴	۷/۴	پای تیان	خنداب ۲	۲۱
سالمونلا پاراتیفی A					۰	۲	۲۲	۰/۶۱	۰/۷	۷/۴	آزبست	خنداب ۳	۲۲
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۱	۲۰	۰/۴۱	۰/۵	۷/۵۱	پای تیان	خنداب ۴	۲۳
سالمونلا پاراتیفی A					۲	۷	۲۳	۰/۳۱	۰/۵	۷/۶۵	آزبست	عمران ۴	۲۴
میکروکوکوس لوتوس و سالمونلا پاراتیفی A					۵۷	۷۳	۲۳	۱/۳۰	۰/۵	۷/۵۴	آزبست	پالایشگاه ۲	۲۵
سالمونلا پاراتیفی A					۵۷	۱۲۸	۲۴	۱/۳۵	۰/۵	۷/۷۱	آزبست	عمران ۵	۲۶
سالمونلا پاراتیفی A و باسیلوس سرتوس					۹	۱۰	۲۶	۰/۵۳	۰/۶	۷/۵۱	پای تیان	خنداب ۵	۲۷
میکروکوکوس روزنوس و باسیلوس سرتوس					۰	۳۵	۲۲	۰/۷۲	۰/۳	۷/۴۹	پای تیان	شازند ۱	۲۸
میکروکوکوس روزنوس و باسیلوس سرتوس					۰	۹	۲۲	۰/۳۹	۰/۴	۷/۵۶	پای تیان	شازند ۲	۲۹
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۳	۲۳	۰/۲۷	۰/۵	۷/۴۸	آزبست	شازند ۳	۳۰
باسیلوس سرتوس					۲	۰	۲۲	۰/۴	۰/۶	۷/۶	پای تیان	عمران ۱	۳۱
باسیلوس سرتوس					۱	۰	۲۲	۰/۳۱	۰/۵	۷/۵۷	آزبست	عمران ۲	۳۲
استافیلوکوک اپیدرمیدیس و باسیلوس سرتوس	۲				۱۹	۱۴	۲۳	۱/۴	۰/۵	۷/۵۴	آزبست	پالایشگاه ۱	۳۳
باسیلوس سرتوس					۱	۰	۲۲	۰/۴۳	۰/۶	۷/۴۵	آزبست	استاده ۱	۳۴
استافیلوکوک اپیدرمیدیس					۰	۱	۲۰	۰/۲۵	۰/۶	۷/۳۱	آزبست	استاده ۲	۳۵

جدول ۲- نتایج آنالیز آماری (توصیفی) داده ها در نمونه های مثبت برداشت شده از شبکه توزیع آب آشامیدنی
Table 2-The results of the statistical analysis (descriptive) of data on positive samples taken from drinking water distribution network

متغیر	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار
pH	۷/۲۳	۷/۷۶	۷/۴۵	۰/۱۴
کلر آزاد باقی مانده (mg/l)	۰/۱	۰/۷	۰/۴۷	۰/۲
کدورت (NTU)	۰/۱۷	۱/۴۲	۰/۵۸	۰/۳
درجه حرارت	۲۰	۲۶	۲۱/۷۵	۱/۵۶
روش Pour Plate	۰	۷۱۰	۲۹/۶۱	۱۱۹/۷
روش spread Plate	۰	۴۴۰	۱۷/۲۸	۷۳/۶۷
MPN مرحله احتمالی	۲	۱۰	۶/۳۳	۳/۲۷
MPN مرحله تاییدی	۲	۸	۵/۲	۲/۱۷

جدول ۳- ضریب همبستگی پیرسون در مورد ارتباط متغیر HPC با سایر متغیرهای اندازه گیری شده

Table3-Pearson correlation coefficient between HPC and other measured variables

متغیر	PH	کلر آزاد باقی مانده	کدورت	دما	MPN
HPC	+۰/۵۳***	-۰/۸۱***	+۰/۷۴***	+۰/۱۶*	+۰/۵۹***

اعداد نشان دهنده ضریب همبستگی پیرسون (r) می باشند.

*ارتباط در سطح ۰/۰۵ (P-Value) معنی دار است.

**ارتباط در سطح ۰/۰۱ (P-Value) معنی دار است.

Regression Analysis: HPC versus NTU

به عنوان یک نمونه بررسی نرمال بودن رگرسیون، HPC (Pour plate) و NTU در این جا آورده شده است.

