شانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

دانشگاه زنجان، ۵ تا ۷ شهریور ۱۳۹۸

محور مقاله آلودگی زیست‌بوم، سلامت انسان و زیست پالایی

بررسی حضور باکتری‌های کلی‌فرم در منطقه ساحلی جفرود - دریای خزر

مهشید ماه‌صفت[۱]، محمدباقر فرهنگی[۲*]، نسرین قربانزاده [۳]

[۱] انشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

[۲] استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

[۳] استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

چکیده

وجود باکتری‌های بیماری‌زا در آب سواحل شرایط را برای تفریح در گردشگاه‌های ساحلی سخت نموده است. داشتن اطلاعات کافی در مورد سطح آلودگی جویبارها به فاضلاب‌های شهری، صنعتی و کشاورزی برای پیش‌گیری از آلودگی سواحل بسیار مفید است. با توجه به اهمیت خطر باکتری‌های بیماری‌زا در آب‌های سطحی و انتقال بیماری‌های مضر به بدن انسان‌ها، این پژوهش با هدف بررسی وضعیت کلی‌فرم‌ها در ساحل تفریحی جفرود دریای خزر انجام شده است. برای انجام این پژوهش تعداد ۱۲ نمونه شن ساحلی (۱۰-۰ cm) و ۲ نمونه آب از ساحل موردنظر در بهمن ۱۳۹۵ برداشته شد. نمونه‌برداری به صورت شبکه ۳ در ۴ انجام شد. یک ضلع با سه نقطه (فواصل ۵۰ متر) در خط جدا کننده آب از ساحل مستقر شد و نمونه-برداری در ۴ نقطه (صفر، ۱۰، ۶۰ و ۱۱۰ متر) عمود بر آن در ساحل ادامه یافت. پس از ساخت سوسپانسیون از شن‌ها و رقیق سازی، تعداد کلی‌فرم‌ها در محیط EMB شمارش شد. نتایج نشان داد که شمار کلی‌فرم‌ها در آب دریا بسیار کمتر از ساحل بوده و در ساحل نیز با دور شدن از آب شمار کلی-فرم‌ها کمتر شد. همچنین با دور شدن از جوی فاضلاب که به نظر می‌رسد منبع آلودگی است، شمار کلی‌فرم‌ها کاهش یافت.

کلمات کلیدی: *ایشریشیا کولای*، کلی‌فرم، تفریح‌گاه ساحلی

مقدمه

ایشریشیاکولای[۱]، سالمونلا[۲] و شیگلا[۳] از خانواده‌ی انتروباکتریاسه‌ها[۴] می‌باشند و در بدن حیوانات خون گرم به صورت هم‌سفرگی زندگی می-کنند. برخی سویه‌های این باکتری‌ها غیربیماری‌زا هستند اما برخی با ایجاد عفونت در دستگاه گوارش و مجاری ادراری سلامتی انسان را به خطر می-اندازند (مرکز جلوگیری و کنترل بیماری‌های اروپا، ۲۰۱۳). اگرچه مصرف آب آشامیدنی، مواد غذایی آلوده و تماس شخص به شخص مهم‌ترین راه انتقال باکتری‌های روده‌ای بیماری‌زا به انسان می‌باشند، دیده شده که قرار گرفتن در معرض این باکتری‌ها نیز خطرناک است (Byrne-Bailey و همکاران ۲۰۰۹). محیط زیست طبیعی مانند خاک‌ها، رسوبات، آب‌های سطحی، رودخانه‌ها و دریاها دارای جوامع پیچیده‌ی میکروبی می‌باشند (Amosو همکاران ۲۰۱۴) . باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه در کنار ویبریوها از عوامل بیماری‌زای میکروبی محیط زیست در سواحل دریاچه‌ها و اقیانوس‌ها هستند که ممکن است از راه فعالیت‌های کشاورزی، رواناب شهری، فاضلاب و فضولات حیوانات اهلی و وحشی به سواحل رسیده باشند (Blakeو همکاران ۱۹۸۰) . بنابراین، آب‌های ساحلی ممکن است آلوده به مدفوع و فاضلاب باشند. سواحل یک مکان بالقوه برای قرار گرفتن انسان در معرض باکتری‌های روده‌ای است و از این راه پتانسیل ایجاد بیماری برای افرادی را دارد که در سواحل تفریح یا ورزش می‌کنند (مرکز جلوگیری و کنترل بیماری‌های اروپا، ۲۰۱۳). کودکان و سالمندانی که در ساحل تفریح می‌کنند بیشتر در معرض آسیب هستند. ناگلریا فاولری[۵] یکی از پروتوزوئرهای خطرناک است که در سواحل دیده می‌شود. این پروتوزوئر آمیب آزادزی است که در خاک و آب های سطحی گل‌آلود یافت می‌شود و سبب بیماری در افرادی می‌شود که در سواحل گرم شنا می‌کنند. این آمیب‌های آزادزی از طریق بینی وارد بدن انسان شده و مستقیم به مغز می‌روند.

