گزارش کوتاه

مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از آب‌های خام استان گلستان

کبری هلاکو*[۱]، دکتر جمیله نوروزی[۲]، دکتر پرویز پاکزاد[۲]، دکتر هادی کوهساری[۳]، مصطفی سید[٤]

۱- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. ۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران. ٤- کارشناس ارشد مهندسی محیط زیست - منابع آب، دانشکده محیط زیست و انرژی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *باکتری‌های مقیم آب، مخزن بسیار مهمی از ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند. این مطالعه به منظور تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از آب‌های خام استان گلستان انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه توصیفی ۲٦ نمونه از آب رودخانه زیارت (۱۳ نمونه قبل و ۱۳ نمونه بعد از تصفیه) و ۳٦ نمونه از آب چشمه‌های منطقه آزادشهر (۱۸ نمونه قبل و ۱۸ نمونه بعد از تصفیه) جمع‌آوری گردید. تعداد ۷۵ نمونه باکتری اشریشیاکلی (۵۰ ایزوله از رودخانه و ۲۵ ایزوله از چشمه‌ها) از آب‌های خام استان گلستان به روش حداکثر تعداد احتمالی (Most Probably Number: MPN) از طریق تست‌های افتراقی شناسایی و جداسازی شد. حساسیت سویه‌های اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین / کلاولانیک‌اسید، آمپی‌سیلین، ایمی پنم، سفالوتین، سفوتاکسیم، جنتامیسین، آمیکاسین، تتراسایکلین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین و تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول به روش انتشار از دیسک کربی بایر مورد سنجش قرار گرفت.*

یافته ها : *۱٤ نمونه آب خام چشمه‌ها و ۱۲ نمونه آب خام رودخانه‌ها حاوی اشریشیاکلی بودند. پس از تصفیه، همه نمونه‌ها عاری از اشریشیاکلی ارزیابی شد. تمامی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از نمونه ها مقاومت فنوتیپی مشابهی نسبت به ۱۱ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی نشان دادند و عمده‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (رودخانه ۹٤ درصد، چشمه‌ها ۸۸ درصد)، آموکسی‌سیلین / کلاولانیک اسید (رودخانه ۷٦ درصد، چشمه‌ها ۸۰ درصد)، تتراسایکلین (رودخانه ۱٤ درصد، چشمه‌ها ۱٦ درصد) و سفالوتین (رودخانه ۸ درصد، چشمه‌ها ۱٦درصد) دیده شد. مقاومت به تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول (۸ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۲ درصد) و سیپروفلوکساسین (۲ درصد) به‌تنهایی فقط در نمونه‌های رودخانه دیده شد. تمامی ایزوله‌های جدا شده از رودخانه و چشمه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، سفوتاکسیم، جنتامایسین و آمیکاسین کاملاً حساس بودند و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت متوسط داشتند.*

نتیجه‌گیری : *تصفیه آب مورد استفاده چشمه‌ها و رودخانه‌ها سبب از بین رفتن اشریشیاکلی می‌گردد. باتوجه به مقاومت فنوتیپی مشاهده شده در آب خام چشمه‌ها، احتمالاً عدم تصفیه آن می‌تواند سبب انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی به بدن انسان شود.*

کلید واژه‌ها : *مقاومت آنتی بیوتیکی ، اشریشیاکلی ، آب خام*

* نویسنده مسؤول : کبری هلاکو ، پست الکترونیکی **cobrahalakoo@yahoo.com**

نشانی: مینودشت، جاده کمربندی، روبروی هتل قصر، اداره آب و فاضلاب منطقه مینودشت، تلفن ۳۵۲۲۲۵۱۱-۰۱۷، نمابر ۳۵۲۲۵۱۹۹

وصول مقاله : ۱۳۹٤/۳/۳۱ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٤/۵/۲٦ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٤/٦/۲٤

مقدمه

آزمایشات میکروبی سلامت آب شرب عمدتاً براساس پایش روزمره آب تولیدی برای حضور کلی‌فرم‌ها و اشریشیاکلی است. وجود باکتری اشریشیاکلی درآب، به عنوان آلودگی مدفوعی جدید آب و حضور حتمی پاتوژن‌های روده‌ای مقاوم در آب در نظرگرفته می‌شود. در حالی که وجود دیگر کلی‌فرم‌ها در آب، دلیل بر کیفیت پایین آب است (۱).