The regression equation is
 hpc = - 81.7 + 195 ntu

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-81.74	38.62	-2.12	0.042
ntu	195.41	59.57	3.28	0.002

S = 106.407 R-Sq = 24.6% R-Sq(adj) = 22.3%

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	121831	121831	10.76	0.002
Residual Error	33	373641	11322		
Total	34	495472			

Unusual Observations

Obs	ntu	hpc	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	1.40	14.0	191.8	52.4	-177.8	-1.92 X
26	1.35	128.0	182.1	49.6	-54.1	-0.57 X
29	1.23	710.0	158.6	43.0	551.4	5.67R

از آن جایی که $P < 0.05$ ، پس نرمال است.

اثر pH

pH یکی از مهم ترین خواص فیزیکی - شیمیایی آب و یکی از پارامترهای مهم تاثیر گذار بر کیفیت بهره برداری از آب می باشد. با توجه به مقادیر pH به دست آمده و مقایسه با استانداردهای مختلف می توان گفت که pH آب شبکه توزیع مورد بررسی چه از نظر آشامیدن و چه از نظر آبیاری در محدوده مناسبی قرار دارد. آزمون همبستگی پیرسون نشان می دهد که HPC با pH دارای ارتباط معنی دار بودند ($P\text{-Value} < 0/01$). به طوری که با افزایش pH، شمارش احتمالی باکتری های کلی فرم به سمت مثبت حرکت کرد. ارتباط بین HPC و pH در این مطالعه با نتایج انجام شده در شهر تبریز (۲)، هم خوانی داشته اما با نتایج مطالعات شهر اصفهان (۲۱)، هم خوانی نداشت.

اثر دما

درجه حرارت آب در شبکه های توزیع آب آشامیدنی، اثرات بهداشتی مهم ندارد و نمی توان آن ها را با معیارهای بهداشت عمومی تطبیق داد. اداره بهداشت عمومی آمریکا و نیز سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا اعداد راهنما و یا محدود کننده ای را برای درجه حرارت آرایه نموده اند. سازمان بهداشت جهانی نیز در این زمینه عددی را نشان نداده است، ولی اتحادیه اروپا (EC) عدد راهنمای حداقل ۱۲ و حداکثر ۲۵ درجه سانتی گراد را برای آب در نظر گرفته است. به طور کلی می توان به این نکته اشاره کرد که درجه حرارت آب می تواند اثراتی را بر روی تصفیه آب، زندگی جانوران آبی، سرعت واکنش های شیمیایی و ... داشته باشد (۲۱). در هر حال مقادیر دمایی به دست آمده در محدوده اعداد این اتحادیه قرار دارد (جدول ۱). بین HPC و دما رابطه ای مستقیم وجود داشت ولی چندان معنی دار نبود ($P\text{-Value} < 0/05$) (جدول ۳). نتایج مطالعه انجام شده در شهر تبریز (۲) نشان داد که ارتباط بین این دو متغیر معنی دار نبود. همچنین نتایج مطالعات انجام یافته در شهرهای اصفهان (۲۱) و سمنان (۵) مشخص کرد که هر چند رابطه بین این دو متغیر مستقیم بود ولی چندان معنی دار نبود.

اثر کدورت

کدورت پدیده ای است که میزان شفافیت آب را مشخص می کند و به عنوان یک پارامتر غیر میکروبی به طور گسترده ای مورد استفاده قرار می گیرد. به طور کلی آب با کدورت بالا از دو نظر مهم می باشد: ۱- به عنوان یک پارامتر فیزیکی، زیرا از نظر زیبایی ظاهری می تواند مورد اعتراض مصرف کنندگان واقع شود و ۲- به عنوان یک پارامتر بیولوژیکی مد نظر باشد، زیرا ممکن است باعث رشد و تکثیر پاتوژن ها شده و هم باعث کاهش اثربخشی گندزدایی آب شود. میانگین کدورت آب ($0/58\text{NTU}$) با محدوده ($0/1-17/42\text{NTU}$)، در این مطالعه حاکی از مطابقت غلظت این پارامتر با استانداردهای آرایه شده (حداکثر مقدار مجاز 5NTU و مقدار مطلوبیت 1NTU) توسط US-EPA بود (۲۱). اما با استانداردهای سخت گیرانه سازمان جهانی بهداشت (کدورت کمتر از 1NTU) مطابقت نداشت (۱۴). با توجه به آنالیز همبستگی پیرسون، مشاهده شد که کدورت با مقدار شمارش باکتری های HPC دارای رابطه معنی دار مستقیم می باشد ($P\text{-value} < 0/01$)، به گونه ای که با افزایش کدورت، HPC افزایش می یابد. مطالعه ی گذشته از جمله مطالعه هاس و همکاران در سال ۱۹۸۳ در مورد ارتباط پارامترهای میکروبی سیستم شبکه توزیع با مشخصات فیزیکی و شیمیایی نیز وجود چنین ارتباطی را تایید می کند (۲۲).

