**مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی**
**دوره ۸ شماره ٤ زمستان ۱۳۸۹ ، صفحات : ۹۲- ۸۳**

# باکتری‌های هتروتروف در آب آشامیدنی شهر تبریز

**محمد مسافری:** دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز کشوری مدیریت سلامت (NPMC)، تبریز، ایران
**محمد شاکرخطیبی:** استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات علوم تغذیه، تبریز، ایران- نویسنده رابط: shakerkhatibim@tbzmed.ac.ir
**اکرم مهری بادلو:** کارشناس، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
**تاریخ دریافت : ۱۳۸۹/۵/۱۲ تاریخ پذیرش : ۱۳۸۹/۸/۲۵**

## چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه باکتری‌های هتروتروف به‌صورت شاخص شمارش بشقابی هتروتروف (HPC) به‌عنوان مکمل شاخص کلیفرم در کنترل کیفی آب مورد توجه قرار گرفته است. سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا حداکثر مجاز تعداد باکتری‌های هتروتروف را در شبکه‌های توزیع ۵۰۰ cfu/mL تعیین کرده است. نظر به اینکه تعیین باکتری‌های هتروتروف در آب آشامیدنی شهر تبریز جزء آزمایش‌های معمول نبوده و اطلاعات منتشر شده‌ای در این زمینه وجود ندارد لذا در این مطالعه، شاخص HPC در آب آشامیدنی شهر تبریز مورد بررسی قرار گرفته و مقادیر آن تعیین شده است.

**روش کار:** ۵۰ نمونه آب از مناطق مختلف شهر تبریز، به‌گونه‌ای تهیه شد که کل شهر را پوشش دهد. نمونه‌ها به‌صورت تصادفی و تحت شرایط استاندارد تهیه و از نظر شاخص HPC، کلیفرم، کلر باقی‌مانده، کدورت، دما و pH مورد آزمایش قرار گرفتند. برای کشت باکتری‌های هتروتروف، از محیط‌های کشت R2A و نوترینت آگار استفاده شده و آزمایش HPC به‌روش پخش بشقابی انجام گرفت. آنالیز آماری نتایج بدست‌آمده، از طریق آزمون‌های آماری رگرسیون و T test صورت گرفت.

**نتایج:** در ۵۰٪ نمونه‌های برداشته شده از مناطق مختلف شهر، باکتری‌های هتروتروف مشاهده گردید. بر اساس نتایج شمارش باکتری، تعداد باکتری‌های هتروتروف در شش منطقه بالای ۵۰۰ cfu/mL گزارش شد. نتایج نشان داد که شاخص HPC در شبکه آب شهر تبریز بر اساس محیط نوترینت آگار برابر ۳٤۰ ± ۱۸٤ cfu/mL و بر اساس محیط R2A برابر ۳۱۵ ± ۱۵٤ cfu/mL بوده ضمن اینکه، در محیط کشت نوترینت آگار رشد بهتری مشاهده شد. بر اساس نتایج آنالیز آماری، ارتباط معنی‌داری بین HPC و کلر باقی‌مانده در هر دو محیط کشت وجود داشت (برای نوترینت آگار $p <$ ۰/۰۵ و ۰/۳٤۷- = R، برای R2A، $p <$ ۰/۰۵ و ۰/۳۱۲- = R). همچنین، بین دو شاخص HPC و pH، ارتباط معنی‌داری وجود داشت طوری‌که، با افزایش pH ، HPC نیز افزایش می‌یافت ($p <$ ۰/۰۱). در نهایت، رابطه بین نتایج HPC در دو محیط نوترینت آگار و R2A کاملا معنی‌دار بود ($p <$ ۰/۰۱ ؛ R= ۰/۹۵).

**نتیجه‌گیری:** حضور باکتری‌های هتروتروف در ۵۰٪ از نمونه‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده آن است که این باکتری‌ها در مناطق مختلف شبکه آب آشامیدنی شهر تبریز حضور دارند لذا، پایش ٦ ماهه یا حداقل یک ساله شاخص HPC در کنار باکتری‌های کلیفرم و مقایسه نتایج پایش دوره‌های زمانی مختلف می‌تواند به شناسایی وضعیت شبکه توزیع آب و اصلاح وضعیت مناطق مشکل‌دار و اطمینان بیشتر از کیفیت آب آشامیدنی کمک نماید.

