

## بررسی کارایی واحدهای فرآوری لجن در تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان برای حذف گونه‌های مختلف باکتری لیستریا

ناهید نویدجوی<sup>۱</sup>، محمد جلالی<sup>۲</sup>، حسن خرسندی<sup>۳</sup>، حسین موحدیان<sup>۴</sup>

دریافت: ۹۱/۱۲/۲۲

پذیرش: ۹۲/۰۳/۲۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** لیستریا از جمله باکتری‌های مقاوم به شرایط هضم لجن است که لیستریا مونوسیتوژنز به عنوان عامل بیماری لیستریوزیس از مهم‌ترین گونه آن است. لجن تولیدی در تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان، با استفاده از هاضم‌های بی‌هوازی تثبیت گردیده و پس از خشک شدن، جهت کوددهی زمین‌های کشاورزی استفاده می‌شود. با توجه به اهمیت موضوع، هدف از انجام این مطالعه، بررسی کارایی واحدهای فرآوری لجن به ویژه هضم بی‌هوازی در حذف و یا کاهش باکتری لیستریا است.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی، ۱۳ بار نمونه‌برداری از واحدهای فرآوری لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان بطور هفتگی طی سه ماه به روش استاندارد انجام گرفت. برای شمارش و جداسازی باکتری لیستریا در نمونه‌های لجن، به ترتیب از روش‌های تخمیر سه لوله‌ای و استاندارد دیارتمان کشاورزی آمریکا استفاده گردید. لیستریاهای جدا شده، به روش فنوتیپی تایید شده و برای تعیین گونه باکتری از آزمون‌های بیوشیمیایی تخمیر کربوهیدرات و آزمایش کمپ استفاده شد.

**یافته‌ها:** میزان آلودگی لجن خام، لجن تثبیت شده و لجن خشک شده به حداقل یکی از گونه‌های مونوسیتوژنز، ایناکوآ و سیلیگری به ترتیب ۱۰۰، ۹۲/۳ و ۵۳/۸ درصد بود. کارایی هاضم‌های بی‌هوازی در حذف گونه‌های لیستریا مونوسیتوژنز، ایناکوآ و سیلیگری به ترتیب ۶۴/۷، ۳۹/۷۲ و ۱۰۰ درصد و کارایی بسترهای لجن خشک‌کن برای حذف گونه‌های مونوسیتوژنز و ایناکوآ به ترتیب ۷۳/۴، ۹۶/۶۸ درصد تعیین گردید.

**نتیجه‌گیری:** لیستریا مونوسیتوژنز در مقابل شرایط واحدهای فرآوری لجن، از سایر گونه‌های شناسایی شده مقاوم‌تر است، بنابراین استفاده از لجن به عنوان کود می‌تواند باعث انتشار این باکتری در محیط و آلودگی محصولات کشاورزی گردد.

**واژگان کلیدی:** لیستریا، لیستریا مونوسیتوژنز، هضم بی‌هوازی لجن، تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان

۱- دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده بهداشت، مربی گروه مهندسی بهداشت محیط

۲- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشیار گروه میکروبیولوژی مواد غذایی

۳- (نویسنده مسئول): دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده بهداشت، استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط

۴- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده بهداشت، استاد گروه مهندسی بهداشت محیط

آلوده به لیستریا، گونه‌های مونوسیتوزن، ایناکوا، سیلیگری و ولشیمیری را تشخیص داده و میزان آلودگی لجن به گونه‌های مذکور را به ترتیب ۵۵، ۲۹/۱، ۱۳/۶ و ۱/۸ درصد اعلام نمودند.

Garret و همکاران (۱) لیستریا را در ۸۷ درصد از نمونه‌های لجن آبگیری شده شناسایی کرده که در این میان، ۷۳ درصد نمونه‌های بررسی شده، به گونه مونوسیتوزن آلوده بودند.

Al-Ghazali و همکارش (۱۴) در تمامی نمونه‌های پساب نهایی تصفیه ثانویه فاضلاب و لجن خام، لیستریا مونوسیتوزن را جداسازی نموده و آبگیری لجن هضم شده را یکی از عملیات مهم در کاهش این گونه معرفی کرده‌اند. طبق این مطالعه، در شرایط آب و هوایی نیمه گرمسیری بغداد، زمان ماند ۸ هفته‌ای در بسترهای لجن خشک‌کن موجب حذف کامل لیستریا مونوسیتوزن می‌گردد.

در تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان به عنوان محل اجرای مطالعه حاضر، لجن حاصله بعد از آبگیری و تغلیظ، توسط دو هاضم بی‌هوازی از نوع استاندارد با زمان ماند ۲۰ روز در دمای ۳۰ تا ۴۰°C هضم و تثبیت می‌گردد. لجن خروجی از هاضم‌ها با دارا بودن ۹۳ تا ۹۷ درصد رطوبت، حدود ۲ تا ۳ ماه در بسترهای خشک‌کننده لجن، تحت تابش نور خورشید قرار می‌گیرد. نهایتاً لجن خشک شده، برای کوددهی زمین‌های کشاورزی مناطق اطراف استفاده می‌شود.

با توجه به اهمیت موضوع و با عنایت به عدم گزارش مطالعه آلودگی لجن به لیستریا در ایران، هدف مقاله حاضر بررسی عملکرد واحدهای فرآوری لجن به ویژه هضم بی‌هوازی در حذف گونه‌های مختلف باکتری لیستریا است.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، ۱۳ بار نمونه‌برداری از لجن خام (ورودی هاضم‌های بی‌هوازی)، لجن تثبیت شده (خروجی هاضم‌های بی‌هوازی) و لجن خشک (خروجی استخرهای لجن خشک‌کن) در تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان بطور هفتگی طی سه ماه به روش استاندارد انجام گرفت.

جهت جداسازی باکتری لیستریا از روش استاندارد USDA (U.S Department of Agriculture) استفاده شد (۱۴).

بدین منظور ابتدا نمونه‌های برداشتی در محیط کشت غنی شده

به طور معمول لجن تولید شده در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری به عنوان کود برای اصلاح خاک مزارع و باغات مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴-۱). اگرچه لجن به دلیل دارا بودن مواد مغذی، باعث بهبود خاک می‌گردد، اما با توجه به احتمال آلودگی به انواع میکروارگانیسم‌ها می‌تواند موجب بیماری در انسان و دام شود. لذا پایش بیولوژیکی و بررسی وجود عوامل بیماری‌زا در لجن مورد استفاده برای کشاورزی اهمیت بسزایی دارد (۱).

بر اساس استانداردهای جدید سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA)، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای جدیدی نظیر *E. coli* O157، لیستریا و هلیکوباکتر در لجن دفعی از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری شناسایی شده‌اند (۵) که EPA به تازگی خواستار بررسی و کنترل این پاتوزن‌ها در پساب و لجن مورد استفاده در زمین‌های کشاورزی شده است (۶).

لیستریا مونوسیتوزن (*Listeria Monocytogenes*)، لیستریا ایوانووی (*L. Ivanovii*)، لیستریا ایناکوا (*L. Innocua*)، لیستریا ولشیمیری (*L. Welshimeri*)، لیستریا سیلیگری (*L. Seeligeri*)، لیستریا گرائی (*L. Grayii*) از گونه‌های لیستریا هستند که از بین این ۶ گونه فقط دو گونه مونوسیتوزن و ایوانووی بیماری‌زا هستند. لیستریا مونوسیتوزن در انسان و حیوان ایجاد بیماری می‌کند، ولی بیماری ناشی از لیستریا ایوانووی فقط در حیوانات گزارش شده است. گونه لیستریا مونوسیتوزن به دلیل مقاومت در شرایط نامطلوب، پراکندگی وسیعی در محیط داشته و مدت بقای آن بیشتر از سالمونلا است (۷ و ۸). این باکتری باعث ایجاد بیماری لیستریوزیس در انسان و حیوان می‌شود که به عنوان یک بیماری ناشی از غذا مطرح بوده و علائم آن علاوه بر عفونت غذایی در انسان، ممکن است به صورت مننژیت، مننگوآنسفالیت، سپتیسمی و سقط جنین نیز بروز کند (۷). در نقاط مختلف جهان طی چندین مطالعه، گونه‌های مختلف باکتری لیستریا به ویژه لیستریا مونوسیتوزن در فاضلاب و لجن شناسایی شده‌اند (۱، ۱۴-۱۰).

Paillard و همکارش (۲)، لیستریا را در ۸۹/۲ درصد از نمونه‌های لجن خام شناسایی کرده و لیستریا مونوسیتوزن را به عنوان گونه غالب لیستریا در لجن معرفی نموده‌اند.