اثر کلر آزاد باقی مانده

در این مطالعه میانگین کلر باقی مانده آزاد ($0/47\text{mg/l}$) با محدوده ($0/0-1/7\text{mg/l}$) می باشد. استاندارد ملی، حداقل کلر آزاد باقی مانده را ($0/2\text{mg/l}$) بیان می کند. با توجه به آنالیز همبستگی پیرسون، مشاهده گردید که مقادیر کلر آزاد باقی مانده با مقادیر باکتری های HPC دارای رابطه معنی دار معکوس می باشد ($P\text{-Value} < 0/01$)، به گونه ای که با افزایش کلر آزاد باقی مانده در شبکه توزیع، تعداد کلنی ها کاهش می یابد که دلیل اصلی آن حساسیت باکتری های هتروتروف نسبت به کلر است. نتایج حاصله با نتایج مطالعات انجام یافته در شهرهای تبریز (۲)، اصفهان (۲۱) و سمنان (۵) هم خوانی داشت. مطالعه ی کی و همکاران در سال ۱۹۹۹ در خصوص رشد مجدد باکتریایی در سیستم های توزیع آب

شناسایی باکتری های جدا شده مشخص گردید، در مواردی که باسیلوس سرئوس در نمونه وجود دارد، روش Spread Plate مورد اعتماد تر است و قادر به جداسازی باسیوس سرئوس می باشد.

اثر جنس لوله

جنس لوله ها در افزایش یا کاهش جمعیت باکتری ها نقش به سزایی دارد. در این مطالعه، تاثیر جنس لوله در افزایش باکتری های هتروتروف به وضوح مشاهده گردید (جدول ۱)، به طوری که بیشترین درصد نمونه هایی که HPC بالا داشتند، مربوط به شبکه هایی با جنس آزبست می باشد. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص گردید لوله های آزبست به دلیل سطح فراوان و خلل و فرج، محیطی مناسب برای رشد باکتری ها و تشکیل بیوفیلم می باشند. انتخاب جنس لوله و مواد حاصل از خوردگی به طور چشم گیری قابلیت کنترل بیوفیلم و در نتیجه باکتری های هتروتروف را در سیستم های آب آشامیدنی تحت تاثیر قرار می دهد. حضور این باکتری ها موجب تسریع در پدیده خوردگی بیولوژیکی و کاهش آب دهی خطوط آب رسانی و ممانعت از تاثیر کلر و سایر عوامل گندزدا شده و بستر مناسبی را برای بقا و تولید میکروارگانیسم های گوناگون فراهم می نماید.

جداسازی و شناسایی باکتری های موجود در نمونه های شبکه

تلخیص باکتری های عامل آلودگی آب، از نمونه های HPC مثبت به صورت ایزوله تهیه و بعد از انجام رنگ آمیزی گرم، آزمایش های شناسایی منجر به تشخیص ۶ گونه باکتریایی میکروکوکوس لوتئوس، میکروکوکوس روزوئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس، اشرشیا کلی، سالمونلا پاراتیفی A و باسیلوس سرئوس گردید. نتایج آزمایش های بیوشیمیایی برای این باکتری ها در جداول (۴، ۵، ۶) قابل مشاهده می باشد (۲۴).

آشامیدنی و رابطه آن با استراتژی های گندزدایی، وجود چنین ارتباطی را تایید می کند (۲۳).

