مجله سلامت و محیط زیست، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره نهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۵، صفحات ۵۵۹ تا ۵۷۰

Available online: http://ijhe.tums.ac.ir

مقاله پژوهشی

شناسایی و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های موجود در فیلترهای دستگاه تصفیه آب خانگی در شهر اهواز

لاله کیانی[۱]، سیده الهام رضاتوفیقی*[۱]، حسین معتمدی[۱]

۱. (نویسنده مسئول): گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۸/۱۰
تاریخ ویرایش: ۹۵/۱۰/۲۹
تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۰۶
تاریخ انتشار: ۹۵/۱۲/۱۶

واژگان کلیدی: دستگاه تصفیه خانگی، بیوفیلم، باکتری، مقاومت آنتی بیوتیکی

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
e.tofighi@yahoo.com,
e.tofighi@scu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از دستگاه‌های تصفیه آب خانگی در سال‌های اخیر به علت آلودگی آب‌ها رواج زیادی پیدا کرده است. در دستگاه‌های تصفیه، با تشکیل بیوفیلم باکتریایی در سطح فیلترها، امکان انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین باکتری‌ها و نهایتا ورود به بدن انسان وجود دارد. در این مطالعه به بررسی نوع باکتری‌هایی که در فیلترهای دستگاه تصفیه رشد می‌کنند و همچنین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی آنها پرداخته شده است.

روش بررسی: در این تحقیق از فیلترهای ۸۰ دستگاه تصفیه آب خانگی نمونه‌برداری شد. با کمک روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی باکتری‌های رشد یافته در این فیلترها شناسایی شدند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، تتراسایکلین، اریترومایسین، جنتامایسین، سفالکسین و تری‌متوپریم-سولفومتوکسازول به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد.

یافته‌ها: از جمله باکتری‌های شناسایی شده شامل *سودوموناس*، *ردوکوکوس*، *باسیلوس*، *اسفینگوموناس*، *زایموموناس*، *آئروموناس*، *کلبسیلا*، *سیتروباکتر*، *درکسیا* و *آکروموباکتر* بودند. بیشترین جدایه‌ها مربوط به باکتری *سودوموناس ایروژینوزا* بود. تست آنتی‌بیوگرام نشان داد که اکثر این باکتری‌ها دارای مقاومت چندگانه هستند. بیشترین مقاومت نسبت به سفالکسین و کمترین مقاومت نسبت به جنتامایسین مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن است که فیلترهای دستگاه تصفیه خانگی، محیطی مناسب برای رشد باکتری‌ها هستند. در این شرایط باکتری‌های دارای مقاومت چندگانه احتمالا می‌توانند ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به واسطه آب به باکتری‌ها و میکروفلورهای بدن انسان انتقال دهند. لذا فیلترها باید به گونه‌ایی طراحی شوند که نه تنها باکتری‌ها را از آب حذف کنند بلکه آنها را نیز از بین ببرند.

Please cite this article as: Kiyani L, Rezatofighi SE, Motamedi H. Identification and study of antibiotic resistance of bacteria in membranes of household water filter systems in Ahvaz. Iranian Journal of Health and Environment. 2017;9(4):559-70.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

مقدمه

آب از نخستین نیازهای زندگی همه موجودات و یکی از موثرترین عوامل در چرخه مواد و انرژی در طبیعت است که برای زندگی انسان و تمدن او نقش حیاتی دارد. در قرآن کریم نیز به اهمیت آب اشاره شده و آب را مایه حیات همه موجودات معرفی کرده است، در سوره انبیا، آیه ۳۰ می‌فرماید: و هر چیز زنده‌ای را از آب پدید آورده‌ایم (۱). ارتقای سطح زندگی و توسعه شهرنشینی، صنایع و کشاورزی از عواملی هستند که باعث افزایش مصرف آب و تولید فاضلاب در جوامع بشری شده و نهایتا منجر به آلودگی محیط زیست می‌شوند (۲).