**واژگان کلیدی:** آب آشامیدنی، باکتری هتروتروف، HPC، تبریز

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

## مقدمه

سالم بودن آب آشامیدنی از جنبه‌های فیزیکی، شیمیایی و زیست شناختی نقش مهمی را در بهداشت و سلامت مصرف‌کنندگان ایفا می‌نماید. بر اساس آمار منتشر شده توسط سازمان جهانی بهداشت، مصرف آب حاوی میکروب‌ها سالیانه باعث مرگ ۵ میلیون نفر در دنیا می‌شود که اغلب این افراد را کودکان زیر ۵ سال تشکیل می‌دهند (WHO 2004a). شاخص متداول مورد استفاده در بررسی کیفیت میکروبی آب و تطابق آن با استانداردهای موجود، عبارت است از: تعیین حضور باکتری‌های کلیفرم و اشرشیاکلی در آب طی سه مرحله احتمالی، تائیدی و تکمیلی (APHA 2001). با این‌حال، امروزه شمارش باکتری‌های هتروتروف به روش بشقابی Heterotrophic Plate Count (HPC) ، ازجمله شاخص‌هایی است که به‌عنوان مکمل شاخص کلیفرم در کنترل کیفی آب مورد توجه قرار گرفته و شناسایی باکتری‌های HPC در ارزیابی کیفیت آب در سامانه های ذخیره و توزیع می‌تواند بسیار مفید باشد (Carter et al. 2000). باکتری‌های هتروتروف شامل گروه متنوعی از باکتری‌ها هستند که در همه جا از جمله آب و ذرات گرد و غبار هوا یافت می‌شوند. از جنس‌های غالب این باکتری‌ها می‌توان به فلاوباکتریوم (Flavobacterium)، اکروموباکتر (Achromobacter)، اسینتوباکتر (Acinetobacter)، الکالیژنز (Alcaligenes )، موراگسلا (Moraxella)، ویبریوائرومونا (Vibrio Aeromonas)، سودوموناس (Pseudomonas) و کلیفرم‌های محیطی (کلبسیلا (Klebsiella)، ایروباکتر (Aerobacter) و سیتروباکتر (Citrobacte)) اشاره نمود. مطالعات انجام شده بر روی جنس‌ها و گونه‌های مختلف باکتری‌های هتروتروف نشان‌دهنده غالب بودن گونه‌های سودوموناس (که ممکن است مقاوم به آنتی بیوتیک باشند) می‌باشد (Bitton 2002).

رابرت کخ در سال ۱۸۸۳ برای نخستین بار، روش‌های شناسایی، تشکیل کلنی و شمارش کلنی باکتری‌های هتروتروف را در بررسی کیفی آب مطرح نمود. بر این اساس، باکتری‌هایی از قبیل گونه لژیونلا و آئروموناس هیدروفیلا که دارای پتانسیل بیماری‌زایی هستند، ممکن است در آب موجود باشند و عدم حضور اشرشیا کلی در آب لزوما به معنی عدم حضور این میکروارگانیسم‌ها نیست. از سوی دیگر، مطالعات متعدد بر روی باکتری‌های هتروتروف نشان داده که این باکتری‌ها دارای فاکتورهای بیماری‌زایی می‌باشند. پاتوژن‌های فرصت‌طلب با فلور هتروتروفیک می‌توانند یک خطر عمده برای سلامتی کودکان محسوب گردند. به‌عنوان مثال، برخی گونه‌های سودوموناس، به‌عنوان عامل بیماری‌زای ثانوی به‌طور جدی در ایجاد عفونت در موارد سوختگی در کودکان دخیل هستند. همچنین، این باکتری‌ها در افرادی که دچار نقص ایمنی بدن هستند، دارای اهمیت به سزایی می باشند. بنابراین، آزمایش HPC در آب به‌عنوان ابزاری برای حصول اطمینان از سلامت مصرف‌کنندگان باید مورد توجه قرار گیرد ( WHO 2002).

سازمان حفاظت محیط زیست امریکا (EPA)، حداکثر مجاز تعداد باکتری‌های هتروتروف در شبکه‌های توزیع آب را ۵۰۰ cfu/mL تعیین کرده است USEPA National Primary Drinking Water Standards 2001. ضمن اینکه، بر اساس استاندارد سازمان جهانی بهداشت، آب مورد استفاده برای مصارف آشامیدن و کلیه ی مصارف خانگی از جمله بهداشت فردی باید کیفیت مناسبی داشته باشد و HPC می‌تواند به‌عنوان ابزاری مناسب در موارد زیر مورد استفاده قرار گیرد (WHO 2002):

- تعیین اثربخشی فرایند تصفیه و در شاخص غیرمستقیم حذف باکتری های بیماری زا؛
- سنجش رشد مجدد میکروارگانیسم‌ها؛

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

- تعیین تداخل احتمالی در اندازه‌گیری کلیفرم در روش کشت لاکتوز؛

با توجه به موارد ذکر شده و نظر به اینکه تعیین باکتری‌های هتروتروف در آب آشامیدنی شهر تبریز در ردیف آزمایشات معمول قرار ندارد و تا به‌حال اطلاعاتی در زمینه حضور باکتری‌های هتروتروف در شبکه آب آشامیدنی این شهر منتشر نشده است، این تحقیق، به منظور بررسی و تعیین شاخص HPC در آب آشامیدنی شهر تبریز انجام شده است.

