

## مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جداسازی شده از فاضلاب های شهری و بیمارستانی در شهر همدان

مهدی هادی<sup>۱</sup>، رضا شکوهی<sup>۲</sup>، امیرمترضی ابراهیم زاده نامور<sup>۳</sup>، مهرداد کریمی<sup>۴</sup>، مهتری سلیمانی امین آباد<sup>۵</sup>

نویسنده مسئول: کردستان، خیابان پاسداران، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات بهداشت [hadi\\_rfm@yahoo.com](mailto:hadi_rfm@yahoo.com)

دریافت: ۸۹/۰۷/۰۴ پذیرش: ۸۹/۱۰/۰۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** استفاده گسترده از آنتی بیوتیک ها و ورود آنها به فاضلاب های پذیرنده منجر به افزایش باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک ها شده که اثرات منفی بر درمان عفونت های باکتریایی دارد. مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروجینوزا در فاضلاب های شهری و بیمارستانی نسبت به آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، جنتامایسین، سفتریزوکسیم، نالیدیکسیک اسید، سفنازیدیم و سفالکسین مورد مطالعه قرار گرفت.

**روش بررسی:** طی یک مطالعه توصیفی مقطعی به دنبال جداسازی باکتری ها از فاضلاب بیمارستانی و شهری با استفاده از تکنیک های میکروبیشناسی، حساسیت آنها با تکنیک استاندارد انتشار دیسک و تفسیر ناحیه انتشار با چارت کربی-بوئر، سنجیده شد. اختلاف آماری بین مقاومت آنتی بیوتیکی در فاضلاب شهری و بیمارستانی با استفاده از تست ناپارامتریک *Mann-Whitney* مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** درصد مقاومت باکتری اشریشیا کولای نسبت به آنتی بیوتیک ها بین ۱/۸۱٪ تا ۵۱/۰۲٪ تعیین شد که نسبت به سودوموناس آئروجینوزا (بین ۳/۵۷٪ تا ۶۱/۷۶٪) و کلبسیلا پنومونیه (بین ۶/۴۵٪ تا ۹/۸۳٪) کمتر است. باکتری کلبسیلا پنومونیه بیشترین مقاومت را در مقایسه با بقیه نشان داد. باکتری های اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروجینوزا به ترتیب بیشترین مقاومت را نسبت به سفنازیدیم، تری متوپریم سولفامتوکسازول و سفالکسین نشان دادند. مشخص شد که میزان بروز مقاومت دارویی در فاضلاب بیمارستانی بیشتر از فاضلاب های شهری است.

**نتیجه گیری:** با دسترسی آسان به آنتی بیوتیک ها و استفاده بی رویه آنها طیف وسیعی از آنها به فاضلاب ها راه یافته و از توانایی آنها در درمان عفونت های باکتریایی کاسته شده است. بالاتر بودن غلظت و تنوع آنتی بیوتیک ها در فاضلاب های بیمارستانی در مقایسه با شهری منجر به افزایش انتقال عوامل مقاوم بین باکتری ها شده و مقاومت چندگانه تسریع می گردد.

**واژگان کلیدی:** مقاومت آنتی بیوتیکی، فاضلاب شهری، فاضلاب بیمارستانی

۱- کارشناس ارشد بهداشت محیط، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۲- دکترای بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد آمار زیستی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۵- دانشجوی کارشناسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان

## مقدمه

طی دهه های اخیر آنتی بیوتیک ها به طور گسترده ای در درمان عفونت های باکتریایی در انسان و حیوانات و همچنین به عنوان تقویت کننده های رشد در کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته اند (۱۶، ۱۸). افزایش درصد گونه های باکتریایی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها در محیط های مختلف می تواند منجر به بروز مشکلاتی در درمان انتخابی عفونت های باکتریایی گردد (۱۱ و ۲۹). مهم ترین علت بالارفتن میزان مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها در ایران ناشی از تجویز و استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها است (۲۵). بروز مقاومت باکتریایی در محیط های زیست آبی در بسیاری از مطالعات مختلف گزارش گردیده است (۳۳، ۲۶، ۲۱، ۱۳، ۹، ۲ و ۳۷) از این رو بسیاری از محققین، محیط های آبی به خصوص فاضلاب را به عنوان دریافت کننده اصلی باکتری های روده ای، جایگاهی مساعد برای مقاوم شدن بسیاری از باکتری ها در مقابل انواع گوناگون آنتی بیوتیک ها می دانند (۱۴ و ۳۲) چرا که در چنین محیطی انتقال ژن های مقاوم به دلیل بالا بودن بار غذایی و بار میکروبی به خوبی بین گونه های مختلف باکتریایی صورت می پذیرد (۱۰، ۴ و ۳۶). باکتری سودوموناس آئروجینوزا ضرورتاً یک باکتری آزادی است که به طور اتفاقی می تواند در دستگاه گوارشی یافت شود. این باکتری امروزه مسئول اصلی بروز عفونت های ثانویه بیمارستانی بوده به طوری که ۹ تا ۱۱٪ از عفونت های بیمارستانی در ایالات متحده ناشی از این باکتری فرصت طلب است (۳). امروزه استفاده از آنتی بیوتیک ها با دامنه گسترده منجر به بروز مقاومت چندگانه در این باکتری شده بدین مفهوم که این باکتری را نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک های مورد استفاده مقاوم نموده و درمان عفونت های ناشی از آن را با مشکل مواجه کرده است (۱۵).