* ایمیل نویسنده مسئول: Farhangi.mohamad@gmail.com

[1] *Esherichia coli*
[2] *Salmonella*
[3] *Shigella*
[4] *Enterobacteriaceae*
[5] *Naegleria fowleri*

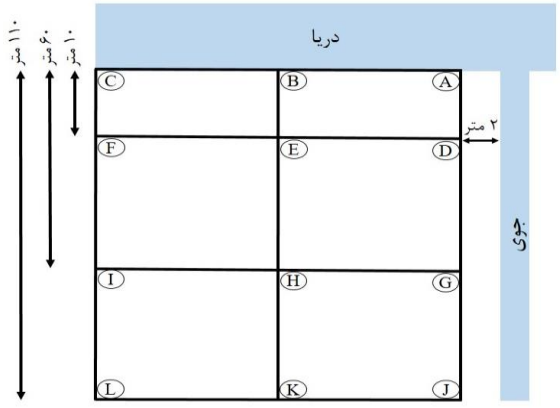
در آن‌جا پخش شده و باعث خون ریزی و آسیب مغزی می‌گردند به طوری‌که در طول یک هفته سبب مرگ افراد می‌شود. از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۳، ۱۲ مورد از این بیماری گزارش شده است و افراد در طی شنا در دریاچه یا تالاب در تابستان آلوده شده بودند (Madigan و همکاران ۲۰۱۰).