Garrec و همکاران (۱۲) با بررسی ۱۱۰ نمونه از لجن‌های

میزان  $10^{-1}$  و لجن خشک شده به میزان  $10^{-2}$ ، هریک از انواع لجن ها به مقدار  $10$ ،  $1$  و  $0.1$  mL کشت داده شده و بر اساس جدول MPN، تعداد باکتری ها به ازای یک گرم نمونه خشک شده تعیین گردید (۱، ۲، ۱۴ و ۱۷). با استفاده از نتایج بدست آمده، میانگین MPN برای هریک از گونه های باکتری لیستریا در نقاط مختلف نمونه برداری تعیین و کارایی واحدهای فرآوری لجن برای حذف گونه های مختلف باکتری لیستریا محاسبه گردید. برای تجزیه و تحلیل داده ها از روش های آمار توصیفی و نرم افزار Excel استفاده شد.

#### یافته ها

در این مطالعه، گونه های لیستریا مونوسیتوزنز، لیستریا ایناکوا و لیستریا سیلیگری حداقل در یکی از انواع لجن خام، لجن تثبیت شده بی هوازی و لجن خشک شده تصفیه خانه فاضلاب شمال اصفهان شناسایی و شمارش گردیدند. سایر گونه های لیستریا در هیچکدام از نمونه های لجن مشاهده نشدند. درصد آلودگی نمونه های مختلف لجن تصفیه خانه فاضلاب شمال اصفهان به باکتری لیستریا در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج شمارش گونه های مختلف باکتری لیستریا در انواع مختلف لجن تصفیه خانه فاضلاب شمال اصفهان در جداول ۳، ۴ و ۵ و نمودار ۱ نشان داده شده اند.

UVM1 (University of Vermont media) حل شده و به مدت  $24$  h در انکوباتور  $30^{\circ}\text{C}$  قرار داده شدند سپس  $0.1$  mL از محیط اولیه، به  $9/9$  mL محیط فریزر برات (Fraser broth) غنی شده منتقل گردیده و به مدت  $48$  h در  $35^{\circ}\text{C}$  انکوبه شدند. نمونه های مثبت، جهت جداسازی و تشخیص لیستریا، بر روی محیط کشت اختصاصی - افتراقی پالکام به صورت خطی کشت داده شدند که بعد از  $24$  الی  $48$  h انکوباسیون در  $37^{\circ}\text{C}$ ، در صورت وجود لیستریا در نمونه، کلنی های تپیک سیاه رنگ روی سطح محیط کشت پالکام مشاهده می شدند. لیستریاهای جدا شده، به روش فنوتیپی و با انجام آزمون های (Methyl Red/ MR/VP) (Voges Proskauer)، حرکت، کاتالاز و رنگ آمیزی گرم تایید گردیده و برای تعیین گونه آنها از آزمون های بیوشیمیایی تخمیر کربوهیدرات و آزمایش (Christie) CAMP (Atkins Munch Petersen) مطابق جدول ۱ استفاده شد (۱۵ و ۱۶).

برای شمارش گونه های مختلف باکتری از روش تخمیر سه لوله ای در محیط کشت فریزر برات غنی شده استفاده گردید. پس از رقیق سازی نمونه های لجن خام و لجن تثبیت شده به

جدول ۱: تفاوت خصوصیات بیوشیمیایی گونه های مختلف لیستریا (۱۵)

نام آزمایش	<i>L. grayii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. momocytogers</i>
همولیز از نوع $\beta$ اسید از:	-	+	-	b <sub>-</sub>	+	+ <sup>a</sup>
زایلوز	-	+	+	-	+	-
رامنوز	-	-	V <sup>c</sup>	V <sup>c</sup>	-	+
مانیتول	+	-	-	-	-	-
آزمایش CAMP	-	+	-	-	-	+
استافیلوکوکوس اورئوس	-	-	-	-	+	-
رودوکوکوس اکوائی	-	-	-	-	+	-

a: Positive

b: Negative

c: Variable

جدول ۲: درصد آلودگی انواع لجن تصفیه خانه فاضلاب شمال اصفهان به باکتری لیستریا

نوع نمونه	تعداد کل نمونه	تعداد نمونه‌های مثبت	درصد جداسازی باکتری لیستریا
لجن خام	۱۳	۱۳	٪۱۰۰
لجن تثبیت شده	۱۳	۱۲	٪۹۲/۳
لجن خشک شده	۱۳	۷	٪۵۳/۸

جدول ۳: میانگین MPN لیستریا مونوسیتوزنز در انواع مختلف لجن تصفیه خانه فاضلاب شمال اصفهان

