بررسی اثر کشندگی اشعه گاما بر *Escherichia coli* (در آب‌های راکد)

حامد اهری[۱]، دکتر قاسم یوسف‌بیگی[۲]*، دکتر رسول خدابخش[۳]، شیما قلی‌زاده‌سلطانی[۴]، دکتر سعید نفیسی[۵]، دکتر عاطفه ایمانی[۶]، سالارحسین نظمی[۷]

چکیده

تعداد ۹ نمونه آلوده، ازمجموع صد نمونه گرفته شده از آبهای مزارع پرورش آبزیان و طیور ،جهت آزمایش مورد استفاده قرار گرفت که دسته اول جهت پرتودهی اشعه به آزمایشگاه فیزیک هسته‌ای انتقال یافته بعد از پرتودهی(توسط منبع تاش سزیوم (Cs ۱۳۷) به میزان اکتیویته ۲۰میلی‌کوری به مدت زمان ۶ ساعت مورد تابش قرار گرفتند) در زمان کمتر از ۲ ساعت جهت انجام مراحل کشت به آزمایشگاه انتقال یافتند و دسته دوم بلافاصله در کنار ژل و یخ به آزمایشگاه میکروب‌شناسی منتقل شدند که بعداز انجام مراحل کشت مستقیما بر روی محیط EMB جهت شمارش کلی فورم‌ها انتقال یافتند. به میزان۱میلی لیتر از هریک از آبهای جمع‌آوری شده بر روی محیط EMB تلقیح گردید و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، کلنی‌ها از لحاظ وجود *E.coli* مورد بررسی قرارگرفتند که این اعمال عیناً بر روی دسته‌ای از نمونه‌ها که مورد تابش قرار گرفته بودند نیز انجام گرفت که به طور قابل توجهی بعد از پرتودهی تعداد باکتری *E. coli* در محیط کشت کاهش یافت.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی، اشعه گاما، محیط EMB*

The mortality Effect of Gamma Irradiation on Escherichia coli (in the field water)

Ahari, H.[1] , Yosefbaigy, GH.[2]* , Kodabaksh, R.[3], Soltani, SH.[4], Nafisi, S.[5] , Emani, A.[6], Nazmi, S.[7]

1- Department of Veterinary, Islamic Azad University, Urmia, Member of young researcher club
2- Department of Microbiology. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran*
3- Department of Sciences, Urmia University, Iran
4- Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran
5- Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran
6- Dr Emani laboratory veterinary
7- Islamic Azad University

The study was done 9 infected samples of 100 provided samples from field water of fishe-culture and bird-breeding.Sample were divided in two groups, the first group a was sent to the physics laboratory for γ irradiation (Cs 137, 20 milicurry, 6 hourse) physics and the second group was transferred by jell and ice to the bacteriologic laboratory for culturing on EMB medium directly for *E. coli.* After irradiation of first group, it was also trasfered in less than 2 hours to the laboratory for culture. One ml of each of the water types that has been provided will inject to the EMB And after incubation for 24 hours the colonies were studied. It was concluded that after irradiation, the number of bacteria in the culture medium decreased.

Keywords: *Gamma (γ) Irradiation, Escherichia coli, EMB*

مقدمه

تا بیست سال گذشته مهم‌ترین سرمایه ملی کشور ما نفت بوده اما در آینده‌ای نه چندان دور آب با نفت قابل معاوضه خواهد بود (۱و۲) و حدود ۱/۴ میلیارد مکعب آب در سطح زمین به صورت گوناگون وجود دارد درحالی‌که بشر امروزی ۱٪ کل آب روی زمین را مورد بهره‌برداری قرار می‌دهد(۱و۳). وجود باکتری *E. coli* در آب برطبق استانداردهای بین‌المللی به عنوان نخستین منبع آلودگی آب محسوب می‌شود(۲). باکتری *E. coli* از طریق آلودگی موضعی، دهانی، موادغذایی آلوده سرایت می‌نماید و در انسان به عنوان پاتوژن فرصت‌طلب مطرح بوده و باعث عفونت‌های دستگاه ادراری، سپتی‌سمی، شوک سپتیک، مننژیت نوزادان و همچنین کلی باسیلوز پرندگان و پریکاردیت، پریتونیت، پان افتالمی، سالپنژیت، کلی‌گرانولوما در طیور می‌گردد(۴و۵). روش کلرزنی متداول‌ترین روش