مطالعات مقایسه‌ی زنده مانی کلی‌فرم‌های مدفوعی و باکتری‌های بیماری‌زا در محل ورود رودخانه‌ها به دریا و سواحل نتایج متضادی به همراه داشته است (Martha و Howard، ۱۹۸۸). چون با ورود آنها به دریا نوعی مرگ خاموش در آنها به‌وجود می‌آید (Bordalo و همکاران ۲۰۰۲). دریای خزر با توجه به موقعیت جغرافیایی، وسعت، وجود منابع قابل توجه نفتی و گاز، وجود تالاب‌ها و خلیج‌ها و زیستگاه‌های متنوع یکی از منحصر به فردترین دریاچه‌های بسته جهان محسوب می‌شود که همواره کانون توجهات جهانی قرار داشته است. ۹۰ درصد مساحت حوضه آبریز دریای خزر در روسیه و کشورهای استقلال یافته وجود داشته و کمتر از ۱۰ درصد از آن متعلق به ایران است. سالانه حدود ۳۰۰ کیلومترمکعب آب از رودخانه‌های متعدد که بالغ بر ۱۳۰ رودخانه کوچک و بزرگ هستند وارد دریای خزر می‌شود. آمارها نشان می‌دهد که تنها ۸ درصد از کل آب ورودی به دریای خزر از ایران تامین می‌شود و کم و بیش به همان نسبت در آلودگی وارده به این دریا می‌توانند نقش ایفا نمایند (علیزاده، ۱۳۸۳). با توجه به وجود سواحل مناسب تفریحی در حاشیه دریای خزر و امکان آلودگی شن سواحل، این پژوهش، با هدف بررسی حضور باکتری‌های کلی‌فرم در منطقه ساحلی جفرود واقع در استان گیلان انجام شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از منطقه‌ی ساحل جفرود انجام گردید. این محل به دلیل این‌که منطقه‌ی گردش‌گری بوده و به عنوان ساحل تفریحی مورد استفاده‌ی عموم قرار می‌گیرد، انتخاب شد. ضمن این‌که فاضلاب‌های محلی از این منطقه به دریا می‌ریزند و خطر آلودگی ساحل در این منطقه به باکتری‌های روده‌ای وجود دارد. نمونه‌برداری در ماه بهمن ۱۳۹۵ از آب دریا و شن ساحلی به صورت شبکه منظم انجام شد. نمونه‌برداری از آب دریا در سه نقطه با فاصله طولی ۵۰ متر انجام شد. نمونه‌برداری از شن ساحلی نیز با فاصله ۱۰ متر از خط موج و در ۴ ستون، هر کدام به فاصله ۵۰ متر، و سه ردیف به موازات نقاط نمونه‌برداری از آب دریا انجام شد. بنابراین نقاط نمونه برداری از شن ساحلی دارای ۵۰ متر فاصله طولی و عرضی بودند. آرایش نقاط نمونه‌برداری به صورت شماتیک در شکل ۱ آمده است. در سمت راست جوی کوچکی (با عرض حدود ۱ متر) وجود دارد که مسیر تخلیه فاضلاب محلی به دریا است. نمونه‌ها از عمق ۰-۱۰ سانتی‌متری در هر نقطه و در سه تکرار (در شرایط سترون) برداشته شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید.

پس از تهیه سوسپانسیون و سری رقت از نمونه‌ها در آب مقطر استریل، ۰/۱ میلی لیتر از رقت مناسب در پلیت‌های دارای محیط EMB[1] حاوی قارچ-کش نیستاتین (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) مایه زنی شد. پلیت‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوباسیون شده و شمارش همه کلی‌فرم‌ها انجام شد (صفری سنجانی و همکاران، ۱۳۹۰). در نمونه‌های آب و سوسپاسیون‌ها (۱ به ۲/۵) pH (Thomas، ۱۹۹۶) و رسانایی الکتریکی (EC) (Roades، ۱۹۹۶) نیز اندازه‌گیری شد. نقاط نمونه‌برداری شده از سه فاصله‌ی ۱۰، ۶۰ و ۱۱۰ متری از خط موج دریا با حروف لاتین نمایش داده شده‌اند (شکل ۱).