## روش کار

در این تحقیق، وضعیت آب آشامیدنی شهر تبریز از نظر شاخص HPC مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور، ۵۰ نمونه آب از مناطق مختلف شهر، به گونه‌ای تهیه شد که کل شهر را تحت پوشش قرار دهد. برنامه نمونه‌برداری منطبق بر برنامه کلرسنجی روزانه مرکز بهداشت شهرستان تبریز از نقاط مختلف شهر بوده است. نمونه‌ها به‌صورت تصادفی و با رعایت شرایط استاندارد به‌منظور جلوگیری از آلودگی ثانویه با استفاده از بطری‌های شیشه‌ای استریل حاوی تیوسولفات، از مکان‌های عمومی شامل مغازه‌ها، پاساژها، پارک‌ها، برداشته شده و از نظر شاخص HPC و کلیفرم و همچنین، شاخصهای فیزیکوشیمیایی از جمله کلر باقی‌مانده، کدورت، دما و pH مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از شیرهای آب فاقد شیلنگ و بدون آلودگی ظاهری انجام شده و نمونه‌ها در مدت کمتر از دو ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. اندازه‌گیری شاخص های دما و کلر باقی‌مانده در محل نمونه‌برداری صورت گرفت. محیط کشت لاکتوز براث (Lactose Broth) و بریلیانت گرین لاکتوز بایل براث Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGB) به منظور مطالعه باکتری‌های کلیفرم و محیط‌های کشت R2A و نوترینت آگار جهت مطالعه باکتری‌های هتروتروف مورد استفاده قرار گرفت. به کارگیری دو محیط کشت به‌منظور مقایسه رشد باکتری‌های هتروتروف صورت گرفت. آزمایش HPC به‌روش پخش بشقابی (Spread plate count) در آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط دانشکده بهداشت و تغذیه انجام شد. دمای انکوباسیون تمامی محیط‌های کشت در ۳۵ درجه سانتیگراد تنظیم گردید ضمن اینکه، زمان انکوباسیون برای محیط‌های کشت نوترینت آگار و لاکتوز براث، ۴۸-۲۴ ساعت و برای محیط کشت R2A، ۷۲ ساعت در نظر گرفته شد. در نهایت، آنالیز آماری به‌منظور بررسی ارتباط بین شاخص های فیزیکی - شیمیایی و HPC به‌روش آزمون‌های آماری رگرسیون و T test، با استفاده از نرم افزار SPSS 10.0 انجام گرفت.

## نتایج

نتایج آنالیز فیزیکی – شیمیایی و بیولوژیکی آب آشامیدنی شهر تبریز در مناطق مطالعه شده، در جدول ۱ ارایه شده است. بر این اساس، ملاحظه می‌گردد که در ۲۵ نمونه از کل ۵۰ نمونه مورد مطالعه در مناطق مختلف شهر، باکتری‌های هتروتروف وجود دارد. بر اساس نتایج رشد در محیط کشت نوترینت آگار، در ۶ منطقه چایکنار، خیابان بهشتی، سجادیه، منبع، آخر عباسی و الهیه تعداد باکتری‌های هتروتروف بیش از ۵۰۰ cfu/mL شمارش گردید. همچنین، با توجه به نتایج کشت در محیط R2A، در مناطق چایکنار، منبع و الهیه تعداد باکتری‌های هتروتروف بیش از ۵۰۰ cfu/mL بود. با توجه به نتایج بدست‌آمده، باکتری‌های هتروتروف در هر دو محیط کشت مورد استفاده، رشد کرده که البته در محیط کشت نوترینت آگار رشد بهتری مشاهده گردید. مقادیر pH نمونه‌ها در محدوده ۶/۸ تا ۸/۲ و مقادیر کلر باقی‌مانده در اکثر نمونه‌ها بین ۰/۵ تا ۱/۲mg/L بوده و تنها در ۲ نمونه، مقدار کلر باقی‌مانده کمتر از ۰/۵ mg/L بوده است.

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

نتایج تحلیل آماری شاخص های مورد مطالعه، در جدول ۲ ارایه شده است. بر این اساس، شاخص HPC در شبکه آب شهر تبریز بر اساس محیط نوترینت آگار حدود ۳۴۰±۱۸٤ cfu/mL و بر اساس محیط R2A حدود ۳۱۵±۱۵٤ cfu/mL بوده است. آنالیز آماری نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین HPC و کلر باقی‌مانده در هر دو محیط کشت وجود دارد (برای نوترینت آگار $p$ <۰/۰۵ و R = -۰/۳٤۷ برای R2A $p$ <۰/۰۵ و R = -۰/۳۱۲). همچنین، ارتباط آماری معنی‌داری بین HPC و pH مشاهده گردید طوری‌که، با افزایش pH، HPC نیز افزایش یافت ($p$ <۰/۰۵). بر اساس نتایج آنالیز آماری، باکتری‌های کلیفرم و pH نیز دارای ارتباط معنی‌دار بودند $p$ <۰/۰۵ بطوری‌که، با افزایش pH، شمارش احتمالی باکتری‌های کلیفرم به سمت مثبت حرکت کرد. با بررسی نتایج، ارتباط بین HPC و کدورت و نیز HPC و دما معنی‌دار نبود ($p$> ۰/۰۵) اما، ارتباط بین کدورت و کلر باقی‌مانده معنی‌دار بود به‌گونه‌ای‌که، با افزایش کدورت، کلر باقی‌مانده کمتر شده است ($p$<۰/۰۵). همچنین، در خصوص رابطه HPC و دما نیز مشاهده گردید که در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد، تعداد نمونه‌هایی که از نظر HPC مثبت بودند، بیشتر بود. نتایج آزمون آماری نشان داد که بین شاخص HPC در دو محیط کشت مورد استفاده و شاخص MPN ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p$> ۰/۰۵) در حالی‌که، رابطه بین نتایج HPC در دو محیط نوترینت آگار و R2A کاملا معنی‌دار بود ($p$> ۰/۰۱ و R =۰/۹۵).