نوع نمونه	تعداد نمونه	واحد	میانگین MPN	ماکزیمم
لجن خام	۱۳	MPN / g dry sludge	۵۷	۲۳۳
لجن تثبیت شده	۱۳	MPN / g dry sludge	۲۰/۱۲	۸۸/۴۶
لجن خشک شده	۱۳	MPN / g dry sludge	۵/۵۳	۲۳/۹

جدول ۴: میانگین MPN لیستریا ایناکوآ در انواع مختلف لجن تصفیه خانه فاضلاب شمال اصفهان

نوع نمونه	تعداد نمونه	واحد	میانگین MPN	ماکزیمم	انحراف معیار
لجن خام	۱۳	MPN / g dry sludge	۲۵	۵۸/۳	۲۱/۶
لجن تثبیت شده	۱۳	MPN / g dry sludge	۱۵/۰۷	۴۲/۳	۱۳/۵۵
لجن خشک شده	۱۳	MPN / g dry sludge	۰/۵	۶/۵۲	۱/۸

مونوسیتوزنز، ایناکوآ و سیلیگری طبق جدول ۶ محاسبه گردید.

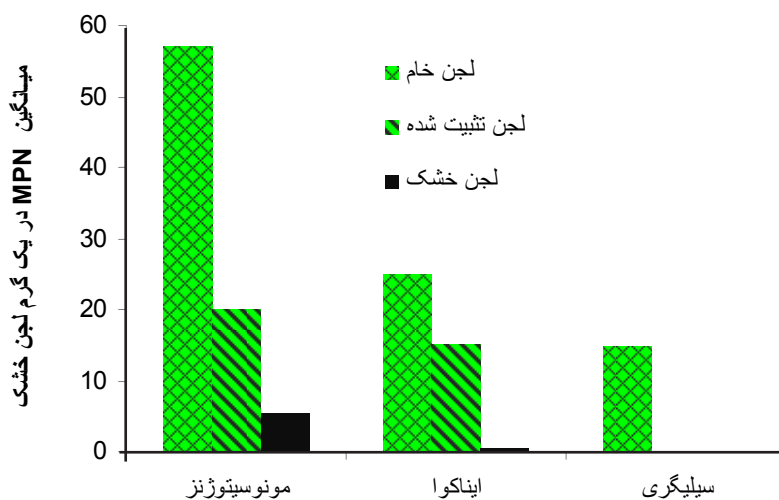
با توجه به نتایج بدست آمده، کارایی هاضم‌های بی‌هوازی و بسترهای خشک‌کننده لجن در حذف گونه‌های لیستریا

جدول ۵: میانگین MPN لیستریا سیلیگری در انواع مختلف لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان

نوع نمونه	تعداد نمونه	واحد	میانگین MPN	ماکزیمم	انحراف معیار
لجن خام	۱۳	MPN / g dry sludge	۱۴/۷۵	۵۸/۳۳	۱۸/۶۸
لجن تثبیت شده	۱۳	MPN / g dry sludge	۰	۰	۰
لجن خشک شده	۱۳	MPN / g dry sludge	۰	۰	۰

جدول ۶: میزان کارایی واحدهای تصفیه لجن در حذف گونه‌های مختلف باکتری لیستریا

نام واحد	گونه لیستریا مونوسیتوزنز	گونه لیستریا ایناکوآ	گونه لیستریا سیلیگری
تانک هاضم بی‌هوایی	٪ ۶۴/۷	٪ ۳۹/۷۲	٪ ۱۰۰
بسترهای خشک‌کننده لجن	٪ ۷۳/۴	٪ ۹۶/۶۸	-



گونه شناسایی شده لیستریا

نمودار ۱: میانگین MPN گونه‌های لیستریا مونوسیتوزنز، ایناکوآ و سیلیگری در انواع لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان

### بحث

لیستریا مونوسیتوزنز، لیستریا ایناکوآ و لیستریا سیلیگری حداقل در یکی از انواع لجن تصفیه‌خانه فاضلاب شمال اصفهان شناسایی شدند. نتایج حاصله از این بررسی با نتایج مطالعات

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که میزان آلودگی لجن خام، لجن تثبیت شده بی‌هوایی و لجن خشک شده به لیستریا به ترتیب ٪۱۰۰، ٪۹۲/۳ و ٪۵۳/۸ بوده و گونه‌های

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه بیانگر این است که تانک‌های هاضم بی‌هوازی و بسترهای لجن خشک‌کن می‌توانند در کنار هم کارایی خوبی در حذف و یا کاهش گونه‌های باکتری لیستریا داشته، ولی بطور کامل گونه بیماری‌زای لیستریا مونوسیتوزنر را از بین نمی‌برند لذا استفاده از این لجن می‌تواند باعث انتشار این باکتری در محیط شود که در این راستا پیشنهاد می‌گردد خاک و محصولات کشاورزی مزارعی که از لجن فاضلاب به عنوان کود استفاده می‌کنند از لحاظ آلودگی به لیستریا مونوسیتوزنر مورد مطالعه قرار گیرند.