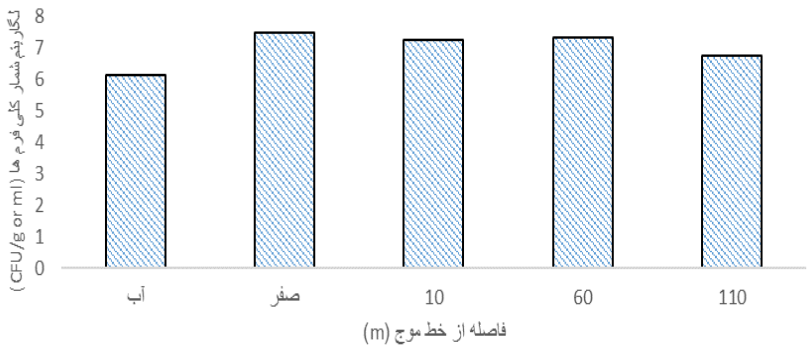


شکل ۱. نمایی شماتیکی از منطقه‌ی نمونه‌برداری شده در ساحل جفرود

[1] Eosine Methylene Blue

نتایج و بحث

روند تغییر شمار همه کلی‌فرم‌ها با فاصله گرفتن از دریا در شکل ۲ آمده است. اگرچه شمار کلی‌فرم‌ها در آب دریا بسیار کم‌تر از شن ساحلی بود، اما در نقاطی از ساحل که تحت تاثیر خط موج بودند (نقطه صفر)، شمار کلی‌فرم‌ها بیشترین مقدار بود که تفاوت چشم‌گیر با سایر نقاط قرار گرفته در خط ۱۰، ۶۰ و ۱۱۰ متری داشت. با دور شدن از خط موج شمار باکتری‌های کلی‌فرم کم شد. به طوری‌که در فاصله ۱۱۰ متری از آن شمار کلی‌فرم-ها به ۱۸٪ شمار آن‌ها در خط موج رسید. احتمالا بیشتر بودن شمار کلی‌فرم‌ها در خط موج به دلیل شرایط مناسب شن ساحلی از نظر رطوبت، pH و EC برای رشد و زنده‌مانی این گروه از باکتری‌ها است. تغییرات pH و EC در خطوط نمونه‌برداری شده به ترتیب در شکل ۴ و ۵ آمده است. علت کم بودن شمار کلی‌فرم‌ها در آب دریا را می‌توان به شوری بسیار بالای آن نسبت داد. آب مناطق شنا اگرچه به مصرف آب شرب نمی‌رسد، اما به لحاظ کیفیت باید بسیار شبیه به استاندارد آب آشامیدنی باشد چرا که در صورت آلوده بودن و تماس با بدن انسان و یا خورده شدن اتفاقی آن موجب انتقال بیماری به انسان می‌شود. استاندارد شمار کلی‌فرم‌ها در آب‌ها برای مواردی مانند شنا و موج سواری (تفریح) نبایستی بیش از ۱۰۰۰ باکتری *ایشریشیا کولی* (۳ واحد لگاریتمی) یا ۵۰۰ باکتری کلی‌فرم (مجموع کلی‌فرم‌ها) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب باشد (WHO، ۲۰۱۳). بنابراین شمار باکتری‌های کلی‌فرم در آب و شن ساحلی بیشتر از حد استاندارد است.

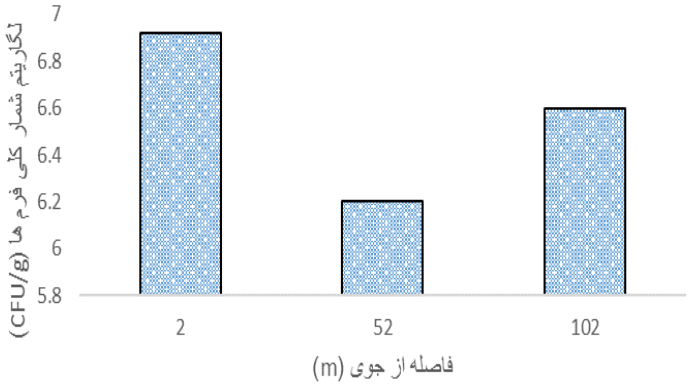


شکل ۲- لگاریتم شمار کلی‌فرم‌ها در آب و شن ساحلی در فواصل معین از خط موج

Marion و همکاران (۲۰۱۰) مطالعه‌ای در دریاچه اُهایو انجام داده و سلامتی افرادی را که در آن دریاچه شنا یا ورزش‌های آبی انجام می‌دادند را در دو فصل مناسب شنا از سال ۲۰۰۹ بررسی کردند. آنها دیدند که شدت بیماری ۹ روز پس از شنا در افراد به بالاترین حد می‌رسید و باکتری *ای. کولای* عامل بیشتر این بیماری‌ها بود.