۱.دانشجوی دکترای دامپزشکی دانشگاه آزاداسلامی ارومیه، عضوباشگاه پژوهشگران جوان ایران.
۲. * بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. دانشکده علوم دانشگاه ارومیه، ارومیه ، ایران
۴ . دانشجوی دکترای دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۵ . عضو هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۶. دامپزشک بخش خصوصی ـ آزمایشگاه دامپزشکی دکتر ایمانی.
۷. دانشجوی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران

گندزدایی آب می‌باشد ولی روش‌های گندزدایی دیگری وجود دارند که مفیدتر و در عین حال ارزان‌تر هستند. امروزه از روش پرتودهی به عنوان روشی پرتابل ، بدون یونیزاسیون آب و بدون تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی آب استفاده می‌نمایند (۲و۶).

مواد و روش کار

۱- لاکتوز براث

۲- لوله های دورهام

۳- Brilliant Green Bile Broth 2%

۴- محیط مکانیکی EMB

۵- محیط‌های افتراقی (سیترات، اوره، MRVP، SIM و TSI)

۶- Cs ۱۳۷

۱) نمونه‌برداری: تعداد ۱۰۰ نمونه آب از آبشخوری‌های فارم های پرورش طیور و همچنین آب چاه و آب منبع تهیه و با استفاده از ظروف استریل به حجم۱۰۰ میلی لیتر از آبهای مناطق مختلف در تمام فصول سال در کنار شعله چراغ الکلی جمع‌آوری و در کمتر از ۳۰ دقیقه نمونه ها را به کمک ژل و یخ تهیه و به آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی ارسال و حدود ثلث نمونه‌ها هم به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انتقال داده شد (به منظور جلوگیری از آلودگی ثانویه ضدعفونی دهانه شیر آب و تلمبه چاه نیز انجام می‌گرفت). هرکدام از نمونه‌های جمع‌آوری شده به ۲ بخش تقسیم شده و دسته اول مستقیما به آزمایشگاه میکروب‌شناسی جهت انجام مراحل کشت و انتقال بر روی محیط EMB ودسته دوم به آزمایشگاه فیزیک هسته‌ای انتقال یافته تا به وسیله منبع تاش سزیوم (Cs ۱۳۷) به میزان اکتیویته ۲۰میلی‌کوری به مدت زمان ۶ ساعت مورد تابش قرار بگیرند این دستگاه دارای نیمه عمر ۱۲ سال بوده و دیواره‌ای سربی دور تا دور منبع تابش را فراگرفته بعداز اتمام زمان مذکور نمونه‌ها در کنار ژل و یخ سریعا به آزمایشگاه میکروب شناسی جهت کشت و سایر مراحل مطابق دسته قبلی انتقال یافته و سپس با استفاده از روش ۹ لوله‌ای بدین صورت که بعد از ساختن محیط لاکتور براث (برحسب دستور کارخانه سازنده، نمونه مورد استفاده ۲۶گرم در هر لیتر) که در ۳ لوله محیط قوی است (یعنی مانده مؤثر برابر محیط ضعیف است) و ۶ لوله بعدی دارای محیط ۱۳ گرم در لیتر ضعیف است و در داخل تمامی لوله‌ها لوله کوچک دورهام به صورت واژگون قرار داده شد در داخل لوله‌ها حجم لاکتوز براث به میزان۱۰ میلی لیتر بوده و ابتدا در ۳ لوله اول ۱۰میلی لیتر آب و سپس در ۳ لوله دیگر هرکدام ۱میلی لیتر آب ریخته شد. در ۳ لوله باقی مانده هم در هر لوله ۰/۱ میلی لیتر از آب نمونه را اضافه نمودیم. تمامی لوله‌ها را در داخل انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده بعد از این زمان اگر درداخل لوله دورهام حباب تشکیل نشده باشد، و آزمایش منفی بوده برای اطمینان بیشتر، ۲۴ ساعت دیگر نیز صبر می‌کردیم هر گاه بار دیگر در لوله‌های دورهام حباب ایجاد نمی‌شد جواب منفی تلقی می‌شد در صورتی‌که در لوله‌ها حباب مشاهده می‌گردید می‌بایستی MPN (Most Probable Number) یا شمارش بیشترین تعداد احتمالی کلی فورم‌ها انجام می شد. که برطبق نتایج حاصله ۹ لوله حباب‌دار بودند که از بقیه جدا شده و سپس محیط حاوی Brilliant Green Bile broth 2% آماده شده و در ۹ لوله آزمایش۱۰ میلی لیتر از محیط مذکور اضافه شد و از لوله‌های آزمایش لاکتوز براث آلوده ۳ الی۴ میلی لیتربه لوله‌های آزمایش حاوی Brilliant Green Bile broth 2% اضافه شد. در صورت آلودگی حباب در لوله دورهام تشکیل می شد.در این صورت از محیط آلوده Brilliant Green Bile broth 2% با آنس به محیط مکانیکی (EMB) انتقال تا جلای فلزی با رنگ سبز بوجود آید. در صورت عدم وجود جلای فلزی بر روی محیط‌های افتراقی پنجگانه انتقال داده (اوره، سیترات، MRVP، SIM و TSI)