هدف اصلی فرایند گندزدایی آب شرب، کنترل بیماری‌های منتقل شونده با منشاء آب از طریق غیرفعال‌سازی هر نوع میکروارگانیسم بیماری‌زای موجود در آب است. بنابراین غلظت و زمان تماس ماده گندزدا برای آب‌های مختلف متفاوت است. با توجه به بعضی استانداردها، برای گندزدایی آبی با میزان کلر باقیمانده ۰/۵-۰/۲ میلی‌گرم در لیتر زمان تماس ۳۰ دقیقه‌ای برای آب زیرزمینی و ۱۲۰ دقیقه‌ای برای آب سطحی لازم است (۲).

آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور گسترده یا برای حفظ سلامت انسان و حیوانات و یا به‌عنوان افزودنی غذایی برای افزایش رشد حیوانات

مورد استفاده قرار می‌گیرند. اکثر این آنتی‌بیوتیک‌ها به حالت غیرقابل تغییر به محیط دفع می‌شوند که بقایای آنها در محیط‌های آبی علاوه بر این‌که باعث ایجاد بخشی از آلودگی شیمیایی در آب می‌شوند؛ سبب گسترش ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های آب نیز می‌شوند. این باکتری‌های مقاوم احتمالا از طریق تماس مستقیم و غیرمستقیم به انسان منتقل شده و باعث ایجاد مقاومت بالینی در انسان می‌گردند (۳).

باکتری‌های مقیم آب، مخزن بسیار مهمی از ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند؛ بنابراین حضور ارگانیسم‌های مقاوم در محیط آبی می‌تواند یک دلیل از فشار انتخابی در گذشته باشد که باعث به‌وجود آمدن آنها شده است و احتمال می‌رود این باکتری‌ها قبلاً در معرض آنتی‌بیوتیک ویژه‌ای قرار گرفته باشند که این آنتی‌بیوتیک‌ها یا توسط میکروارگانیسم‌های خاک تولید شده‌اند و یا این که ناشی از فعالیت‌های انسانی هستند که از طریق فاضلاب ها، دامپزشکی و زه‌آب‌های کشاورزی وارد محیط شده‌اند (۴). وجود باکتری‌های مقاوم به چنددارو (multidrug resistance: MDR) نظیر اشریشیاکلی در محیط‌های آبی به‌ویژه در منابع آب شرب، می‌تواند یک تهدید جدی برای سلامت عموم به شمار رود. با توجه به این که در استانداردهای ملی و بین‌المللی آب شرب، حضور باکتری اشریشیاکلی به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی آب شرب در نظر گرفته می شود (۵)؛ نگرانی اصلی در مورد انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از باکتری‌های مقیم در آب های سطحی است که ممکن است در مراحل مختلف فرایند تصفیه آب باقی بمانند. این مطالعه به منظور تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از آب‌های خام استان گلستان انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی روی ۲۶ نمونه آب رودخانه (۱۳ نمونه قبل از تصفیه و ۱۳ نمونه بعد از تصفیه) و ۳۶ نمونه آب چشمه (۱۸ نمونه قبل از تصفیه و ۱۸ نمونه بعد از تصفیه) طی ۹ ماه (اواخر تابستان سال ۱۳۹۱ تا اواسط بهار سال ۱۳۹۲) انجام شد. مطالعه در بخش کنترل کیفی شرکت آب فاضلاب استان گلستان و تحت نظارت اساتید میکروبیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام شد.

نمونه‌برداری از آب‌های سطحی استان گلستان شامل رودخانه زیارت گرگان واقع در مرکز استان و از شش چشمه اطراف منطقه آزادشهر واقع در شرق استان گلستان انجام گردید. فقط ۲۰ درصد آب شرب گرگان از منابع آب سطحی تامین می‌شود که رودخانه زیارت یکی از آنهاست و تمامی مراحل متعارف تصفیه شامل پیش‌گندزدایی، پیش ته‌نشینی، ته‌نشینی، زلال‌سازی و فیلتراسیون و نهایتاً گندزدایی را به‌طور کامل طی می‌کند. این در حالی است که چشمه‌های حوالی منطقه آزادشهر فقط مرحله گندزدایی تصفیه را طی می‌کنند.