بررسی کیفیت و امنیت آب آشامیدنی همواره یک موضوع مهم در سلامت عمومی است. پاتوژن‌های منتقل شده توسط آب، میکروارگانیسم‌هایی هستند که ۴ میلیارد مورد از عفونت‌ها و آلودگی‌های میکروبی را ایجاد می‌کنند و می‌توانند هر ساله منجر به ۲-۵/۲ میلیون مرگ ناشی از بیماری‌های اسهالی اندمیک شوند (۳، ۴). بیوفیلم‌های میکروبی، جمعیت به هم پیوسته میکروب‌های متصل به سطح هستند که چندین مزیت نسبت به زندگی پلانکتونی (Planktonic) دارند. بیوفیلم‌ها به طور گسترده در اکثر سطوحی که در آب غوطه‌ور هستند و همچنین در سطح درونی لوله‌های آب و یا در فیلترهای سیستم‌های تصفیه اسمز معکوس یافت می‌شوند (۵). شکل‌گیری بیوفیلم یا بیوفولینگ (Biofouling) یک مشکل رایج در محیط‌های آبی است که می‌تواند نقش مهمی در طبیعت، صنعت و پزشکی داشته باشد؛ بدین ترتیب که باعث آلودگی آبخیزها، تشکیل رسوب بر سطح فیلترها و گسترش عوامل عفونت‌زا شود. انباشتگی میکروارگانیسم‌های فعال از لحاظ متابولیکی روی سطوح می‌تواند منجر به تجزیه مواد شده و عملکرد موثر سیستم را تحت تاثیر قرار دهد. کنترل بیوفولینگ چالش بزرگی را ایجاد کرده است، به این دلیل فرایندهایی مانند رسوب باکتری‌ها، رشد و بلوغ آنها در گسترش بیوفیلم موثر هستند (۶). از آنجایی‌که کیفیت آب در مناطق مختلف متغیر است و نمی‌تواند برای میلیون‌ها انسان در کشورهای توسعه یافته بطور یکسان کنترل شود، همچنین بعلت وجود باکتری‌ها و آلودگی‌های دیگر مانند ذرات ریز و فلزات سنگین، کاربرد سیستم‌های فیلتری خانگی، که از سال ۱۹۸۰ مورد استفاده قرار گرفته، رواج پیدا کرده است (۷). این سیستم‌های فیلتری برای تصفیه آب در سطح خانه و برای کاهش آلودگی‌های محیطی آب آشامیدنی، تولید شده‌اند (۸). دستگاه تصفیه خانگی آلودگی‌هایی را که سبب ایجاد طعم، بو، کدورت و اثرات نامطلوب می‌شود کاهش می‌دهد (۹). مشاهدات بیان می‌کنند که استفاده از این دستگاه‌ها می‌تواند میزان شیوع بیماری‌های اسهالی را تا بیش از ۴۰ درصد کاهش دهد (۱۰). بطور کلی استفاده از فرایندهای فیلتراسیون غشایی مثل اسمز معکوس و نانوفیلتراسیون می‌تواند آب آشامیدنی با کیفیتی تولید کند که عاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و آلوده‌کننده‌های آلی و معدنی باشد. با این وجود بیوفولینگ باعث کاهش در عملکرد فیلتراسیون اسمز معکوس می‌شود. باید گفت که بیوفولینگ یک مشکل اساسی در فرایندهای فیلتری توسط غشا است (۱۱). آلودگی آب ذخیره‌ای بطور عمده در حالت هوازی رخ می‌دهد و اکثرا باکتری‌های گرم منفی و هتروتروف عامل این آلودگی هستند (۴). با وجودی که استفاده از دستگاه‌های تصفیه آب خانگی به سرعت در کشور در حال گسترش است ولی مطالعات عمده‌ایی در رابطه با احتمال آلودگی میکروبی فیلترهای این دستگاه‌ها پس از استفاده وجود ندارد. Masoumi و همکاران به بررسی آلودگی آب پس از فیلتر شدن پرداختند (۴)، درحالی‌که در مطالعه حاضر به بررسی آلودگی خود فیلترها پرداخته شد با این فرضیه که فیلتر می‌تواند به عنوان بستری مناسب برای ایجاد بیوفیلم، رشد باکتری و نهایتا انتقال آن به آب عمل کند. شناخت نوع باکتری‌هایی که توانایی رشد در چنین شرایطی را دارند می‌تواند در جهت اتخاذ سیاست‌هایی برای حذف این عوامل موثر باشد.

از زمان شناخت باکتری‌ها، بشر همواره در پی یافتن دارویی موثر علیه عفونت‌های ناشی از آنها بوده است و در طی این روند تکاملی باکتری‌ها نیز به مکانیسم‌های موثری جهت از بین بردن آنتی‌بیوتیک‌ها دست یافته‌اند (۱۲). فرایندهای زیادی وجود دارد که باعث گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها می‌شوند از جمله جهش‌های کروموزومی و انتقال افقی ژن‌ها، که مورد دوم نقش اساسی‌تری در این امر دارد (۱۳). مقدار مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها طی ۶۰ سال گذشته افزایش یافته

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

است و باکتری‌ها با تولید نسل‌هایی که حساسیت چندانی به آنها ندارند به این امر پاسخ می‌دهند (۱۴). آنتی‌بیوتیک‌ها از راه‌های مختلفی وارد محیط آبی می‌شوند. بخشی از آن ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در کشت‌های آبی است. همچنین برای افزایش رشد احشام از ترکیبات آنتی‌بیوتیکی استفاده می‌شود که در نهایت باقیمانده آنتی‌بیوتیکی از راه کودشان وارد محیط می‌شود علاوه بر این مواد ضدمیکروبی برای درمان عفونت‌ها در استخرهای پرورش ماهی نیز استفاده می‌شود. با مصرف ترکیبات دارویی برای بیماران در بیمارستان یا در خانه نیز این ترکیبات از طریق فاضلاب خانگی به محیط آبی منتقل می‌شوند (۱۵). پاتوژن‌های انسانی و دامی به طور بالقوه باکتری‌هایی بیماری‌زا هستند که عمدتا از طریق فاضلاب وارد محیط‌های آبی شده‌اند. بسیاری از این ارگانیسم‌ها به کمک جنس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و از طریق عناصر متحرک ژنتیکی مناسب مثل پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و باکتریوفاژها در میان جمعیت‌های ساکن در آب و خاک گسترش می‌یابند. فقط باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک، جمعیت میکروارگانیسم‌های مقاوم را تشکیل نداده‌اند بلکه ژن‌های مقاومت از طریق ورود به باکتری‌های محیطی توانسته‌اند این دسته از میکروارگانیسم‌ها را تبدیل به مخزنی از ژن‌های مقاومت کنند. بررسی‌ها نشان داده است، که بسیاری از این جنس‌ها به طور اولیه جنس‌های مقاوم نبودند اما هنگامی‌که در محیط مناسب قرار گرفتند به جنس‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک تبدیل شده‌اند (۱۶). باکتری‌های محیطی که تولید آنتی‌بیوتیک نمی‌کنند نیز حامل ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک هستند. بنابراین وقتی به برخی از محیط‌ها از جمله محیط‌های کلینیکی وارد می‌شوند، ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک از طریق انتقال افقی به باکتری‌های دیگر منتقل می‌کنند. گزارش‌های اخیر نشان داده‌اند که محیط یک نقش موثر در انتقال ژن‌های مقاومت بازی می‌کند (۱۷). با توجه به مطالبی که گفته شد اهمیت باکتری‌های یافت شده در آب و یا فیلتر نه تنها منحصر به بیماری‌زا بودن آنها است بلکه باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک با دارا بودن ژن‌های مقاومت می‌توانند با انتقال این ژن‌ها به سایر باکتری‌های بدن از راه آب آشامیدنی زمینه را برای گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی فراهم کنند. در این میان در صورت توانایی باکتری برای جایگزینی و رشد در فیلترها احتمال تبادلات ژنی و کسب ژن‌های مقاومت نیز وجود دارد. لذا یکی از اهداف این مطالعه بررسی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌ها و بنابراین ارزیابی اهمیت باکتری‌های رشد یافته در فیلتر بود.