که برحسب تخمیر قندها و آنزیم‌ها و خواص بیوشیمیایی ارگانیسم‌ها تعیین هویت می شدند. لازم به ذکر است که امروزه به جای محیط‌های افتراقی از کیت‌های انتروباکتریاسه استفاده می شود.دسته دیگر نمونه‌ها نیز بلافاصله بعد از پرتودهی و انتقال به آزمایشگاه میکروب‌شناسی تحت اعمال فوق قرار می گرفتند.

نتایج

نتایج آزمایش نشان داد که سه نمونه آب از کل نمونه‌های جمع‌آوری شده که تحت تأثیر تابش مستقیم گاما (سزیوم ۱۳۷) قرار گرفتند آلودگی آنها به میزان ۹۲ درصد کاهش یافت و این اشعه با اکتیویته ۲۰ میلی‌کوری به صورت قابل ملاحظه‌ای روی این پاتوژن مؤثر بوده است (۸ و۹) (جداول ۴-۱).

جدول ۱- میانگین MPN نمونه هایی که تحت تاثیر اشعه قرار نگرفته ا ند

محل	MPN
آبشخوری	۸۸۶/۶۶۶۷
منبع	۶۵/۳۳۳۳
جاده روستا	۴۳/۳۳۳۳

جدول ۲- میانگین MPN نمونه هایی که تحت تاثیر اشعه قرار گرفته ا ند

محل	MPN
آبشخوری	۱۹۹/۶۶۶۷
منبع	۳۹/۶۶۶۷
جاده روستا	۱۴/۰۶۶۷

جدول ۳- تعداد کلنی‌های حاصل ازنمونه آب هائی که تحت تأثیر اشعه گاما قرار نگرفته اند

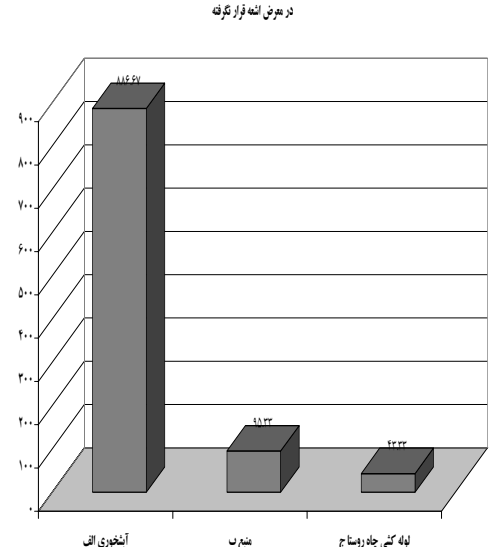
		۱۰ آبccلوله‌های حبابدار	۱ آبccلوله‌های حبابدار	۰/۱ آبccلوله‌های حبابدار	MPN
نمونه‌های آب آبشخوری الف	نمونه شماره ۱	۳	۳	۳	۱۱۰۰
	نمونه شماره ۲	۳	۳	۱	۴۶۰
	نمونه شماره ۳	۳	۳	۲	۱۱۰۰
نمونه‌های آب منبع ب	نمونه شماره ۱	۳	۲	۱	۱۵۰
	نمونه شماره ۲	۳	۱	۰	۴۳
	نمونه شماره ۳	۳	۲	۰	۹۳
نمونه‌های آب لوله‌کشی چاه روستا ج	نمونه شماره ۱	۳	۰	۲	۶۴
	نمونه شماره ۲	۲	۰	۰	۲۳
	نمونه شماره ۳	۲	۳	۲	۴۴