نمونه‌ها با رعایت شرایط استریل در بطری‌های ۲۵۰ سی‌سی شیشه‌ای مات، استریل (فاقد تیوسولفات سدیم برای آب خام و حاوی تیوسولفات سدیم برای آب تصفیه شده) جمع‌آوری شد و بر روی یخ طی مدت دو ساعت به آزمایشگاه منتقل گردید.

نمونه‌ها مطابق دستورالعمل استاندارد آب و فاضلاب (۶) مورد آزمایش قرار گرفت و با استانداردهای ملی ایران با شماره‌های ۴۲۰۷ و ۱۰۱۱ سال ۱۳۸۶ مطابقت داده شد (۷و۸).

در مرحله احتمالی با استفاده از روش استاندارد تخمیر چندلوله‌ای احتمالی MPN (Most Probably Number) ۱۵ لوله در محیط لاکتوز براث در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت مورد شمارش واقع گردید. لوله‌های حاوی کدورت و گاز به‌عنوان لوله مثبت در نظر گرفته شدند. در مرحله تاییدی از محیط برلیانت گرین لاکتوز بایل براث در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت استفاده شد. سپس در مرحله تکمیلی از محیط EC براث (اشریشیاکلی براث) در دمای ۴۴/۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت استفاده گردید. در نهایت با استفاده از تست‌های افتراقی و بیوشیمیایی، تعداد ۷۵ ایزوله از باکتری اشریشیاکلی از نمونه‌های آب (از ۱۲ نمونه آب خام رودخانه زیارت ۵۰ ایزوله و از ۱۴ نمونه آب خام چشمه ۲۵ ایزوله) شناسایی و خالص‌سازی گردید. نمونه‌های آب تصفیه شده رودخانه و چشمه‌ها در مرحله احتمالی همگی عاری از میکروب بودند (۸-۶).

برای حفظ خصوصیات بیولوژیکی باکتری اشریشیاکلی به منظور تکثیر مجدد، ذخیره‌سازی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در میکروتیوب‌های درب‌دار (Eppendorf) حاوی مخلوط گلیسرول و پپتون انجام گردید.

مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش استاندارد انتشار از دیسک کربی‌بایر برای ۱۱ آنتی‌بیوتیک (متعلق به ۷ خانواده آنتی‌بیوتیکی) که به‌طور متداول در درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی استفاده می‌شوند؛ انجام گردید. پس از ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، نتایج براساس جدول شرکت پادتن طب (۹) مقایسه گردید و و با راهنمای CLSI (M100-S22 سال ۲۰۱۲) (۱۰) مطابقت داده شد و تفسیر گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده شامل آموکسی‌سیلین / کلاولانیک اسید ۳۰µg، آمپی‌سیلین ۱۰µg، ایمی‌پنم ۱۰µg، سفالوتین ۳۰µg، سفوتاکسیم ۳۰µg، جنتامیسین ۱۰µg، آمیکاسین ۳۰µg، تتراسایکلین ۳۰ µg، نالیدیکسیک اسید ۳۰ µg، سیپروفلوکساسین ۵µg، تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول ۲۵µg (ساخت شرکت پادتن طب) بودند (۱۱).

برای اندازه‌گیری میزان کلر باقی‌مانده آزاد موجود در آب شرب تصفیه شده از دستورالعمل ارایه شده در کتاب روش‌های استاندارد

برای آزمایشات آب و فاضلاب (۶) استفاده شد و نتایج با استاندارد ملی ایران با شماره ۱۰۵۳ در سال ۱۳۸۸ (۱۲) مطابقت داده شد. برای انجام این آزمایش از معرف دی اتیل پارافنیلن دی آمین هیدروکلراید (به شکل قرص DPD مدل NO1، شرکت Palintest ساخت انگلستان) و کیت مخصوص کلرسنجی (شرکت Palintest ساخت انگلستان) استفاده شد. برای این کار ابتدا یک عدد قرص DPD داخل سل مخصوص کلر موجود در روی کیت انداخته شد و تا خط نشانه، نمونه آب پر شد. سپس درب کیت بسته و به شدت تکان داده شد تا قرص کاملاً در آب حل گردید و به رنگ صورتی تغییر رنگ داد. شدت رنگ حاصل بیانگر میزان کلر آزاد موجود در آب بود که با مقایسه آن با رنگ‌های موجود در روی خود کیت، میزان کلر باقیمانده آزاد موجود در آب قرائت گردید (۶و۱۲).