استان خوزستان حدود ۳۳ درصد کل منابع آب‌های سطحی کشور را به خود اختصاص داده است. آلودگی رود کارون از مشکلات مهم این رودخانه است (۱۸). بر همین اساس مردم شهر اهواز از سیستم‌های تصفیه فیلتری خانگی برای تامین آب سالم شرب خود استفاده می‌کنند. هدف از این مطالعه در مرحله اول بررسی آلودگی میکروبی فیلترهای دستگاه تصفیه، در مرحله دوم شناسایی دقیق باکتری‌هایی که در این شرایط قادر به رشد هستند و در مرحله سوم ارزیابی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی این جدایه‌ها بود.

مواد و روش‌ها

- نمونه‌گیری

دستگاه تصفیه خانگی حداقل از چهار فیلتر تشکیل شده است که فیلتر شماره یک به صورت ماهانه، فیلتر شماره دو هر سه ماه یک بار، فیلتر شماره سه شش ماه یک بار و فیلتر چهار در صورت آسیب تعویض می‌شود. در این مطالعه جهت شناسایی میکروارگانیسم‌هایی که روی فیلترها رشد می‌کنند ۵۰ فیلتر شماره یک، ۱۴ فیلتر شماره دو، ۱۴ فیلتر شماره سه و ۲ فیلتر شماره چهار از دستگاه‌های تصفیه خانگی در شهر اهواز جمع‌آوری گردید. فیلترها مربوط به دستگاه‌های مختلف بود. با استفاده از یک تیغ بیستوری یا چاقوی استریل، در شرایط استریل به اندازه g ۵ از هر فیلتر برش داده شد و به نسبت یک به ده در سرم فیزیولوژی به مدت h۱ در دمای $30^{\circ}C$ در انکوباتور شیکردار قرار داده شد تا بیوفیلم‌های تولید شده از سطح فیلتر جدا شوند. سپس برای انجام عمل غنی‌سازی به نسبت mL ۱ از سوسپانسیون به mL ۹ محیط نوترینت براث انتقال داده و در دمای $30^{\circ}C$ به مدت ۴۸ تا h ۷۲ در انکوباتور شیکردار گرمادهی شد (۱۹).

- شمارش کلونی باکتری‌ها

برای شمارش تعداد باکتری در هر گرم از فیلتر، از

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

روش Colony forming unite (CFU) استفاده شد. به این صورت که ابتدا از هر نمونه رقت‌های ده‌تایی از رقت برابر 10^{-9} تا 10^{-1} تهیه و از هر کدام از رقت‌ها ۱۰۰ µL برداشت و روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد و سپس در دمای ۳۰ °C گرمادهی شد. پس از ۲۴h ، پلیتی که در آن بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلونی رشد کرده بود مشخص و نهایتا تعداد باکتری‌ها در نمونه اولیه محاسبه شد.

- کشت و شناسایی بیوشیمیایی باکتری‌ها

برای شناسایی باکتری‌ها از دو روش بیوشیمیایی و مولکولی استفاده گردید. کلونی‌های متفاوت از لحاظ رنگ، شکل و اندازه مشخص و در پلیت استریل حاوی محیط نوترینت آگار جهت خالص‌سازی کشت داده شد و دمای ۳۰ °C انکوبه گردید. از روش‌های بیوشیمیایی مختلف مانند رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، کاتالاز و کشت در محیط‌های اختصاصی و افتراقی برای شناسایی جدایه‌ها استفاده شد (۲۰، ۲۱).

- شناسایی مولکولی باکتری‌ها

جهت تائید شناسایی بیوشیمیایی باکتری‌ها از روش مولکولی PCR استفاده شد. جدایه‌ها در نوترینت براث کشت داده شدند و به مدت ۱۶ h در دمای ۳۰°C گرمادهی شدند. از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن برای استخراج DNA جدایه‌ها استفاده شد. استخراج براساس روش توصیه شده کیت انجام شد. در PCR محل هدف، 16S rRNA در نظر گرفته شد. پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت انجام PCR از بافر 1X، $MgCl_2$ با غلظت نهایی ۳ mM، ۰/۴ pmol/µL از هر پرایمر، ۰/۲ mM از هر dNTP و ۱/۵ واحد از آنزیم *Taq* polymerase در حجم نهایی ۲۵ µL استفاده شد. کلیه مواد واکنش PCR از شرکت سیناژن، ایران تهیه گردید. شرایط انجام واکنش به شرح زیر بود: تقلیب اولیه ۹۴ °C به مدت ۵ min، ۲۵ سیکل با تقلیب ۹۴ °C به مدت ۱ min، اتصال پرایمر ۵۵ °C به مدت ۴۰ s، گسترش رشته‌ها در دمای ۷۲ °C به مدت ۲ min و گسترش نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۵ min انجام شد (۲۲). سپس محصول PCR جهت تعیین توالی به شرکت ژن فناوران ارسال شد.