جدول ۴- تعداد کلنی‌های حاصل ازنمونه آب هائی که تحت تأثیر اشعه گاما قرار گرفته اند

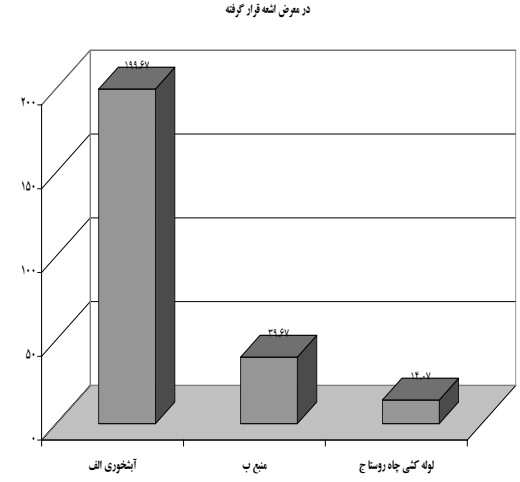
		لوله‌های حبابدار ۱۰ cc آب مشکوک	لوله های حبابدار ۱ cc آب مشکوک	لوله‌های حبابدار ۰/۱ cc آب مشکوک	MPN
نمونه‌های آب آبشخوری الف	نمونه شماره ۱	۳	۳	۱	۴۶۰
	نمونه شماره ۲	۳	۲	۰	۹۳
	نمونه شماره ۳	۳	۳	۱	۴۶۰
نمونه‌های آب منبع ب	نمونه شماره ۱	۳	۱	۰	۵۳
	نمونه شماره ۲	۲	۰	۰	۲۳
	نمونه شماره ۳	۳	۱	۰	۴۳
نمونه‌های آب لوله‌کشی چاه روستا ج	نمونه شماره ۱	۲	۰	۲	۲۰
	نمونه شماره ۲	۱	۰	۱	۷/۲
	نمونه شماره ۳	۱	۲	۱	۱۵

بحث

نتایج حاصله بیانگر آن است که اشعه گاما اثر قابل ملاحظه ای در میزان ارگانیسم‌های موجود در آب بخصوص در مورد اشریشیاکلی دارد که به وسیله آمار تحلیلی می توان چکیده نتایج حاصل از طرح را به صورت ذیل مطرح نمود:



نمودار ۱: بررسی نمونه هائی که تحت تابش اشعه قرار نگرفته اند.



نمودار ۲: بررسی نمونه هائی که تحت تابش اشعه قرار گرفته اند.