## بحث

میکروارگانیسم‌ها به‌طور طبیعی در آب و همچنین در سطوحی که با آب در تماس باشند به‌صورت بیوفیلم رشد می‌کنند. رشد میکروارگانیسم‌ها در آب پس از تصفیه‌خانه به‌عنوان رشد مجدد شناخته می‌شود. این رشد نشان‌دهنده مقادیر بالای HPC در نمونه‌های آب است. سطوح بالای HPC به‌ویژه در قسمت‌های راکد سامانه ی لوله‌کشی، اتصالات خانگی، آب‌های بطری‌شده ( Kokkinakis et al. 2008 ) و در تجهیزاتی از قبیل سختی‌گیرها، صافی‌های کربن و آب سردکن‌ها مشاهده می‌شود (WHO 2002). باکتری‌های هتروتروف به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان شاخص کیفیت آب آشامیدنی مورد استفاده قرار می‌گیرند ( Grabow 1996 ). برخی از این باکتری‌ها ممکن است به‌صورت بالقوه بیماری زا باشند و در بیمارانی که مکانیسم دفاعی آن‌ها ضعیف شده است باعث ایجاد عفونت ثانویه شوند. در بین باکتری‌های هتروتروف، ارتباط بین گونه‌های آسینتوباکتر، آئروموناس، فلاوباکتریوم، کلبسیلا، لژیونلا، موراکسلا، مایکوباکتریوم، سراتیا، سودوموناس و زانتوموناس با عفونت‌های فرصت‌طلب ثابت شده است ( Pavlov et al. 2004). در شبکه‌های لوله‌کشی آب آشامیدنی، اندازه‌گیری شاخص HPC می‌تواند نشان‌دهنده وضعیت شبکه توزیع باشد. حضور باکتری‌های هتروتروف در۵۰ درصد از نمونه‌ها در این مطالعه نشان‌دهنده آن است که این باکتری‌ها در مناطق مختلف شبکه لوله‌کشی آب آشامیدنی شهر تبریز رشد می‌کنند بنابراین، قدمت شبکه‌های لوله‌کشی چندان در این امر تاثیرگذار نیست بطوری‌که، حتی در شهرک رشدیه که یک شهرک نسبتا جدید می‌باشد، باکتری‌های هتروتروف مشاهده گردید. در مناطقی که شاخص HPC بالای ۵۰۰ cfu/mL بود، مشخص می‌شود که شرایط مناسبی جهت رشد این باکتری‌ها وجود داشته است. از جمله این شرایط می‌توان به پایین بودن سرعت آب در شبکه یا راکد ماندن آب برای یک مدت قابل توجه اشاره نمود. این موضوع می‌تواند در نقاط کور شبکه یا در حالتی که آب برای مدتی استفاده نشده است، اتفاق بیافتد. به‌عنوان مثال در منطقه عباسی، شاخص HPC در ابتدای عباسی صفر و در آخر عباسی حداقل ۵۰۰ cfu/mL تعیین شد. به‌طور واضح، آخر عباسی دارای ارتفاع بیشتری

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

نسبت به منطقه قبلی بوده و شاید این موضوع در سرعت و رکود آب موثر باشد.

بر اساس نتایج تحقیقات مشابه، مشخص شده که تصفیه آب موجب مهار رشد باکتری‌های هتروتروف می‌شود و به‌طور معمول جمعیت میکروبی هتروتروف در آبی که از تصفیه‌خانه خارج می‌شود، کمتر از ۱۰۰ ارگانیسم در میلی‌لیتر است اما، این جمعیت در نواحی با جریان کند آب (جاهائی که مصرف آب کمتر است)، در مکان‌هایی که قطر لوله تغییر می‌کند و در انتهای شبکه توزیع به‌سرعت افزایش می‌یابد. این موارد معمولا محل‌هایی هستند که در آن‌ها غلظت گندزدای باقی‌مانده کاهش یافته، رسوبات انباشته شده و مواد مغذی برای رشد باکتری‌ها فراهم است (Exner et al. 2003). در منطقه الهیه، رشد غیرقابل شمارش باکتری‌های هتروتروف می‌تواند ناشی از صفر بودن کلر باقی‌مانده باشد. اما در منطقه منبع، با وجود کلر باقی‌مانده ۰/۹ mg/L، رشد غیرقابل شمارش باکتری‌های هتروتروف مشاهده گردید همچنین، آزمایش کلیفرم در محیط لاکتوز براث مثبت بوده که به احتمال فراوان در اندازه‌گیری کلر باقی‌مانده یا انجام کشت، خطایی صورت گرفته است.