جدول۱- پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

رفرنس	توالی ′۳ ← ′۵	نام پرایمر	ژن هدف
۲۳	CCGAATTCGTCGACAACAGAGTTTGATCCTGGCTCAG	FD1	16 S rRNA
۲۳	CCCGGGATCCAAGCTTACGGTTACCTTGTTACGACTT	RP1	16 S rRNA
۲۴	ATGGAAATGCTGAAATTCGG<C>	*opr*-LF	*opr-L*
۲۴	CTTCTTCAGCTCGACGCGAC<G>	*opr*-LR	*opr-L*

جهت شناسایی و تائید گونه باکتری‌های *سودوموناس* که بیشترین جدایه‌ها بودند از ژن *opr*-L که در گونه آئروژنوزا این باکتری وجود دارد استفاده شد (۲۳). پرایمرهای مورد استفاده برای انجام واکنش PCR در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت انجام PCR از بافر1x، $MgCl_2$ با غلظت نهایی ۱/۵ mM، ۰/۴ pmol/µL از هر پرایمر، ۰/۳ mM از هر dNTP و ۲/۵ واحد از آنزیم *Taq* polymerase در حجم نهایی ۲۵ µL استفاده شد. کلیه مواد واکنش PCR از شرکت سیناژن، ایران تهیه گردید. شرایط انجام واکنش به شرح زیر بود: تقلیب اولیه ۹۴ °C به مدت ۳ min، ۳۵ سیکل با تقلیب ۹۴°C به مدت ۱ min، اتصال پرایمرها در دمای ۶۰ °C به مدت ۱ min، گسترش رشته‌ها در دمای ۷۲ °C به مدت ۱ min و گسترش نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۵ min انجام شد (۲۳).

- بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

پس از شناسایی جدایه‌ها مقاومت آنتی‌بیوتیکی هر جدایه

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

به روش نشر دیسک کربی بوئر مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌ها کشت داده شدند و پس از رسیدن به جذب نوری برابر ۵/۰ مک‌فارلند، از هر نمونه به میزان ۱۰۰ µL به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل و به صورت چمنی کشت داده شد و بعد از تقریبا ۱۵ min محیط دیسک‌گذاری گردید. در این مطالعه مقاومت باکتری‌ها به شش آنتی‌بیوتیک رایج یعنی تتراسایکلین، پنی‌سیلین، اریترومایسین، جنتامایسین، سفالکسین و تری‌متوپریم-سولفومتوکسازول سنجیده شد. نمونه‌های کشت داده شده در انکوباتور ۳۰ °C قرار داده شد و بعد از ۲۴ h قطر هاله ایجاد شده اندازه‌گیری شد.

- آزمون آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری Chi-square استفاده شد و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و از نرم افزار SPSS17 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

- باکتری‌های شناسایی شده

با توجه به تست‌های انجام شده در تمامی رقت‌های کشت داده شده، کلونی‌هایی از باکتری‌ها که قابل شمارش بودند مشخص شدند. روش شمارش کلونی نشان داد که در هر فیلتر بین 10^5 تا 10^9 باکتری وجود دارد. در مطالعه حاضر تعداد باکتری‌های شمارش شده در فیلتر شماره ۳ از سه فیلتر دیگر مورد بررسی بیشتر بود. تعداد باکتری در این فیلتر 10^9 cfu/g گزارش شد در حالی‌که در فیلترهای دیگر بطور متوسط 10^5تا 10^6 باکتری وجود داشت. جدول ۲ فراوانی جنس‌های باکتری‌های جدا شده از هر فیلتر را نشان می‌دهد. در هر فیلتر حداقل چهار کلونی بررسی شد. کلونی‌هایی که از لحاظ خصوصیات بیوشیمیایی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی یکسان بودند به عنوان یک باکتری در نظر گرفته شدند. در این مطالعه بیشترین تعداد باکتری در فیلتر شماره ۳ و بیشترین تنوع باکتری در فیلتر شماره ۱ مشاهده شد. تنوع باکتریایی در فیلتر شماره ۱ با دیگر فیلترها اختلاف معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده شرایط مناسب‌تر رشد باکتری‌ها در این فیلتر نسبت به دیگر فیلترهاست.

جدول ۲- تنوع جدایه‌ها در فیلترهای دستگاه تصفیه خانگی

شماره فیلتر	تعداد فیلترهای مورد بررسی	تعداد جدایه‌های شناسایی شده	درصد جدایه‌های شناسایی شده
فیلتر شماره ۱	۵۰	۱۰۵	۷۱/۴۲*
فیلتر شماره ۲	۱۴	۲۳	۱۵/۶۴
فیلتر شماره ۳	۱۴	۱۷	۱۱/۵۶
فیلتر شماره ۴	۲	۲	۱/۳۶

* $P<0/05$

- شناسایی بیوشیمیایی جدایه‌ها

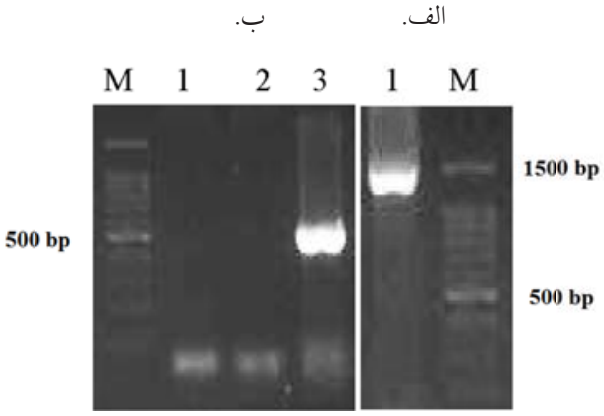
ابتدا با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، باکتری‌های گرم منفی و مثبت جداسازی شدند و مراحل بعدی تشخیص برای هر دسته از باکتری‌ها به صورت جداگانه انجام شد. با توجه به تست‌های انجام شده باکتری‌های کاتالاز مثبت، گرم منفی، راد کوتاه و بلند که برخی بصورت دیپلوئید بودند مشاهده شد. با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی مانند تست کاتالاز، اکسیداز و تست OF شناسایی اولیه انجام شد. با توجه به اطلاعات بدست آمده و با استفاده از روش‌های تشخیصی افتراقی و اختصاصی برای هر جنس به شناسایی نهایی پرداخته شد. باکتری‌های گرم منفی در محیط مک‌کانکی آگار کشت داده شدند و توانایی رشدشان در دماهای بالا یعنی ۴۰ و ۴۲ °C بررسی گردید. برای بررسی

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

بیشتر آنهایی که تقریبا به جنس‌های خاصی شباهت داشتند در محیط اختصاصی کشت داده شدند و یا تست‌های بیوشیمیایی مشخص جهت شناسایی انجام شد. برای باکتری‌های گرم مثبت با توجه به شکل کلونی‌ها، رنگ آمیزی کپسول و اسپور شناسایی اولیه صورت گرفت و برای تایید بیشتر تست‌های بیوشیمیایی انجام گردید.