### تشکر و قدردانی

از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در اجرای طرح تحقیقاتی مربوط به این مطالعه قدردانی می‌شود.

Garret و همکاران (۱)، Paillard و همکارش (۲)، Garrec و همکاران (۱۲) و Combarro و همکاران (۱۳) هم‌خوانی دارد. بطوری‌که تمامی مطالعات مذکور، حضور باکتری لیستریا در نمونه‌های لجن را تأیید نموده و ضمن تشخیص گونه‌های شناسایی شده در این مطالعه، لیستریا مونوسیتوزنر را به عنوان گونه غالب لیستریا در لجن معرفی نموده‌اند.

با استفاده از داده‌های حاصله از شمارش گونه‌های شناسایی شده باکتری لیستریا در لجن خام، لجن تثبیت شده بی‌هوازی و لجن خشک شده، کارایی هاضم بی‌هوازی و بسترهای خشک‌کننده لجن برای حذف باکتری لیستریا مونوسیتوزنر به ترتیب ۶۴/۷٪ و ۷۳/۴٪ بدست آمد. نتایج نشان دادند که هر چند بسترهای خشک‌کننده لجن و هاضم‌های بی‌هوازی می‌توانند در صورت راهبری درست به عنوان گزینه‌ای مناسب جهت کاهش گونه لیستریا مونوسیتوزنر باشند. لکن با عنایت به بالا بودن تعداد باکتری لیستریا مونوسیتوزنر در لجن نهایی، مشکل غیربهداشتی بودن آن برای مزارع کشاورزی همچنان وجود دارد. لذا باید با راهبری درست هاضم و افزایش زمان ماند در بسترهای خشک‌کننده لجن، میزان لیستریا مونوسیتوزنر را بطور کامل حذف کرد. این مطالعه نشان داد که بیشترین حذف باکتری لیستریا مونوسیتوزنر از لجن (۷۳/۴٪) در بسترهای خشک‌کننده لجن صورت می‌گیرد.

بررسی کارایی هاضم‌های بی‌هوازی و بسترهای خشک‌کننده در حذف گونه‌های ایناکوآ و سیلیگری نشان داد که بیشترین تعداد لیستریا سیلیگری در لجن خام وجود داشته، که در طی فرایند هضم لجن در هاضم‌های بی‌هوازی به طور کلی حذف گردیده است. گونه ایناکوآ به میزان کمتری توسط تانک‌های هاضم حذف شده و بیشترین درصد حذف آن در بسترهای لجن خشک‌کن حاصل شده است. بنابراین لیستریا ایناکوآ نسبت به شرایط موجود در هاضم‌ها نسبتاً مقاوم، ولی نسبت به شرایط بسترهای خشک‌کننده لجن حساس بوده و در طی این مرحله از بین می‌رود. Combarro و همکاران (۱۳) در اسپانیا نشان دادند که میانگین کارایی تصفیه فاضلاب با فرایند هوادهی گسترده برای حذف باکتری لیستریا ۹۲ درصد است با این وجود گونه‌های ایناکوآ و سیلیگری بطور کامل طی این فرایند از بین می‌روند.