با توجه به نتایج ارایه شده در جدول ۲، نکته مثبت در خصوص آب شهر تبریز، پایین بودن کدورت آن می‌باشد. در اغلب موارد، مقدار کدورت کمتر از ۰/۵ NTU بود کیفیت بالای آب را نشان می‌دهد و این موضوع با استانداردهای سخت گیرانه سازمان جهانی بهداشت مطابقت می‌نماید (WHO 2004b). بر اساس تعاریف موجود، آب گندزدایی شده در pH کمتر از ۸ و کدورت کمتر از ۱ NTU، که دارای ۰/۵ mg/L کلر باقی‌مانده آزاد پس از ۳۰ دقیقه زمان تماس باشد، خطر بهداشتی کمتری را برای مصرف‌کننده ایجاد خواهد کرد (Payment et al. 1991). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، مشخص شد که در زمان انجام مطالعه، مقادیر کلر باقی‌مانده در اغلب موارد بیش از ۰/۵ mg/L بوده که نشان‌دهنده کلرزنی قابل قبول می‌باشد. البته در دو منطقه عطار نیشابوری و بلوار منجم، کلر باقی‌مانده حدود ۱/۲ mg/L بود که با توجه به اثرات نامطلوب مواجهه با غلظت‌های بالای کلر بر روی دستگاه گوارشی، لازم است این موضوع بیشتر مورد توجه قرار گیرد. در منطقه الهیه نیز مقدار کلر باقی‌مانده صفر گزارش شد که نشان‌دهنده لزوم نظارت بیشتر بر امر کلرزنی است. تحقیقات نشان داده است که وجود کلر باقیمانده آزاد، چگالی HPC را در محیط R2A در مناطق انتهایی شبکه (Dead end) کاهش می‌دهد (Carter et al. 2000).

روش‌های آزمایش باکتری‌های هتروتروف شامل روش ریختن بشقابی (Pour plate method)، روش پخش بشقابی و روش فیلتر غشایی (Membrane filtration method) می‌باشد و در کشت این باکتری‌ها چهار عامل شامل ترکیب محیط کشت، دمای کشت، زمان نهفتگی و روش کشت میکروبی از اهمیت بسزایی برخوردار هستند (Reasoner 2004). در این مطالعه، با مقایسه عملکرد دو محیط کشت غنی از مواد آلی (نوترینت آگار) و فقیر از مواد غذایی (R2A)، مشاهده گردید که رشد باکتری‌های هتروتروف در نوترینت آگار در اغلب موارد بیشتر از محیط R2A بوده است. با مقایسه زمان انکوباسیون دو محیط و با علم به اینکه در صورت استفاده از محیط غنی، زمان کمتری (حداکثر ٤٨ ساعت) لازم است، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از محیط نوترینت آگار در مدت زمانی کمتر، نتیجه بهتری دارد. نکته دیگر اینکه، اگر رشدی در نوترینت آگار مشاهده نشود، در محیط R2A نیز رشدی اتفاق نمی‌افتد. همچنین، ضریب همبستگی بالای نتایج رشد باکتری‌ها در دو محیط کشت، نشان‌دهنده هم‌خوانی خوبی بوده لذا، می‌توان با اطمینان کامل گفت که از این نظر هیچکدام از محیط‌ها ارجحیتی بر محیط دیگری ندارد و می‌توان از هر کدام به‌جای دیگری در تعیین شاخص HPC استفاده نمود.

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

با توجه به جدول ۱، با مقایسه دو آزمایش HPC و کلیفرم، ملاحظه می‌شود که در نمونه‌هایی که HPC آن‌ها غیرقابل شمارش بوده، نتیجه محیط لاکتوز براث نیز مثبت بوده اما در مرحله تاییدی (محیط BGB)، تمام لوله‌ها منفی بوده و هیچ رشدی مشاهده نشد که دلیلی بر عدم وجود باکتری‌های کلیفرم می‌باشد. بدین ترتیب، می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالا رشد بیش از حد باکتری‌های هتروتروف مانع از رشد کلیفرم در مرحله تاییدی شده است و اینکه، عدم وجود باکتری‌های کلیفرم دلیلی بر عدم وجود باکتری‌های هتروتروف نبوده و هر یک از این شاخص‌ها، ارزش و جایگاه خود را در خصوص کنترل کیفیت میکربی آب دارا می‌باشد.