شمارش احتمالی کلیفرم ها (MPN) (Most Probable Number)

شناسایی باکتری های نشان گر یکی از بهترین راه ها برای ارزیابی کارایی روش های گندزدایی آب است. مهم ترین باکتری های نشان گر به ترتیب اهمیت شامل اشرشیا کلی، سایر کلی فرم های گرم پای و کلی فرم ها می باشد. وجود این باکتری ها در آب نشان دهنده ناکافی بودن فرآیند تصفیه و هم چنین آلودگی متناوب و اخیر آب با مدفوع انسان و حیوان می باشد. روش MPN یک روش مناسب برای جداسازی و شناسایی این باکتری ها است. با توجه به آنالیز همبستگی پیرسون مشاهده شد که HPC با روش MPN دارای رابطه ی معنی دار مستقیم می باشد ($P\text{-Value} < 0.01$)، به طوری که در این مطالعه، نمونه خنداب ۷ با $HPC=710$ دارای $MPN=5$ تاییدی می باشد. رخداد MPN مثبت در نمونه ها بسیار کم بود که نشان دهنده ی کیفیت بهینه مثبت می باشد.

مقایسه دو روش Spread Plate و Pour Plate

اگرچه HPC به عنوان شاخص سلامت میکروبی کم تر مورد توجه است، اما شمارش و تعیین مقدار این باکتری ها مشخص کننده چگونگی عمل کرد و شاخص فرآیندهای تصفیه آب و تاسیسات شبکه توزیع محسوب می شود. دو روش Spread Plate و Pour Plate در توانایی آن ها در تعیین مقدار HPC با هم مقایسه شدند. همان گونه که در جدول مشاهده می شود (جدول ۱)، روش Pour Plate به صورت کاملا مشخصی بهتر از روش Spread Plate قادر به ارایه ی تعداد باکتری ها بوده است. در چند مورد از جمله عمران ۱، عمران ۲ و آستانه ۴ با وجود منفی شدن Pour Plate، روش Spread Plate قادر به ارائه تعداد باکتری ها بوده است. پس از

جدول ۴- نتایج آزمون های بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتری های جدا شده از نمونه های شبکه مورد آزمایش شده

Table 4-The results of biochemical tests in order to identify the bacteria isolated from the tested network

Test bacteria	ایندول	SH2	TSI	متیل رد	VP	سیترات	حرکت	اوره	لازین	گلوکز
سالمونلاپاراتیفی A	-	-	K/AG	+	-	-	+	-	-	+
اشرشیاکلی	+	-	A/AG	+	-	-	+	+	+	+

جدول ۵- نتایج آزمون های بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتری های جدا شده از نمونه های شبکه مورد آزمایش

Table 5-The results of biochemical tests in order to identify the bacteria isolated from the tested network

Test bacteria	پیگمان	باسیتراستین	لاکتوز	اکسیداز	کاتالاز	نمک ۷،۵	نمک ۱۰	نمک ۱۵
میکروکوکوس لوتئوس	زرد	-S	+	+	+	-	-	-
میکروکوکوس رزئوس	صورتی	-S	-	-	+	-	-	-
استاف اپیدرمایدیس	سفید	+R	-/+	-	+	+	+	+/-

جدول ۶- نتایج آزمون های بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتری های جدا شده از نمونه های شبکه مورد آزمایش شده

Table 6-The results of biochemical tests in order to identify the bacteria isolated from the tested network

Test bacteria	حرکت	لیسیتیناز	لاکتوز	رنین	اکسیداز	کاتالاز	مانیتول	آرابینوز
باسیلوس سرئوس	+	+	+	+	+	-	-	-

های ثانویه باکتریایی و اصلاح وضعیت مناطق مشکل دار از اهمیت به سزایی برخوردار است تا بدن گونه باعث افزایش رضایت مندی مصرف کنندگان گردد. در این پژوهش ارتباط بین HPC با پارامترهای فیزیکیوشیمیایی و جنس لوله های شبکه توزیع آب در یک محیط استاندارد صورت گرفت. هم چنین شناسایی باکتری های جدا شده از نمونه های HPC مثبت انجام شد و نتایج زیر استخراج گردید:

۱- HPC با پارامتر pH دارای رابطه معنی دار مستقیم می باشد.

۲- HPC با پارامتر دما رابطه ای مستقیم دارد ولی چندان معنی دار نمی باشد.