منابع

- 1- Garrec N, Picard-Bonnaud F, Pourcher AM. Occurrence of *Listeria* sp and *L. monocytogenes* in sewage sludge used for land application: effect of dewatering, liming and storage in tank on survival of *Listeria* species. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2003;35(3):275-83.
- 2- Paillard D, Dubois V, Thiebaut R, Nathier F, Hoogland E, Caumette P, et al. Occurrence of *Listeria* spp. in effluents of French urban wastewater treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005;71(11):7562-66.
- 3- Atlas RM. *Principles of Microbiology*. 2nd ed. Missouri: Mosby; 1995.
- 4- Walker IM, Biosolid management, use and disposal. In: Meyers RA, editor. *Encyclopedia of environmental analysis and remediation*. New York: John Wiley; 1998.
- 5- USEPA. Environmental regulations and technology, control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. Washington DC: United States Environmental Protection Agency; 1992. Report No.: EPA/625/R-92/013.
- 6- National Research Council of the National Academies. *Biosolids Applied to Land: Advancing Standards and Practices*. Washington DC: National Academy Press; 2002.
- 7- Hocking AD, Arnold G, Jenson I, Newton K, Sutherland P. *Foodborne Microorganisms of Public Health Significance*. 5th ed. North Sydney: Australian Institute of Food Science and Technology; 1997.
- 8- Jawetz E, Melink JL, Adelberg CA. *Review of Medical Microbiology*. 17th ed. Los Altos: Appleton and Lange; 1987.
- 9- Watkins J, SLEATH KP. Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage, sewage sludge and river water. *Journal of Applied Bacteriology*. 1981;50(1):1-9.
- 10- Garrec N, Sutra L, Picard F, Pourcher A-M. Development of a protocol for the isolation of *Listeria monocytogenes* from sludge. *Water Research*. 2003;37(19):4810-14.
- 11- Ryser ET, Marth EH. *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. New York: Marcel Dekker; 1999.
- 12- Garrec N, Marault M, Kerouanton A, Brisabois A, Pourcher A, Sutra L. Heteroduplex mobility assay for the identification of *Listeria* sp. and *Listeria monocytogenes* strains: application to characterisation of strains from sludge and food samples. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2003;38(3):257-64.
- 13- Combarro M, Gonzalez M, Araujo M, Amezaga A, Sueiro R, Garrido M. *Listeria* species incidence and characterisation in a river receiving town sewage from a sewage treatment plant. *Water Science and Technology*. 1997;35(11):201-204.
- 14- Al-ghazali M, Al-azawi SK. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in a sewage treatment plant in Iraq. *Journal of Applied Bacteriology*. 1986;60(3):251-54.
- 15- Harrigan WF. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3rd ed. USA: Academic Press; 1998.
- 16- Bridson, EY. *The Oxide Manual*. 6th ed. Hampshire: Unipath; 1990.
- 17- APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. Washington DC: APHA; 2005.

## **Study of Sludge Processing Units Efficiency in North Isfahan Wastewater Treatment Plant to Remove *Listeria* Species**

<sup>1</sup>Nahid Navidjouy, <sup>2</sup>Mohammad Jalali, <sup>3\*</sup>Hassan Khorsandi, <sup>4</sup>Hossein Movahedian

<sup>1</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

<sup>2</sup> Department of Nutrition Microbiology, Faculty of Nutrition, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>3</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

<sup>4</sup> Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

12 March 2013

11 June 2013

### **ABSTRACT**

**Background & Objectives:** *Listeria* bacterium resists to the sludge digestion conditions and *Listeria monocytogenes* is the most important of them. Sludge produced in the north Isfahan wastewater treatment plant is stabilized by anaerobic digesters and is used for fertilizing agricultural lands after drying in the sludge drying beds. Based on the importance of the subject, the objective of this study was evaluation of sludge processing units efficiency, particularly anaerobic sludge digestion for reduction or removal of *Listeria*.

**Materials and Methods:** In this descriptive study, samples were collected weekly from sludge processing units 13 times in north Isfahan wastewater treatment plant according to standard methods over three months. *Listeria* bacteria were enumerated and isolated by triple-tube fermentation method and U.S Department of Agriculture method respectively. Isolated *Listeria* were confirmed by phenotypic method and then bacterial species were diagnosed differentially by biochemical carbohydrate fermentation and CAMP test.

**Results:** Contamination of raw, stabilized and dried sludge at least to one of *L. Monocytogenes*, *L. Innocua* and *L. Seeligeri* species was 100, 92.3 and 53.8 percent respectively. Anaerobic sludge digesters efficiency to remove *L. Monocytogenes*, *L. Innocua* and *L. Seeligeri* species was determined 64.7, 39.72, and 100 percent while the efficiency of drying sludge beds for *L. monocytogenes* and *L.innocua* species removal was 73.4 and 96.68 percent respectively.

**Conclusion:** *Listeria monocytogenes* is more resistant than other identified species against the sludge processing conditions. Thus, the use of sludge as fertilizer can cause the spread of this bacterium in the environment and agricultural products pollution.

**Key words:** *Listeria*, *Listeria Monocytogenes*, sludge anaerobic digestion, wastewater treatment plant; Isfahan

---

\*Corresponding Author: [hassankhorsandi@yahoo.com](mailto:hassankhorsandi@yahoo.com)

Tel: +98 44 32752301

Fax: +98 44 32770047