تحقیقات گذشته نشان داده است که حضور باکتری‌های هتروتروف در تراکم بالا در آب، تعیین آلودگی‌های مدفوعی و بیماری زا را مشکل می‌سازد (Reasoner 2004). تراکم زیاد ارگانیسم‌های هتروتروف (بیش از ۱۰۰۰ ارگانیسم در هر میلی‌لیتر) در نمونه آب می‌تواند موجب عدم حساسیت آزمایش لوله‌ای (شامل آزمایش P-A) و فیلتر غشایی شود. ارگانیسم‌هایی مانند گونه‌های سودوموناس و فلاوباکتریوم می‌توانند مانع رشد کل کلیفرم شده و از مشاهده تولید گاز در تخمیر لاکتوز جلوگیری نمایند و با رشد پراکنده روی سطح فیلتر غشایی و تداخل با کلیفرم‌ها روی محیط M- Endo، مانع تشخیص کلیفرم‌ها شوند. البته با استفاده از محیط‌های کشت اصلاح‌شده شیمیایی، مشکل تداخل ممکن است مرتفع شود اما چگالی بیشتر ایروموناس و فلاوباکتریوم ممکن است به‌طور نسبی باعث اشتباه در شمارش کل کلیفرم‌ها و همچنین در آزمایش E.Coli شود (Bitton 2002).

تحقیقات نشان داده است که ۱ تا ۲ درصد باکتری‌های هتروتروف دارای قدرت بیماریزایی هستند (Edberg and Allen 2004). خطر عفونت ناشی از باکتری‌های هتروتروف از حد خیلی پایین (۷/۳ نفر در یک میلیارد) برای مواجهه کم با آئروموناس تا ۹۸ درصد برای بیماران درمان‌شده با آنتی‌بیوتیک که در معرض مقادیر بالای سودوموناس هستند، متغیر می‌باشد (Pavlov et al. 2004). بر اساس تحقیق به‌عمل‌آمده در ایالات متحده، آب آشامیدنی سهم کمتری نسبت به غذا در تماس انسان با باکتری‌های هتروتروف دارد (Stine et al. 2005). اگرچه ارتباطی بین غلظت HPC و خطر سلامتی انسان‌ها هنوز مشاهده نشده است (Edberg and Allen 2004; Allen et al. 2004) اما، با در نظر گرفتن تجارب موجود در دنیا (Sartory 2004) و جنبه‌های افت کیفی آب در اثر تشکیل بیوفیلم (ایجاد طعم و بو) و همچنین، احتمال ایجاد عفونت در افرادی‌که دارای نقص سامانه ایمنی هستند می‌توان نتیجه گرفت که پایش HPC می‌تواند در ردیف فعالیت‌های روتین کنترل کیفی آب مد نظر قرار گیرد.

## نتیجه‌گیری

با توجه به حضور باکتری‌های هتروتروف در اغلب مناطق شبکه توزیع آب در شهر تبریز، به‌نظر می‌رسد پایش ٦ ماهه یا حداقل یک‌ساله شاخص HPC و مقایسه نتایج پایش در دوره‌های زمانی مختلف می‌تواند در جهت شناسایی وضعیت عمومی شبکه توزیع آب از اهمیت بسزایی برخوردار باشد. بدیهی است در مناطقی که این شاخص بالا می‌باشد، لازم است با انجام بررسی بیشتر نسبت به رفع علت یا علل محیطی که باعث رشد باکتری‌های هتروتروف در لوله‌های آبرسانی می‌شوند، اقدام نمود تا مصرف‌کنندگان همواره از آب با کیفیت بالا بهره‌مند شوند.

## تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی کمیته تحقیقات دانشجویی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده و نویسندگان مقاله بدین‌وسیله تشکر و قدردانی خود را اعلام

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

می‌دارند. همچنین، از آقای محمد عابدپور به‌دلیل همکـاری در انجام آزمایش‌های فیزیکی –شیمیایی قدردانی می‌گردد.

**جدول ۱- نتایج آنالیز فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی آب آشامیدنی شهر تبریز بر حسب مناطق نمونه‌برداری**

| شماره نمونه | منطقه نمونه‌برداری | pH | حرارت °C | کدورت NTU | کلر باقیمانده mg/L | HPC N-A | HPC R2A | کلیفرم MPN | BGB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | جاده سنتو | ۷/۱ | ۲۵ | ۰/۱۵ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲ | خانه‌سازی | ۷/۱ | ۲٤ | ۰/۲۱ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۳ | بانک ملی | ۷/٤ | ۲۵ | ۰/۲۲ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٤ | چایکنار | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۲٦ | ۰/۸ | ۹۰۰ | ۸۰۰ | صفر | صفر |
| ۵ | توانیر | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۲۰ | ۰/۷ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٦ | خ. بهشتی | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۲۰ | ۰/۷ | ۵۰۰ | ۳۰۰ | صفر | صفر |
| ۷ | ش. پرواز | ۷/٤ | ۲۲ | ۰/۱۰ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۸ | ج. ائل‌گلی | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۱۲ | ۰/۹ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۹ | سجادیه | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱٤ | ۰/۵ | ۸۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۱۰ | آخر مارالان | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۱۳ | ۰/۷ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۱۱ | عطار نیشابوری | ۷/۱ | ۲۲ | ۰/٦۱ | ۱/۲ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ۱۲ | آبرسان | ۷/۱ | ۲۵ | ۰/۱۱ | ۰/۹ | ۲۰۰ | ۳۰۰ | صفر | صفر |
| ۱۳ | رواسان | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۱۱ | ۰/۷ | ۲۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۱٤ | کمربندی سردرود | ٦/۸ | ۲۲ | ۰/۱۲ | ۰/۵ | ۱۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۱۵ | آخماقیه | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۰٦ | ۰/۷ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۱٦ | ش. نور | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۰٦ | ۰/۷ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۱۷ | ۳۵متری رازی | ۷/۱ | ۲٤ | ۰/۱۰ | ۰/۸ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ۱۸ | چ. لاله | ۷/۱ | ۲۲ | ۰/۱۸ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۱۹ | ابوریحان | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۱۲ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲۰ | آخر طالقانی | ۷/٤ | ۲٤ | ۰/۰۹ | ۰/۸ | ۲۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۲۱ | چ. مارالان | ۷/٤ | ۲٤ | ۰/۵۰ | ۰/۸ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ۲۲ | بلوار منجم | ۷/۱ | ۲۳ | ۰/۳۰ | ۱/۲ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲۳ | قره‌اقاج | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۱۰ | ۱ | صفر | صفر | صفر | صفر |