یافته‌ها

میزان آلودگی کلیفرمی در تمامی نمونه‌های برداشت شده از آب‌خام رودخانه زیارت و چشمه‌ها به ترتیب CFU/ml ۹۰۰-۰ و CFU/ml ۸۰-۰ تعیین شد. این میزان در مورد آب‌های تصفیه شده رودخانه زیارت و چشمه‌ها صفر بود (جدول‌های ۱و۲).

جدول ۱ : تعداد اشریشیاکلی شمارش شده آب خام رودخانه زیارت گرگان در آزمون MPN

تاریخ	تعداد اشریشیاکلی آب خام (CFU/ml)
۹۱/۶/۲۷	۹۰
۹۱/۷/۱۲	۳۰۰
۹۱/۷/۲۹	۹۰۰
۹۱/۸/۱۶	۳۵۰
۹۱/۸/۲۹	۹۰۰
۹۱/۹/۱۴	۲۴۰
۹۱/۱۰/۱۱	۲۱
۹۱/۱۰/۲۵	۲
۹۱/۱۱/۱	۳۳
۹۱/۱۱/۲۱	۲۶
۹۱/۱۲/۵	۰
۹۱/۱۲/۱۴	۶
۹۲/۲/۱۶	۵۰۰

تعداد اشریشیاکلی شمارش شده در آب تصفیه شده برابر صفر بود.

جدول ۲ : تعداد اشریشیاکلی شمارش شده آب خام چشمه‌های اطراف آزادشهر در آزمون MPN

آب خام	تعداد اشریشیاکلی (CFU/ml) مورخ ۹۱/۸/۲۲	مورخ ۹۱/۱۰/۱۸	مورخ ۹۱/۱۲/۱۵
شرشره	۸۰	۰	۸
سوجاق	۱۱	۲	۲
گروهبان محله	۲۶	۱۱	۰
نیلبرگ	۷۰	۰	۲
سفیدچشمه	۳۰	۲۳	۰
آلودره	۸	۴	۶

تعداد اشریشیاکلی شمارش شده در آب تصفیه شده برابر صفر بود.

میزان کلر باقیمانده اندازه‌گیری شده در آب شرب تصفیه شده رودخانه زیارت و چشمه‌ها از mg/l ۱-۰/۵ متغیر بود و همگی دارای استاندارد لازم برای میکروب‌کشی بودند.

تمامی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از نمونه‌ها مقاومت فنوتیپی مشابهی نسبت به ۱۱ آنتی بیوتیک مورد بررسی نشان دادند و عمده‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (رودخانه ۹۴ درصد، چشمه‌ها ۸۸ درصد)، آموکسی‌سیلین/کلاولانیک اسید (رودخانه ۷۶ درصد، چشمه‌ها ۸۰درصد)، تتراسایکلین (رودخانه ۱۴ درصد، چشمه‌ها ۱۶ درصد) و سفالوتین (رودخانه ۸ درصد، چشمه‌ها ۱۶ درصد) دیده شد. مقاومت به تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول (۸ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۲ درصد) و سیپروفلوکساسین (۲ درصد) به تنهایی فقط در نمونه های رودخانه دیده شد. تمامی ایزوله های جدا شده از رودخانه و چشمه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، سفوتاکسیم، جنتامایسین و آمیکاسین کاملاً حساس بودند و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت متوسط داشتند (جدول ۳).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه عمده‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین / کلاولانیک اسید، تتراسایکلین و سفالوتین در ایزوله‌های جدا شده از رودخانه و چشمه دیده شد. مقاومت به تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول، نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین به‌تنهایی فقط در ایزوله‌های رودخانه دیده شد. تمامی ایزوله‌های جدا شده از رودخانه و چشمه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، سفوتاکسیم، جنتامایسین و آمیکاسین کاملاً حساس بودند و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت متوسط داشتند.