- شناسایی مولکولی جدایه‌ها

جهت تایید تشخیص باکتری‌ها، جدایه‌ها براساس روش مولکولی PCR مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تعیین توالی محصولات PCR مربوط به 16S rRNA در بانک ژنی بلاست گردید. نهایتا ۴ جدایه به عنوان *رودوکوکوس* (*Rhodococcus*)، ۱۶ جدایه به عنوان باسیلوس (*Bacillus*)، ۱۰۰ جدایه به عنوان سودوموناس (*Pseudomonas*)، ۴ جدایه اسفنگوموناس (*Sphingomonas*)، ۴ جدایه زایموموناس (*Zymomonas*)، ۶ جدایه آئروموناس (*Aeromonas*)، ۲ جدایه کلبسیلا (*Klebsiella*)، ۲ جدایه سیتروباکتر (*Citrobacter*)، ۱ جدایه درکسیا (*Drexia*)، ۷ جدایه آکروموباکتر (*Achromobacter*)، و ۱ جدایه استنوتروفوموناس (*Stenotrophormonas*) تشخیص داده شدند (جدول ۳). باکتری‌هایی که از لحاظ بیوشیمیایی به عنوان سودوموناس شناسایی شدند برای تعیین گونه، ژن *opr-L* مورد جستجو قرار گرفت. از صد جدایه سودوموناس، ۸۱ جدایه آیروژینوزا تشخیص داده شد که بیشترین جدایه شناسایی شده را شامل می‌شود (شکل ۱).



شکل ۱- واکنش PCR برای 16S rRNA و opr-L. الف) ایجاد باند مربوط به 16S rRNA جدایه‌ها را نشان می‌دهد M مارکر و ستون یک باند ۱۴۰۰ bp را نشان می‌دهد. ب) واکنش PCR برای شناسایی ژن opr-L سودوموناس ایروژینوزا. M مارکر. ستون یک و دو نمونه منفی، ستون سه نمونه مثبت و ایجاد باند ۵۰۰ bp مربوط به ژن opr-L

جدول ۳- بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌ها با کمک روش انتشار دیسک کربی بوئر

آنتی‌بیوتیک / انواع باکترهای مقاوم به آنتی بیوتیک ها (تعداد جدایه)	جنتامایسین تعداد (درصد)	تتراسایکلین تعداد (درصد)	تری‌متوپریم- سولفومتوکسازول تعداد (درصد)	اریترومایسین تعداد (درصد)	سفالکسین تعداد (درصد)	پنی سیلین تعداد (درصد)
باسیلوس (۱۶)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴ (۲۵)	۱ (۶/۲۵)	۷ (۴۳/۷۵)	۹ (۵۶/۲۵)
رادوکوکوس (۴)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲۵)	۰ (۰)
سودوموناس (۱۰۰)	۱ (۱)	۱۵ (۱۵)	۳۴ (۳۴)	۷۸ (۷۸)	۸۸ (۸۸)	۸۵ (۸۵)
سیتروباکتر (۲)	۰ (۰)	۱ (۵۰)	۱ (۵۰)	۲ (۱۰۰)	۱ (۵۰)	۲ (۱۰۰)
کلبسیلا (۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۵۰)	۰ (۰)	۱ (۵۰)
آئروموناس (۶)	۱ (۱۶/۶)	۴ (۶۶/۶)	۳ (۵۰)	۶ (۱۰۰)	۵ (۸۳/۳)	۶ (۱۰۰)
اسفینگوموناس (۴)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲۵)	۲ (۵۰)	۲ (۵۰)	۱ (۲۵)
آکروموباکتر (۷)	۳ (۴۲/۸)	۱ (۱۴/۲)	۱ (۱۴/۲)	۵ (۷۱/۴)	۵ (۷۱/۴)	۵ (۷۱/۴)
درکسیا (۱)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)
زایموموناس (۴)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
استنوتروفورموناس(۱)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)
مجموع (۱۴۷)	۵ (۳/۴)	۲۱ (۱۴/۲۸)	۴۵ (۳۰/۶۱)	۹۶ (۶۵/۳)	۱۱۱ (۷۵/۵۱)	۱۰۹ (۷۴/۱۵)

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

- مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

بررسی تست آنتی‌بیوگرام نشان داد که اکثر جدایه‌ها به جنتامایسین حساس هستند. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفالکسین، پنی‌سیلین و اریترومایسین مشاهده شد. در ۶۲/۶ درصد از جدایه‌ها فرم‌های مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک مشاهده شد که نشان‌دهنده شیوع بسیار بالای مقاومت در بین جدایه‌ها است. بیشترین میزان مقاومت چند آنتی بیوتیکی در جدایه‌های سودوموناس مشاهده شد به طوری‌که بیش از ۷۰ درصد جدایه‌های این باکتری دارای الگوی مقاومت چندگانه بودند. نتایج مقاومت در جدول ۳ آمده است.