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۲٤ | خ. بهار | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۰۸ | ۱ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲۵ | چ. گجیل | ۷/٤ | ۲٤ | ۰/۲٤ | ۰/۹ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲٦ | یکه دکان | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۰ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲۷ | شکلی | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۳ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۲۸ | منبع | ۷/٦ | ۲۵ | ۰/۱۳ | ۰/۹ | غیرقابل شمارش | غیرقابل شمارش | ۲/۲> | صفر |
| ۲۹ | آخرعباسی | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۲۰ | ۰/۸ | ۷۰۰ | ۵۰۰ | ۲/۲> | صفر |
| ۳۰ | اول عباسی | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۳۷ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۳۱ | الهیه | ۸/۲ | ۲۳ | ۰/۱۸ | صفر | غیرقابل شمارش | غیرقابل شمارش | ۲/۲> | صفر |
| ۳۲ | ش. گلشهر | ۷/۱ | ۲۲ | ۰/۱۸ | ۰/۹ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ۳۳ | خ. ورزش | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۲۰ | ۰/۸ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ۳٤ | آخونی | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/٤۰ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۳۵ | لاله | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۱۱ | ۰/۸ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ۳٦ | قونقا | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۷ | ۱ | ۲۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۳۷ | چ. قاضی | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۱۵ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ۳۸ | بازار | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۱۵ | ۱ | ۳۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۳۹ | خ. امام | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱٦ | ۰/۹ | ۳۰۰ | ۳۰۰ | صفر | صفر |
| ٤۰ | جدیری | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۰ | ۰/۹ | ۲۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ٤۱ | دانشگاه | ۷/٤ | ۲٤ | ۰/۲۱ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٤۲ | خ. ۲۹ بهمن | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۱۸ | ۰/۹ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٤۳ | عمو زین‌الدین | ۷/٤ | ۲٤ | ۰/۰۸ | ۰/۸ | ۲۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ٤٤ | خ. آذربایجان | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۰۹ | ۰/۸ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٤۵ | ارم | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۵ | ۰/۵ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٤٦ | ملندینال | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۰۸ | ۰/٤ | صفر | صفر | صفر | صفر |
| ٤۷ | باغمیشه | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۲ | ۰/۵ | ۱۵۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |
| ٤۸ | رشدیه | ۷/٦ | ۲۳ | ۰/۱۷ | ۰/۵ | ۲۰۰ | ۱۵۰ | صفر | صفر |
| ٤۹ | ولی‌عصر | ۷/٦ | ۲٤ | ۰/۱٤ | ۰/۷ | ۳۰۰ | ۲۰۰ | صفر | صفر |
| ۵۰ | زعفرانیه | ۷/٤ | ۲۳ | ۰/۱۱ | ۰/۷ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | صفر | صفر |

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

جدول ۲- **نتایج آنالیز آماری آب آشامیدنی شهر تبریز بر حسب مناطق نمونه‌برداری**

| شاخص | کلر باقی‌مانده mg/L | دما °C | کدورت NTU | HPC، نوترینت آگار cfu/mL | R2A ،HPC cfu/mL | کل کلیفرم MPN/۱۰۰mL | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| میانگین | ۰/۷۸ | ۲۳/٤ | ۰/۱۷ | ۱۸٤ | ۱٥٤ | ۱/۰٦ | ۷/۳۹ |
| انحراف معیار | ۰/۲ | ۰/۸ | ۰/۱ | ۳٤۰ | ۳۱٥ | ۰/۲٤ | ۰/۲٤ |
| حداقل | صفر | ۲۲ | ۰/۰٦ | صفر | صفر | ۱ | ٦/۸ |
| حداکثر | ۱/۲ | ۲٥ | ۰/٦ | ۱٥۰۰(غیر قابل شمارش) | ۱٥۰۰(غیر قابل شمارش) | ۲ | ۸/۲ |

## References


Allen, M.J., Edberg, S.C. and Reasoner, D.J., 2004. Heterotrophic plate count bacteria-what is their significance in drinking water? *International Journal of Food Microbiology*, **92**(3), pp. 265-274.

American Public Health Association (APHA)., 2001. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21th ed., Washington, D.C.

Bitton, G., 2002. *Encyclopedia of environment microbiology*, 3, John Wiley.