در مطالعه Ash و Iverson خصوصیات باکتری‌های مقاوم به سولفانامیدها (اسینتوباکتر، انتروباکتر، سراشیا و سودوموناس) در هفت رودخانه ایالت متحده آمریکا ارزیابی شد و الگوهای حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سولفادیازین، کلرامفنیکل، تتراسایکلین، کانامایسین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم بررسی گردید. تقریباً نیمی از باکتری‌های مقاوم به سولفانامیدها به یک آنتی‌بیوتیک و به تعداد کمتر به دو یا سه آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند (۴) که نتایج آنان با نتایج مطالعه ما مشابهت دارد.

در مطالعه Ozgumus و همکاران در ترکیه مقاومت ۱۱۷ ایزوله جدا شده باکتری اشریشیاکلی از آب چشمه‌ها و شبکه توزیع آب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، جنتامیسین، نتیل مایسین، آمیکاسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل و تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول ارزیابی شد. ۴۲ درصد ایزوله‌ها فنوتیپ مقاومت چنددارویی را به این آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دادند. مقاومت این

جدول ۳ : نتایج سنجش درصد حساسیت فنوتیپی باکتری اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به روش انتشار از دیسک کربی بائر

آنتی‌بیوتیک	رودخانه زیارت (۵۰ نمونه)			چشمه‌ها (۲۵ نمونه)		
	حساس	حدواسط	مقاوم	حساس	حدواسط	مقاوم
آموکسی سیلین / کلاولانیک اسید	–	۲۴	۷۶	–	۲۰	۸۰
آمپی سیلین	–	۶	۹۴	–	۱۲	۸۸
ایمی پنم	۱۰۰	–	–	۱۰۰	–	–
سفالوتین	۷۴	۱۸	۸	۳۲	۵۲	۱۶
سفوتاکسیم	۱۰۰	–	–	۱۰۰	–	–
جنتامایسین	۱۰۰	–	–	۱۰۰	–	–
آمیکاسین	۱۰۰	–	–	۱۰۰	–	–
تتراسایکلین	۶	۸۰	۱۴	۴	۸۰	۱۶
نالیدیکسیک اسید	۹۸	–	۲	۱۰۰	–	–
سیپروفلوکساسین	۹۸	–	۲	۱۰۰	–	–
تری متوپریم / سولفامتوکسازول	۹۲	–	۸	۱۰۰	–	–

باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۴۷ درصد)، جنتامایسین (۱۳/۶ درصد)، نتیل مایسین (۱۵/۳ درصد)، آمیکاسین (۱۷/۹ درصد)، تتراسایکلین (۱۲/۸ درصد)، کلرامفنیکل (۲/۵ درصد) و تری‌متوپریم / سولفامتوکسازول (۱۹/۶ درصد) تعیین شد. نتایج حاکی از انتقال مقاومت به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و تری‌متوپریم / سولفا متوکسازول در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی بود. این انتقال مقاومت در آمیکاسین ونتیل مایسین نیز دیده شد. در مطالعه آنان، ۱۵ درصد نمونه‌ها به تتراسایکلین مقاوم بودند. همچنین ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از آب چشمه و شبکه توزیع آب از لحاظ مقاومت به آنتی‌بیوتیکهای مورد مطالعه هیچگونه تفاوت عمده‌ای نداشتند (۱۳) که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد.