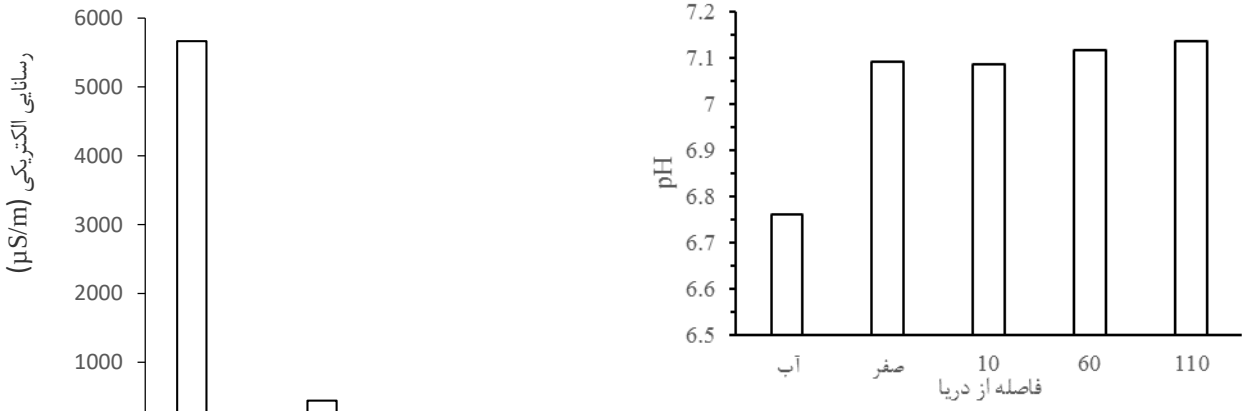
در نمودار ۳ روند تغییر شمار کلی‌فرم‌ها با فاصله گرفتن از جوی فاضلاب آمده است. در نزدیکی جوی شمار کلی‌فرم‌ها بالاترین مقدار بود و با فاصله گرفتن از آن (۵۲ متری) به حدود ۲۰ درصد مقدار آن در نزدیکی جوی کاهش یافت. در فاصله ۱۰۲ متری از جوی نیز اگرچه شمار کلی‌فرم‌ها کم‌تر شده و حدود ۶۰٪ مقدار آن‌ها در نزدیکی جوی بود، اما نسبت به فاصله ۵۲ متری افزایش داشت که دلیل آن روشن نیست. به هر روی به نظر می‌رسد جوی فاضلاب عامل آلودگی شن‌های ساحلی به کلی‌فرم‌ها باشد.

Blaak و همکاران (۲۰۱۴) حضور *ای. کولای* در آب تفریح‌گاهی چهار منطقه از هلند و نقش ایستگاه‌های تصفیه فاضلاب در ایجاد آلودگی در این آب‌ها را بررسی کردند. در هر ۴ منطقه و در ۶۲ درصد نمونه‌ها شمار باکتری موردنظر ۱/۳ واحد لگاریتمی در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود.



شکل ۳- لگاریتم شمار کلی‌فرم‌ها در شن ساحلی در فواصل معین از جوی آلودگی

در شکل ۴ رسانایی الکتریکی در نمونه‌ی آب دریا بیشترین مقدار خود بوده است که با فاصله از خط آب این مقدار کمتر می‌گردد. آب دریا دارای رسانایی الکتریکی بالایی می‌باشد، که با جمعیت باکتری‌ها رابطه‌ی عکس دارد. در شکل ۴ نیز روند تغییرات pH در فواصل مشخص نمایش داده شده است. همان‌گونه که مشخص است pH آب دریا نسبت به خاک‌های مورد بررسی پایین‌تر بوده است و تفاوت زیادی بین pH خاک‌ها در نقاط مختلف دیده نشد. به هر روی دامنه pH و رسانایی الکتریکی در محدوده مناسب برای رشد باکتری‌ها بود.



شکل ۴- رسانایی الکتریکی و pH در نمونه‌ی آب و شن در فواصل معین از دریا

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که شن و آب ساحلی منطقه جفرود دارای کلی‌فرم‌های روده‌ای است. با فاصله گرفتن از جوی فاضلاب (منبع آلودگی) میزان آلودگی به کلی‌فرم‌ها در خاک و ساحل تغییر کرد. همچنین میزان کلی‌فرم‌ها در آب دریا نسبت به خاک به دلیل شوری

بالای آب کمتر بود. بنابراین، باتوجه به نتایج این پژوهش بایستی جلوی ورود فاضلاب به ساحل را گرفت و برای شنا و تفریح در این منطقه بایستی احتیاط لازم را در نظر داشت.