Carter, J.T., Rice, E.W., Buchberger, S.G. and Lee, Y., 2000. Relationships between levels of heterotrophic bacteria and water quality parameters in a drinking water distribution system. *Water Research*, **34**(5), pp.1495-1502.

Edberg, S.C. and Allen, M.J., 2004. Virulence and risk from drinking water of heterotrophic plate count bacteria in human population groups. *International Journal of Food Microbiology*, **92**, pp. 255–263.

Exner, M., Vacata, V. and Gebel, J., 2003. *Public health aspects of the role of HPC - an introduction. World Health Organization*. Published by IWA Publishing London, UK.

Grabow, WOK., 1996. Waterborne diseases: update on water quality assessment and control. *Water S.A.* **22**, pp. 193– 202.

Kokkinakis, E.N., Fragkiadakis, G.A. and Kokkinaki, A.N., 2008. Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology. *Food Control*, **19**, pp. 957–961

Pavlov, D., Wet, de. CME., Grabow, WOK. and Ehlers, M.M., 2004. Potentially pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria isolated from treated and untreated drinking water. *International Journal of Food Microbiology*, **92**, pp. 275–287.

Payment, P., Franco, E., Richardson, L. and Siemiatychi, J., 1991. Gastrointestinal health effects associated with the consumption of drinking water produced by point-of-use domestic reverseosmosis filtration units. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**, pp. 945–948.

Reasoner, D.J., 2004. Heterotrophic plate count methodology in the United States. *International Journal of Food Microbiology*, **92**, pp. 307–315.

Sartory, D.P., 2004. Heterotrophic plate count monitoring of treated drinking water in the


[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

UK: a useful operational tool. *International Journal of Food Microbiology*, **92**(3), pp. 297-306.

Stine, S.W., Pepper, I.L. and Gerba, C.P., 2005. Contribution of drinking water to the weekly intake of heterotrophic bacteria from diet in the United States. *Water Research*, **39**(1), pp. 257-263.

USEPA., 2001. *National Primary Drinking Water Standards*, March, USA.

World Health Organization, 2002. *Heterotrophic Plate Count Measurement in Drinking Water Safety Management*, Report of an Expert Meeting, Geneva.

World Health Organization, 2004a. *Water, Sanitation and Hygiene Links to Health, Facts and figures.*

World Health Organization, 2004b. *Guideline for drinking water quality*, 4th edition.

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]

Scientific Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research
Vol. 8, No. 4, Winter 2011

# Heterotrophic bacteria in drinking water in Tabriz,, Iran

***Mosaferi M., Ph.D.*** **Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Tabriz University of Medical Sciences, Research member of NPMC, Tabriz, Iran**
***Shakerkhatibi M., Ph.D.*** **Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Tabriz University of Medical Sciences, Nutritional Research Center, Tabriz, Iran- Corresponding author: shakerkhatibim@tbzmed.ac.ir**
***Mehri A., BS.c.*** **Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran**

**Received: Aug 3, 2010** **Accepted: Nov 16, 2010**

## ABSTRACT

**Background and Aim:** Recently the use of heterotrophic plate count (HPC) has received much attention as a supplementary indicator of the MPN test in water quality control. The US Environmental Protection Agency (USEPA) has declared 500 cfu/mL as the maximum acceptable level for heterotrophic bacteria in distribution networks. Currently the HPC determination is not among the routine control items in Tabriz city and there is no published information on the presence of heterotrophic bacteria in that city's potable water. In this study the presence of HPC in potable water main was determined in Tabriz city, Iran.
**Materials and Methods**: A total of 50 water samples, representing drinking water of the whole city of Tabriz, were taken randomly from different districts of Tabriz city and their HPC, coliform, residual chlorine, turbidity, temperature, and pH were measured. For the heterotrophic bacteria the R2A and Nutrients Agar culture media were used, while the spread plate count method was used for the HPC test. The statistical tests used for data analysis were the t-test and regression.
**Results:** In 50% of the samples heterotrophic bacteria were present. In 6 districts the HPC was higher than 500 cfu/mL. Based on Nutrient Agar and R2A, the HPC indicator in Tabriz drinking water was 184±340 and 154±315 cfu/mL, respectively, the growth rate being higher in the former medium. There was a significant correlation between the HPC and residual chlorine in both media (for Nutrients Agar, $p<0.05$; R= -0.347, and for R2A, $p<0.05$; R= -0.312). Also, there was a significant positive correlation between the HPC and pH ($p<0.05$). Further analysis of the data showed that the correlation between HPC values in both media was also significant ($p<0.95$, R= 0.95).
**Conclusion**: The presence of heterotrophic bacteria in 50% of the water samples tested indicates that drinking water contamination with these bacteria is a public health problem in Tabriz city. As a result, monitoring of HPC at least once every 6 or, at least, 12 months, together with coliform bacteria, and the comparison of the results over time can help to better determine water quality in the distribution system, as well as boost the system operation and ensure drinking water with a high quality.

**Key words:** Drinking water, Heterotrophic bacteria, HPC, Tabriz

[ Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2024-07-15 ]