در مطالعه Laroche و همکاران در مصب رودخانه Seine فرانسه ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از ۷ ایستگاه (۶۵۴ ایزوله) ارزیابی شد و مقاومت آنها به ۱۶ آنتی‌بیوتیک (متعلق به ۸ خانواده آنتی‌بیوتیکی) که در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی متداول بود مورد سنجش قرار گرفت و ۸۰-۶۰ درصد ایزوله‌ها به ۱۲-۲ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و مقاومت به تتراسایکلین، آموکسی‌سیلین و تیکارسیلین شایع‌ترین بود. همه ایزوله‌های اشریشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در دو دسته قرار گرفتند. دسته‌ای که مقاومت عمده به آموکسی‌سیلین، تیکارسیلین و تتراسایکلین داشتند و دسته‌ای که مقاومت کمتر به بقیه آنتی‌بیوتیک نشان دادند. نمونه‌های با مقاومت کمتر نیز در دو زیر گروه قرار گرفتند. گروهی که مقاومت متوسط به کلرامفنیکل، سفالوتین، کانامایسین، تیکارسیلین/کلاولانیک اسید، آموکسی سیلین/کلاولانیک اسید، تری متوپریم/سولفامتوکسازول، نالیدیکسیک اسید داشتند و گروهی که مقاومت ناچیز به جنتامایسین، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم و ایمی‌پنم داشتند (۱۴) که با نتایج مطالعه ما کمی متفاوت بود.

وجود مقاومت فنوتیپی به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در اکثر سویه‌های اشریشیاکلی جداشده از آب خام، بیشتر در مورد آب خام چشمه‌ها اهمیت دارد که به دلیل بی‌اطلاعی عموم مردم از سلامت این آب‌ها، به خصوص در فصول کم‌آبی و در مکان‌های روستایی و تفریحی، به صورت تصفیه نشده (خام) نیز برای شرب مورد استفاده قرار می‌گیرند. از آنجا که باکتری‌های غیربیماری‌زا جمعیت میکروبی غالب را در میزبان‌های مختلف و اکوسیستم‌های طبیعی تشکیل می‌دهند و زمینه ژنتیکی مشابهی با انواع بیماری‌زا دارند؛ احتمالاً باکتری‌های غیربیماری‌زا می‌توانند در تکامل و توزیع عناصر ژنتیکی حاوی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اکوسیستم‌های میکروبی نقش داشته باشند. لذا احتمال انتقال مقاومت بالینی آنتی‌بیوتیکی از طریق این باکتری‌ها و دیگر باکتری‌های مقیم آب به بدن انسان وجود دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از آب‌خام رودخانه زیارت و چشمه‌های منطقه آزادشهر، رفتار فنوتیپی مشابهی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های گرم منفی نشان می‌دهند. باتوجه به مقاومت فنوتیپی مشاهده شده در آب خام چشمه‌ها، احتمالاً عدم تصفیه آن می‌تواند سبب انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی به بدن انسان شود. همچنین میزان کلر باقیمانده آزاد موجود در آب شرب تصفیه شده در حد ۱-۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بود که دارای استاندارد لازم برای میکروب‌کشی است و سویه‌های اشریشیاکلی ایزوله شده از آب خام هیچگونه مقاومتی به پرکلرین مصرفی در تصفیه آب نداشتند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۱۵۷۳۰۵۰۷۹۰۲۰۱۳) خانم کبری هلاکو برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی از دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال بود. بدین‌وسیله از همکاری مدیر کنترل کیفی شرکت آب و فاضلاب گلستان و اساتید گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Williams MM, Braun-Howland EB. Growth of Escherichia coli in model distribution system biofilms exposed to Hypochlorous acid or Monochloramine. Appl Environ Microbiol. 2003 Sep; 69(9): 5463-71. doi: 10.1128/AEM.69.9.5463-5471.2003

2. Hoff JC, Akin EW. Microbial resistance to disinfectants: mechanisms and significance. Environ Health Perspect. 1986 Nov; 69: 7-13.

3. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. Ecological Indicators. 2008 Jan; 8(1): 1-13. doi:10.1016/j.ecolind.2007.06.002

4. Ash RJ, Iverson JL. Antibiotic and disinfectant resistant Bacteria in rivers of the United States. Environment. 2004; pp: 1-7.

5. Rompré A, Servais P, Baudart J, de-Roubin MR, Laurent P. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. J Microbiol Methods. 2002 Mar; 49(1): 31-54.

6. Clescerl LS, Greenberg AE, Eaton AD. Standard Methods for Examination of Water & Wastewater. 20th ed. Washington DC: Amer Public Health Assn. 1999; pp: 9-47.