همان گونه که در نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می شود بیشترین میزان آلودگی در نمونه های دریافتی از آب آبشخوری های فارمهای پرورش طیور و سپس آب منبع مشاهده می شود و در نهایت آب لوله کشی چاه روستا که نسبتاً کمترین آلودگی را داشته است. بر اساس شواهد حاصله میزان آلودگی در نمونه آبشخوری از ۸۸۶/۶۷ به ۱۹۹/۶۷ رسیده که تقریبا معادل ۴/۵ برابر تقلیل یافته است همچنین در نمونه آب منبع که از ۹۵/۳۳ به ۳۹/۶۷ و در نمونه آب چاه روستا که از ۴۳/۳۳ به ۱۴/۷ تقلیل یافته می توان با توجه به خطا های موجود در این آزمایش از جمله عمر تقریبی دستگاه رادیواکتیویته سزیومی که رو به اتمام بود و همچنین عدم رعایت دقیق فواصل زمانی انتقال نمونه ها به آزمایشگاه نتایج حاصله را به سطح مطلوب تری بسط داد. البته بسته به میزان اکتیویته اشعه گاما تأثیر قدرت کشندگی اشعه گاما متفاوت است. بر اساس مطالعه انجام شده در سال ۱۹۸۱با استفاده از دز ۲۸ میلی کوری تا میزان ۹۷ درصد اشرشیا کلی آبهای راکد (نمونه های مورده استفاده در آزمایش) تقلیل داده شد(۷). چنانچه دز اکتیویته مصرفی بالاتر باشد زمان لازم برای پرتودهی کاهش خواهد یافت(۶) و می‌توان با توجه به نتایج بالا، در صورت وجود امکانات می توان از اشعه گاما در ضدعفونی و گندزدایی آبهای راکد که از عوامل اصلی انتقال عوامل پاتوژن به دام و انسان می‌باشند استفاده نمود و با توجه به نیمه عمر دستگاه و خطا های موجود در آزمایش، از لحاظ زمانی، نتایج رضایت‌بخشی بدست آورد که در صورت رعایت دقیق فواصل زمانی و استفاده از اکتیویته بالاتر اشعه گاما می‌توان نتایجی درحد ایده‌آل دریافت نمود به گونه‌ای که بدون تغییر خواص فیزیکی و شیمیایی آب و عدم یونیزاسیون آب و همچنین در کمترین زمان ممکن، آبهای سطحی را گندزدایی نمود(۶و۷). با توجه به این که این طرح دانشجوئی برای اولین بار در ایران انجام شد بنابراین می توان با انجام تحقیقات تکمیلی در این راستا آنرا به عنوان الگوی کاربردی در صنعت بدل کرد.

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه جناب آقای دکتر رسول خدابخش که امکان

انجام مراحل عملی طرح را در آزمایشگاه فیزیک هسته ای دانشکده علوم ارومیه فراهم نمودند کمال تشکر را دارد و همچنین جناب آقای تقی اوستان(کارشناس محترم آزمایشگاه علوم دانشگاه ارومیه وجناب آقای کمال جعفری طرزلو (کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی) سپاس وقدردانی می نماید.

فهرست منابع

۱- چالکش‌امیری. م (۱۳۷۸): اصول تصفیه آب، انتشارات ارکان، صفحات ۴-۱.

۲- حسینیان. م (۱۳۶۳): آب و سلامتی انسان، ناشر سیدابوالفضل حسینیان، صفحات ۲۷-۲۴.

۳- شریعت‌پناهی. م (۱۳۶۸)؛، اصول کیفیت و تصفیه آب و فاضلاب، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۴۹-۴۳.

۴- شیمی. ا (۱۳۷۰): اورام پستان و بیماری‌هایی که به وسیله باکتری‌ها تولید می‌شود، تألیف (بلاهندرسون و رادوستیتس)،انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۶۸-۶۰.

۵- نوروزی. ج (۱۳۷۵): میکروبیولوژی پزشکی جاوتز (۱۹۹۵)، انتشارات حیان، صفحات ۲۷۹-۲۷۱.

6. American Water Works Association (1979). Introduction to water treatment Principles and Practices of Water Operations.

7. APHA-AWWA-WPCF-Standard Methods for the Examination of Water and Waswater (1981). 15th Ed. American Public Health Association Washington, D.C. U.S.A, PP: 294-295.

8.Hesham, M.Badr (2005): Elimination of Escherichia coli O 157: H7 and Listeria monocytogenes from raw beef sausage by gamma-irradiation. Molecular Nutrition and Food Research. 49(4):343-9.

9. Lintons, S. & Hinton, P. M. (1993): Effects of low concentration of ampicillin in feed on the intestinal E.coli of Chiks, Journal of Applied Bacteriology. (75) No: 2, 99: 108-112.