۳- HPC با پارامتر کدورت دارای رابطه ای معنی دار مستقیم می باشد. وجود کدورت در آب بر روی راندمان فرآیند گندزدایی آب با کلر تاثیر منفی دارد، لذا، هر چه کدورت آب پایین تر باشد راندمان گندزدایی افزایش یافته و از طرف دیگر بالا بودن

جداسازی اشرشیاکلی و سالمونلا با MPN احتمالی ۱۰ و تاییدی ۵ در نمونه ی خنداب ۷ نشان دهنده تاثیر کلر پایین (۰/۳ ppm) نسبت به حالت مشابه در پالایش گاه ۱ با کلر (۰/۵ ppm) و MPN احتمالی ۲ می باشد. جدا شدن سالمونلا در نمونه های عمران ۳، عمران ۵ و خنداب ۱ با توجه به MPN منفی آن جالب توجه بود. باسیلوس ها به دلیل تشکیل اسپور در مجاورت کلر بالا مانند آستانه ۴ و آستانه ۵ با کلر (۰/۷ ppm) پایداری قابل توجهی دارند. نکته قابل توجه در این بررسی این بود که در موارد کلر بالا (۰/۷ ppm) ، علاوه بر باسیلوس ها ، باکتری های خانواده میکروکوکاسه شامل میکروکوکوس لوتئوس، میکروکوکوس رزئوس و استاف اپیدرمیدیس که قابلیت تشکیل اسپور را ندارند در نمونه های آستانه ۶، آستانه ۷ و آستانه ۸ مشاهده شدند.

نتیجه گیری

بررسی HPC در کنار اندازه گیری شاخص های متداول مانند کل کلی فرم و کلی فرم گرمپای، در ارزیابی کیفی آب شرب برای دست یابی به آب سالم و بهداشتی، پیشگیری از آلودگی

- in bottled mineral water. Food Control 2013; 31(1): 90-96.
- 2- Mosaferi M, Shakerkhatibi M, Mehri A. Heterotrophic bacteria in drinking water in Tabriz, Iran. J of school of public health and institute of public health research. 2011 winter; 8 (4): 83-92. [in Persian]
 - 3- Figueras MJ, Borrego JJ. New perspectives in monitoring drinking water microbial quality. IntJ Environ Res Public Health.2010; 7 (12): 4179-4202.
 - 4- Chowdhury S. Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system: a review. Environ Monit Assess. 2012; 184: 6087– 6137.
 - 5- Kokkinakis EN, Fragkiadakis GA, Kokkinaki AN. Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology. Food Control 2008; 19(10): 957-961.
 - 6- American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21th ed. Washington, D.C. 2001. Part 9000 Microbiological Examination. Section 9215.
 - 7- Carter JT, Rice EW, Buchberger SG, Lee Y. Relationships between levels of heterotrophic bacteria and water quality parameters in a drinking water distribution system. Water Research. 2000;34 (5): 1495-1502.
 - 8- United States Environmental Protection Agency(USEPA). National primary drinking water standards. March 2001. Available at <http://www.epa.gov/safewater>. EPA 816-F-01-007 March 2001.P: 1&4.
 - 9- Edberg SC, Allen MJ. Virulence and risk from drinking water of

راندمان گندزدایی سبب بهبود کیفیت میکروبی آب می شود (۲۶و۲۵).

۴- HPC با پارامتر کلر آزاد باقی مانده دارای رابطه معنی دار معکوس می باشد.

۵- HPC با پارامتر MPN دارای رابطه معنی دار مستقیم می باشد. البته با توجه به آزمایشات انجام شده عدم وجود باکتری های کلی فرم دلیلی بر عدم وجود باکتری های هتروتروف نبوده و هریک از این شاخص ها، ارزش و جایگاه خود را در خصوص کنترل کیفیت میکروبی آب دارا می باشد.

۶- انجام آزمون HPC با دو روش Pour Plate و Spread Plate نشان داده شد که روش Pour Plate بهتر از روش Spread Plate قادر به ارایه تعداد باکتری ها می باشد، ولی در مواردی روش Spread Plate جواب بهتری داده است.

۷- لوله های آزیست نسبت به لوله های پلی اتیلن، محیطی مناسب تر برای رشد باکتری ها و تشکیل بیوفیلم می باشد. بنابراین جنس لوله ها در افزایش یا کاهش جمعیت باکتری ها نقش به سزایی دارند.