بحث

یک چالش اصلی در سیستم‌های توزیع آب و دستگاه تصفیه آب آشامیدنی، کیفیت و بهداشت آب است (۴). جنس فیلترهای دستگاه تصفیه آب آشامیدنی خانگی که برای تصفیه بهتر آب در خانه استفاده می‌شوند، پلاستیکی است و هنگامی که این فیلترها برای مدت زمانی طولانی در معرض رطوبت باشند، روی سطح‌شان بیوفیلم تشکیل می‌شود (۸). بسیاری از محققین، محیط‌های آبی را جایگاهی مساعد برای مقاوم شدن بسیاری از باکتری‌ها در مقابل انواع گوناگون آنتی‌بیوتیک‌ها می‌دانند چرا که در چنین محیط‌هایی به دلیل بالا بودن بار غذایی و بار میکروبی، ژن‌های مقاومت بین گونه‌های مختلف باکتریایی انتقال می‌یابند (۲۴).

در این مطالعه در میان باکتری‌های جدا شده از فیلتر، برخی توانایی ایجاد بیماری در انسان را دارند که در ادامه به شرح آنها پرداخته می‌شود. در این مطالعه باکتری *سودوموناس* که می‌تواند یک بیماری‌زای فرصت طلب برای انسان باشد به عنوان بیشترین جدایه شناسایی شد. این باکتری قادر است روی ساده‌ترین ترکیبات و حتی برخی ترکیبات ضدمیکروبی رشد کند. در خاک، آب و سطح گیاهان یافت می‌شود. گونه تیپیک این جنس *سودوموناس آئروژینوزا* است (۲۰). بیش از ۵۵ درصد از باکتری‌های جدا شده *به عنوان سودوموناس آئروژینوزا* شناسایی شدند. این جنس از باکتری قادر به تولید بیوفیلم در برابر استرس‌های محیطی است. همچنین عفونت‌های مختلفی مانند پنومونی، باکتریومی، عفونت‌های گوش و غیره را ایجاد می‌کند (۲۱). با توجه به جدول ۳ این باکتری بیشترین مقاومت را در بین سایر جدایه‌ها نشان داد و همچنین دارای الگوی مقاومت چند دارویی بود. از آنجایی‌که باکتری‌های محیطی مخزنی از ژن‌های مقاومت برای سایر باکتری‌ها هستند این احتمال وجود دارد که ژن مقاومت به سایر باکتری‌ها منتقل شود و چه بسا این انتقال در بیوفیلم‌های تشکیل شده در سطح فیلترها رخ دهد. باکتری دیگر *آئروموناس* پاتوژن فرصت‌طلب برای انسان است و می‌تواند باعث بروز التهاب دستگاه گوارش همراه با اسهال، اسهال خونی، تهوع و استفراغ و دردهای شکمی شود (۲۱). *رودوکوکوس* باکتری‌هایی متعلق به گروه نوکاردیاسه و جزو باکتری‌های گرم مثبت است. این باکتری از خاک‌های آلوده جدا شده‌اند. دارای کپسول هستند و همین کپسول یکی از عوامل شدت بیماری‌زایی آنهاست (۲۵). موسسه استاندارد و تحقیقات کاربردی ایران بیان کرده است که تعداد کلی‌فرم‌های مقاوم به دما در ۱۰۰ mL آب آشامیدنی بایستی صفر باشد (۲۶). در بررسی انجام شده در این پروژه بر روی فیلترهای دستگاه تصفیه، هیچ‌گونه باکتری *اشریشیا کلی* که یک باکتری کلی‌فرم و شاخص آلودگی آب است، مشاهده نشد اما برخی از انواع دیگر کلی‌فرم‌ها از جمله *کلبسیلا* و *پروتئوس* جداسازی گردید. با توجه به نتایج تست آنتی‌بیوگرام باکتری *پروتئوس* به همه آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده بجز جنتامایسین مقاومت نشان داد.

بررسی جدایه‌ها از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که شیوع مقاومت در این باکتری‌ها بسیار بالاست و بسیاری از این باکتری‌ها دارای الگوی مقاومت چندگانه هستند. این موضوع اهمیت باکتری‌های شناسایی شده در فیلترها رو دو چندان می‌کند. گرچه برخی از باکتری‌های جدا شده از نظر بیماری‌زایی برای انسان فاقد اهمیت هستند اما دارای این توانایی هستند که ژن‌های مقاومت را به سایر باکتری‌ها منتقل کنند. رشد باکتری‌های مختلف روی فیلتر می‌تواند شرایط مناسبی را برای انتقال ژن‌ها بین باکتری‌ها فراهم کند. در صورت راهیابی باکتری‌های رشد یافته روی فیلتر به آب آشامیدنی و انتقال آن از راه آب به بدن می‌توانند ژن‌های مقاومت را به میکروارگانیسم‌های فلور و حتی بیماری‌زا فراهم کنند. در صورت مطالعه مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

موجـود در آب آشـامیدنی پیش از فیلتر و باکتری‌های رشـد یافتـه روی فیلتر می‌توان دریافـت که چه درصدی از جدایه‌ها در زمان فیلتراسیون و رشد روی فیلترها مقاومت آنتی بیوتیکی را دریافت می‌کنند.