7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water quality - Enumeration of microorganisms in water by culture ـ microorganisms in water by culture – Guideline, 4207 No]. 1st ed. 2007; pp: 21-22, 34. [Persian]

8. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Drinking water - Microbiological specifications, 1011 No]. 6th ed. 2007. [Persian]

9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. 2008; Vol 23, No 1.

10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement. M100-S22. 2012; Vol 32, No3.

11. Clinical and Labotatory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement. CLSI document M-100-S20. 2010.

12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Drinking water - Physical and chemical specifications, 1053 No]. 5th ed. 2009.[Persian]

13. Ozgumus OB, Celik-Sevim E, Alpay-Karaoglu S, Sandalli C, Sevim A. Molecular characterization of antibiotic resistant Escherichia coli strains isolated from tap and spring waters in a coastal region in Turkey. J Microbiol. 2007 Oct; 45(5): 379-87.

14. Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D, Petit F. Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in Escherichia coli isolated from a densely populated estuary (Seine, France). FEMS Microbiol Ecol. 2009 Apr; 68(1): 118-30. doi: 10.1111/j.1574-6941.2009.00655.x

Short Communication

Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from raw waters of Golestan province, northern Iran

**Halakoo C (M.Sc)*[1], Nowroozi J (Ph.D)[2], Pakzad P (Ph.D)[2]
Koohsari H (Ph.D)[3], Seyyed M (M.Sc)[4]**

[1]Ph.D Candidate in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Bioscience, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [2]Professor, Department of Microbiology, Faculty of Bioscience, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [3]Assistant Professor, Department of Microbiology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran. [4]M.Sc in Environment Engineering-Water Resources, Faculty of Environment and Energy, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Water resident bacteria are potentially important reservoir of antibiotic resistance genes. This study was performed to evaluate the antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from raw waters of Golestan province, northern Iran.

Methods: In this descriptive study, 26 samples from Ziarat river water (13 samples pre & 13 samples post treatment) and 36 samples from Azadshahr area springs water (18 samples pre & 18 samples post treatment) were collected. 75 numbers of *Escherichia coli* bacterium samples (50 isolated from river and 25 isolated from springs) identified and isolated from raw waters of Golestan province, northern Iran by MPN method via differential tests. Susceptibility of *Escherichia coli* strains to 11 antibiotics (Amoxicillin / Clavulanic acid, Ampicillin, Imipenem, Cefalotin, Cefotaxime, Gentamicin, Amikacin, Tetracycline, Nalidixic acid, Ciprofloxacin and Trimethoprim / Sulfamethoxazole) was assayed by disk diffusion Kirby & Bauer's method.

Results: 14 spring's raw water samples and 12 river raw water samples contained *Escherichia coli*. All of the river and springs samples assayed free from *Escherichia coli* post treatment. All of the *Escherichia coli* strains isolated from samples showed the similar phenotypical resistance against to surveyed 11 antibiotics. The most significance resistance to Ampicillin (river 94% & springs 88%), Amoxicillin / Clavulanic acid (river 76% & springs 80%), Tetracycline (river 14% & springs 16%) and Cefalotin (river 8% & springs 16%) viewed. Resistance to Trimethoprim / Sulfamethoxazole (8%), Nalidixic acid (2%) and Ciprofloxacin (2%) just viewed in river samples. All of the river and spring isolates were sensitive to Imipenem, Cefotaxime, Gentamicin and Amikacin and demonstrated intermediate resistance to others antibiotics.

Conclusion: Treatment of raw water from springs and rivers caused the eradication of *Escherichia coli*. As regard to observed phenotypical resistance in springs' raw waters, presumably with lack of treatment springs' raw water can be caused the transmission of antibiotic resistance to human body.

Keywords: Antibiotic resistance, *Escherichia coli*, Raw water

*** Corresponding Author: Halakoo C (M.Sc), E-mail: cobrahalakoo@yahoo.com**

Received 21 Jun 2015 **Revised** 17 Aug 2015 **Accepted** 15 Sep 2015

Cite this article as: Halakoo C, Nowroozi J, Pakzad P, Koohsari H, Seyyed M. [Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains isolated from raw waters of Golestan province, northern Iran]. J Gorgan Uni Med Sci. Winter 2017; 18(4): 94-99. [Article in Persian]