۸- نتایج حاصل از شناسایی باکتری های جدا شده از نمونه های HPC مثبت نشان می دهد که در موارد MPN منفی، احتمال وجود سالمونلا وجود دارد و در کلر بالا علاوه بر وجود باسیلوس ها، خانواده میکروکوکاسه علیرغم نداشتن اسپور حضور دارند.

تشکر و قدردانی

نویسنده مقاله تشکر خود را از شرکت آب و فاضلاب استان مرکزی، پروفیسور سعید امانی، مهندس امیرحسین اسلام پناه و مهندس نیلوفر امانی جهت اجرای طرح تحقیقاتی فوق اعلام می دارد.

Reference

- 1- Falcone-Dias MF, Filho AF. Quantitative variations in heterotrophic plate count and in the presence of indicator microorganisms

- 17- Khodadadi A, Ayati B, Bineshian F. Bacteriological of Semnan drinking water distribution. The Modares Journal of Civil Engineering. 2012 winter; 12 (4): 91-98. [in Persian]
- 18- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Water quality – Sampling formicrobiological examination of water – Code of practice. 4208.1st.Revision. 2007:12-39. [in Persian]
- 19- Abo-Amer AE, Soltan el-SM, Abu-Gharbia MA. Molecular approach and bacterial quality of drinking water of urban and rural communities in Egypt. Acta Microbiol Immunol Hung 2008; 55: 311-26.
- 20- Rompré A, Servais P, Baudart J, et al. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. J Microbiol Methods. 2002; 49: 31-54.
- 21- Dobaradaran S, Bina B, Nasr Isfahani B. The effect of some physical and chemical parameters on regrowth of aeromonas bacterium and heterotrophic bacteria in Isfahan drinking water system. Journal of water and wastewater. 2006 winter; 57 (17): 8-13. [in Persian]
- 22- Hass, C.N., Meyer, M.A., and Paller, M.S. (1983). "Microbial alternations in water distribution systems and their relationship to physical – chemical characteristics." *J. AWWA*, 75, 475-481 .
- 23- Kaye, N. Power, Laslo, A., and Nagy. (1999). "Relationship between bacterial regrowth and some physical and chemical parameters Sydney's drinking water distribution system." *J. Water Research* , 33 , 741-750 .
- heterotrophic plate count bacteria in human population groups. International Journal of Food Microbiology. 2004May; 92 (3): 255–263.
- 10- Stine SW, Pepper IL, Gerba CP. Contribution of drinking water to the weekly intake of heterotrophic bacteria from diet in the United States. Water Research. 2005 January; 39 (1): 257-263.
- 11- Sartory, D.P., 2004. Heterotrophic plate count monitoring of treated drinking water in the UK: a useful operational tool. International Journal of Food Microbiology, 92 (3), pp. 297-306.
- 12- Francisque A, Rodriguez MJ, Mirandamoren LF, Sadiq R, Proulx F. Modeling of heterotrophic bacteria counts in a water disstribution system. Water Res 2009; 43(4): 1075-1087.
- 13- Shar AH, Kazi YF, Kanhar NA, Soomro IH, Zia SM, Ghumro PB. Drinking water quality in Rohri City, Sindh, Pakistan. African Journal of Biotechnology. 2010 October; 9 (42): 7102-7107.
- 14- WHO. Guidelines for drinking-water quality. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2008.
- 15- Shar AH, Kazi YF, Kanhar NA, Soomro IH, Zia SM, Ghumro PB. Drinking water quality in Rohri City, Sindh, Pakistan. African Journal of Biotechnology. 2010 October; 9 (42): 7102-7107.
- 16- Francisque A, Rodriguez MJ, Mirandamoren LF, Sadiq R, Proulx F. Modeling of heterotrophic bacteria counts in a water disstribution system. Water Res 2009; 43(4): 1075-1087

- and the human health. London: IWA Publishing WHO; 2003. p. 233-44.
- 26- Salvato JA, Nemerow NL, Agardy FJ. Environmental engineering. 5th ed. Hoboken: John Wiley and Sons; 2003. p. 755-9.
- 24- Rompre A, Servais P, Baudart J. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: Microbial Methods. 2002; 49: 31-54.
- 25- Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A. Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety: The significance of HPCs for water quality