Masoumi و همکاران (۲۰۱۳) به بررسـی دستگاه‌های فیلتر خانگی در شـهر شـیراز پرداختند (۴). در مطالعه این گروه از محققین آب فیلتر شده مورد بررسی قرار گرفت و سودوموناس آئروژینوزا بیشترین جدایه شناسایی شده بود. در مطالعه حاضر سـودوموناس آیروژینوزا بیشـترین باکتری رشـد یافته روی فیلترهـا بود. این امر نشـان دهنده این موضوع اسـت که این باکتری می‌تواند روی فیلتر رشـد کرده و سـپس به آب تصفیه شده منتقل شـد. این باکتری دارای بیشـترین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکـی در بین جدایه‌ها نیز بوده اسـت. Ivnitsky و همـکاران (۲۰۰۷) جمعیت میکروبـی باکتری‌ها را در دماهای مختلف و در طول مدت ۸-۲۴ روز در فیلترهای نانوفیلتراسیون بررسـی کردند. باکتری‌های شناسـایی شده توسـط این گروه باکتری‌هایی مانند سـودوموناس و اسـفینگوموناس بوده است (۲۷). Bereschenko و همکاران (۲۰۱۰) فیلترهای اسـمز معکوس را بررسـی کردند. بیشـترین جدایه شناسـایی شـده اسـفینگوموناس بوده است (۲۸). تعداد اسـفینگوموناس جدا شـده توسط پروژه حاضر نسـبت به سودوموناس که به عنوان بیشترین جدایه معرفی شد بسـیار کمتر بود. تفاوت حاصل از نتیجه جداسـازی جدایه‌ها احتمالا به دلیل تفاوت در نوع آب اسـت که در این مطالعه حجم زیـادی از باکتری‌ها در مرحله اولیه کلرزنی حذف شـده بودند و آب آشامیدنی مجددا توسط دستگاه، تصفیه می‌شود.

در مطالعـه حاضر تعداد باکتری‌های شـمارش شـده در فیلتر شـماره ۳ از سه فیلتر دیگر مورد بررسـی بیشتر بود. دلیل این امر احتمالا ناشـی از ماندگاری بیشتر این فیلتر و تعویض دیر هنگام آن است که اجازه رشد بیشتر باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم را می‌دهـد. تعداد باکتری در این فیلتر حتی تا 10^9 cfu/g هم می‌رسـید. از لحاظ تنوع جدایه‌ها بیشترین تنوع مربوط به فیلتر شـماره یک بود. در هر بار فیلتراسیون تعدادی از باکتری‌ها به کمک فیلترها حذف می‌شـوند و بنابراین این انتظار می‌رود که فیلتر شماره یک دارای بیشترین تنوع باکتریایی باشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشـان داد کـه گرچه یکی از نقش‌های اصلی فیلترهـای دسـتگاه تصفیه حـذف میکروارگانیسـم‌ها از آب آشـامیدنی اسـت ولی خود فیلترها می‌توانند بـا گیر انداختن میکروب‌هـا به عنوان محیطی مناسـب برای تشـکیل بیوفیلم میکروبی عمل کنند. تنوع باکتری‌های رشد یافته در این محیط بسـیار زیاد بوده و بسیاری از آنها مقاوم به آنتی بیوتیک هستند و احتمـالا دارای این توانایی هسـتند که ژن‌های مقاومت را به باکتری‌هـای دیگر و یـا حتی از طریق آب آشـامیدنی به بدن منتقـل کنند. در این میان با توجه به شناسـایی سـودوموناس آیروژینـوزا به عنوان جدایه غالب و همچنین دارای بیشـترین مقاومت آنتی بیوتیکی به نظر می‌رسـد کـه این باکتری دارای اهمیت ویژه‌ایی است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشـی از پایان‌نامه با عنـوان "بررسی الگوی مقاومـت آنتـی بیوتیکی باکتری‌هـای جدا شـده از فیلترهای سیسـتم‌های تصفیه آب خانگی" در مقطع کارشناسـی ارشـد اسـت که با حمایت مالی و معنوی دانشگاه شهید چمران اهواز اجـرا شـده است.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

منابع

1. Robat Sarpoushi G, Choupani R, Tarkhasi M, Rahmani Sani A. Evaluation of drinking water biological and chemical quality in rural villages under vision of Rabat Sarpush and Shamkan Villages of Sabzevar City. Beyhagh: Journal of Student Research Committee, Sabzevar University of Medical Sciences. 2012;17(1):13-17 (in Persian).
2. Shahsavaripour N, Esmaili Sari A. Assessment of microbiological contamination of Haraz River (Mazandaran Province) and determine of allowable applications of water river comparison with global standards. Journal of Environmental Science and Technology. 2012;13(4):81-94.
3. Su F, Luo M, Zhang F, Li P, Lou K, Xing X. Performance of microbiological control by a point-of-use filter system for drinking water purification. Journal of Environmental Sciences. 2009;21(9):1237-46.
4. Masoumi SJ, Haghkhah M, Mehrabani D, Ghasempour H, Esmaeelnejad Z, Ghafari N, et al. Quality of drinking water of household filter systems in Shiraz, Southern Iran. Middle-East Journal of Scientific Research. 2013;17(3):270-74.
5. Pang CM, Hong P, Guo H, Liu W-T. Biofilm formation characteristics of bacterial isolates retrieved from a reverse osmosis membrane. Environmental Science & Technology. 2005;39(19):7541-50.
6. de Kerchove AJ, Elimelech M. Impact of alginate conditioning film on deposition kinetics of motile and nonmotile Pseudomonas aeruginosa strains. Applied and environmental microbiology. 2007;73(16):5227-34.
7. Zhang Y, Wang Q, Lou W, Wang Y, Zhu X. Microbiological safety of household membrane water filter. Journal of Environmental Biology. 2013;34(2