منابع

علیزاده، ح.۱۳۸۳. مقدمه‌ای بر ویژگی‌های دریای خزر، دریای خزر را بهتر بشناسیم تا در آن غرق نشویم. انتشارات نوربخش.

صفری سنجانی، ع.، شریفی، ز.، صفری سنجانی، م. ۱۳۹۰. روش‌های آزمایش‌گاهی در میکروبیولوژی خاک. چاپ اول. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

European Centre for Disease Prevention and Control. 2013. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe. 2014. The European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm.

Byrne-Bailey, KG., Gaze, WH., Kay, P., Boxall, AB., Hawkey, PM., Wellington EM. 2009. Prevalence of sulfonamide resistance genes in bacterial isolates from manured agricultural soils and pig slurry in the United Kingdom. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 53, 696–702.

Amos, GCA., Hawkey, PM., Gaze, WH., Wellington EM. 2014. Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 69(7), 1785-1791.

Blake, PA., Weaver, RE., Hollis, DG. 1980. Diseases of humans (other than cholera) caused by vibrios. Annual Reviews in Microbiology, 34(1), 341-367.

Madigan, MT., Clark, DP., Stahl, D., Martinko, JM. 2010. Brock Biology of Microorganisms 13th edition. Benjamin Cummings.

Martha, WR., Howard, K. 1988. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in estuarine environments. Applied and Environmental Microbiology. 54(12), 2902-2907.

Bordalo, AA., Onrassami, R., Dechsakulwatana, C. 2002. Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). Journal of Applied Microbiology. 93, 864-871.

Thomas, GW. 1996. Soil pH and soil acidity in methods of soil analysis. Klute, A. (ed). Part3. “Chemical methods. Madison, wisconsen”, USA. 475-490.

Roades, JD. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. Method of soil analysis, parss: chemical methods. Madison. Wisconsin, USA. Pp: 417-436.

WHO. 2003. Guidelines for Safe Recreational Water Environments: Coastal and Fresh Waters. World Health Organization, Geneva. 1, 219.

Marion, JW., Lee, J., Lemeshow, S., Buckley, TJ. 2010. Association of gastrointestinal illness and recreational water exposure at an inland U.S. beach. Water Research, 44(16), 4796-4804.

Blaak, H., De Kruijf, P., Hamidjaja, RA., Van Hoek, AH., De Roda Husman, AM., Schets, FM. 2014. Prevalence and characteristics of ESBL-producing *E. coli* in Dutch recreational waters influenced by wastewater treatment plants. Veterinary Microbiology, 171, 448–459.

Topic for submission: Ecosystem Pollution, Human Health and Bioremediation

The study of coliform bacteria occurrence in the coastal region, Jafroud-Caspian sea

Mahsefat, M[1]., M, Farhangi[2*]., N, Ghorbanzadeh[3]

[1] Former M. Sc., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Guilan, Iran

[2] Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Guilan, Iran

[3] Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Guilan, Iran

Abstract

The occurrence of pathogens in recreational waters and beach sands has made difficulties for recreation in coastal regions. Knowing pollution levels in contaminated streams to urban, industrial and agricultural wastewaters is useful for preventing recreational region pollution. Considering the importance of pathogens risk in surface water and their transfer to human body, this study aimed to investigate the coliform occurrence in Jafroud recreational beach, Caspian sea. 12 samples from sand beach (0-10 cm) and 2 water samples were removed from the site in January, 1395. A 3*4 greed sampling pattern was adopted. One side of greed with 3 points (50 m interval) was deployed in water separator line (sea shore) and sampling followed in 0, 10, 60, 110 m, transversally. After making suspension from sand beach and diluting them, the number of total coliforms was counted in the EMB medium. The results showed that the total number of coliforms in seawater was far less than that of the sand beach and the number of coliforms decreased on the coast by getting away from the sea water. Also, the total number of coliforms was reduced by moving away from the wastewater discharging creek appears to be the source of pollution.

Keywords*: Escherichia coli*, coliform, recreational beach

[*] Corresponding author, Email: Farhangi.mohamad@gmail.com