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

suppl):481-87.
8. Daschner F, Rüden H, Simon R, Clotten J. Microbiological contamination of drinking water in a commercial household water filter system. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 1996;15(3):233-37.
9. Geldreich EE, Taylor RH, Blannon JC, Reasoner DJ. Bacterial Colonization of Point-of-Use Water Treatment Devices. Journal-American Water Works Association. 1985;77(2):72-80.
10. Sobsey MD, Stauber CE, Casanova LM, Brown JM, Elliott MA. Point of use household drinking water filtration: a practical, effective solution for providing sustained access to safe drinking water in the developing world. Environmental Science & Technology. 2008;42(12):4261-67.
11. Semião AJ, Habimana O, Casey E. Bacterial adhesion onto nanofiltration and reverse osmosis membranes: Effect of permeate flux. Water Research. 2014;63:296-305.
12. Abdollahi Kheirabadi S, Najafipour S, Kafilzadeh F, Abdollahi A, Jafari S, Moravej A. Evaluation of Drug Resistance Pattern of Escherichia coli Strains Isolated from Fasa Vali-e-Asr Hospital Patients. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2013;2(4):273-78 (in Persian).
13. Balcazar JL. Bacteriophages as vehicles for antibiotic resistance genes in the environment. PLoS Pathogens. 2014;10(7):e1004219.
14. Elmanama AA, ElKichaoui AY, Mohsin MM. Contribution of hospital wastewater to the spread of antibiotic resistance in comparison to non-health. Journal of Al-Aqsa University. 2006;10:108-21.
15. Rahube TO, Yost CK. Antibiotic resistance plasmids in wastewater treatment plants and their possible dissemination into the environment. African Journal of Biotechnology. 2015;9(54):9183-90.
16. Baquero F, Martínez J-L, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Current Opinion in Biotechnology. 2008;19(3):260-65.
17. Colomer-Lluch M, Imamovic L, Jofre J, Muniesa M. Bacteriophages carrying antibiotic resistance genes in fecal waste from cattle, pigs, and poultry. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2011;55(10):4908-11.
18. Jafarzadeh haghighifard N, Maraghi Sh, Maraashi Sh, Moubed P. A study the bacteria and physiochemical parameters in Ahwaz refinery intakes. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2007;6(2):226-34 (in Persian).
19. Chiellini C, Iannelli R, Modeo L, Bianchi V, Petroni G. Biofouling of reverse osmosis membranes used in river water purification for drinking purposes: analysis of microbial populations. Biofouling. 2012;28(9):969-84.
20. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 2, Part B. 7th ed. New York: Springer; 2005.
21. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 2, Part C. 7th ed. New York: Springer; 2005.
22. Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of Bacteriology. 1991;173(2):697-703.
23. Aghamiri S, Amirmozafari N, Fallah Mehrabadi J, Fouladtan B, Samadi Kafil H. Antibiotic resistance pattern and evaluation of Metallo-Beta Lactamase genes including bla-IMP and bla-VIM types in Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran hospitals. ISRN Microbiology. 2014;2014:1-6.
24. Hadi M, Shokoohi R, Ebrahimzadeh Namvar A, Karimi M, Solaimany Aminabad M. Antibiotic resistance of isolated bacteria from urban and hospital wastewaters in Hamadan City. Iranian Journal of Health and Environment. 2011;4(1):105-14 (in Persian).
25. Goodfellow M, Maldonado LA. The Families Dietziaceae, Gordoniaceae, Nocardiaceae and Tsukamurellaceae. The Prokaryotes. New York: Springer; 2006.
26. Mardani M, Gachkar L, Peerayeh SN, Asgari A, Hajikhani B, Amiri R. Surveying common bacterial contamination in bottled mineral water in Iran. Archives of Clinical Infectious Diseases. 2007;2(1):13-15.
27. Ivnitsky H, Katz I, Minz D, Volvovic G, Shimoni E, Kesselman E, et al. Bacterial community composition and structure of biofilms developing on nanofiltration membranes applied to wastewater treat-

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

ment. Water Research. 2007;41(17):3924-35.
28. Bereschenko L, Stams A, Euverink G, Van Loosdrecht M. Biofilm formation on reverse osmosis membranes is initiated and dominated by Sphingomonas spp. Applied and Environmental Microbiology. 2010;76(8):2623-32.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]

Available online: http://ijhe.tums.ac.ir

Original Article

Identification and Study of Antibiotic Resistance of Bacteria in Membranes of Household Water Filter Systems in Ahvaz

L Kiyani[1], SE Rezatofighi[*1], H Motamedi[1]

1. Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

ARTICLE INFORMATIONS:

Received: 31 October 2016
Revised: 18 January 2017
Accepted: 25 January 2017
Published: 6 March 2017

Key words: Household water filter system, Biofilm, Bacterium, Antibiotic resistance

***Corresponding Author:**
e.tofighi@yahoo.com,
e.tofighi@scu.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objective: The use of household water filter systems has been widely increasing in recent years because of water pollution. In water filter systems, bacterial biofilm forms on the surface of the membranes, thereby increasing the possibility of transferring antibiotic resistance among bacteria and allowing their entry into the human body. This study analyzed the types of bacteria that grow in the membranes of water filter systems and their antibiotic resistance.

Materials and Methods: For this study, samples were collected from 80 membranes of household water filter systems. Bacteria grown on these membranes were identified using biochemical and molecular methods. Resistance against antibiotics including penicillin, tetracycline, erythromycin, gentamycin, cephalexin, and trimethoprim-sulfamethoxazole was evaluated by disk diffusion method.

Results: The detected bacteria included *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Zymomonas*, *Aeromonas, Klebsiella*, *Citrobacter*, *Drexia* and *Achromobacter*. Majority of the isolates were identified as *Pseudomonas aeruginosa*. The antibiogram test showed that most of these bacteria exhibited multi-drug resistance (MDR). Maximum resistance was observed toward cephalexin and the least resistance was toward gentamicin.

Conclusion: The results revealed that membranes of household water filter systems were suitable environments for the growth of bacteria. In these conditions, MDR bacteria presumably could transfer antibiotic resistance genes to bacteria and microflora of the human body through water. Therefore, membranes should be designed in such a manner that not only they can remove the bacteria from water but also kill them.

Please cite this article as: Kiyani L, Rezatofighi SE, Motamedi H. Identification and study of antibiotic resistance of bacteria in membranes of household water filter systems in Ahvaz. Iranian Journal of Health and Environment. 2017;9(4):559-70.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-11-28]