باکتری کلبسیلا پنومونیه یکی از مهمترین پاتوژن های دستگاه تنفسی در انسان می باشد (۳۰). بیماری تنفسی ناشی از این گونه باکتریایی یک بیماری با دامنه آسیب وسیع و پر هزینه بوده به طوری که منجر به تخریب حفرات تنفسی بیمار می گردد. این بیماری در افراد با

توانایی جسمی کم به سختی قابل علاج بوده و میزان مرگ و میر ناشی از آن بین ۲۰ تا ۵۴٪ گزارش شده است (۵ و ۷). باکتری اشیریشیا کولای می تواند به صورت یک باکتری غیرپاتوژن و یا یک باکتری پاتوژن در انسان و یا سایر موجودات منجر به مسایل بهداشتی گوناگونی گردد. هر چند در خصوص این باکتری درمان آنتی بیوتیکی مورد نیاز نیست اما بسیاری از سوش های این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف مقاومت چندگانه نشان داده اند که این مساله می تواند به عنوان یک نگرانی بهداشتی مهم مطرح شود (۳۸). از این رو نیاز است که پایش اپیدمیولوژیکی دقیقی در مورد این باکتری صورت پذیرد (۲۲). به طور کلی سرعت مقاوم شدن این باکتری رو به افزایش است به طوری که سوش های مختلفی از این باکتری در سراسر جهان منجر به بروز برخی بیماری ها می گردند (۱۹).

با توجه به ضرورت توجه به مساله مقاومت آنتی بیوتیکی و تبعات آن بر سلامت انسان، در این مطالعه توصیفی مقطعی مقاوت آنتی بیوتیکی باکتری های اشیریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروجینوزا جدا شده از فاضلاب های شهری و بیمارستانی شهر همدان، مورد بررسی قرار گرفت. مقاومت باکتری های مذکور نسبت به آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، جنتامایسین، سفتریوکسیم، نالیدیکسیک اسید، سفنازیدیم و سفالکسین با استفاده از تست استاندارد کربی - بوئر سنجیده و بررسی شد.

## مواد و روش ها

به دلیل عدم وجود شبکه جامع جمع آوری فاضلاب در شهر همدان، بخش قابل توجهی از فاضلاب های شهری و صنعتی همدان به طور مشترک به همراه نشتاب های سیلاب، وارد رودخانه عبوری از میان این شهر می شوند. این رودخانه که یقیناً بار آلودگی قابل توجهی را خواهد داشت فاضلاب های دریافتی را با طی مسافتی در حدود ۱۵ تا ۲۰ کیلومتر از شهر خارج می کند.

با استفاده از تست های استاندارد افتراقی بیوشیمیایی اکسیداز، تولید ایندول، هیدرولیز اوره و تست حرکت، باکتری های مورد مطالعه تفکیک شدند. در نهایت بعد از تفکیک، بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی با استفاده روش استاندارد انتشار دیسک انجام پذیرفت. برای این منظور مقاومت باکتری ها نسبت به ۹ آنتی بیوتیک با استفاده از تکنیک استاندارد انتشار دیسک و همچنین چارت های استاندارد تفسیر کربی- بوئر (Kirby-Bauer) با استفاده از محیط کشت مولر هیتتون آگار مطابق زیر و طبق توصیه های کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه های تشخیصی انجام شد (۲۴).

محیط کشت استاندارد تجاری (Merck No. 5437) مولر هیتتون آگار حاوی ۲ گرم عصاره گوشت، ۱۷/۵ گرم کسین هیدرولیزات (Caseinhydrolysate)، ۱/۵ گرم نشاسته و ۱۳ گرم آگار-آگار در لیتر، در داخل پلیت های استریل ریخته و آماده گردید. محیط های کشت تحت شرایط کاملاً استریل با استفاده از باکترهای مورد مطالعه که در مرحله قبل تفکیک شدند کشت داده شدند. سپس بر روی هر پلیت دیسک های آنتی بیوتیکی که از شرکت پادتن خریداری شدند قرار داده شد. در این مطالعه از دیسک های آنتی بیوتیکی کلرامفنیکول (C, 30µg)، سیپروفلوکساسین (CP, 5µg)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (SXT)، جنتامایسین (GM, 10µg)، سفتیزوکسیم (CT, 30µg)، نالیدیکسیک اسید (NA, 30µg)، سفتازیدیم (CAZ, 30µg) و سفالکسین (CN, 30µg) استفاده شد. بعد از قرار دادن دیسک ها بر روی سطح محیط کشت، پلیت ها به مدت ۱۸±۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (برای باکتری های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه) و ۳۷ درجه سانتی گراد برای باکتری سودوموناس آئروجینوزا در انکوباتور نگه داری شدند. بعد از این مدت پلیت ها از انکوباتور خارج و مسافت انتشار اطراف هر دیسک با استفاده از خط کش میلی متری اندازه گیری و نتایج با استفاده از چارت استاندارد کربی-بوئر تفسیر گردید. سوش های استاندارد E. Coli PTCC 1533, K. pneumoniae PTCC 1053 و

به منظور بر آورد حجم نمونه در این تحقیق پنج نمونه اولیه از فاضلاب شهری و بیمارستانی مورد پیش آزمون قرار گرفت و بعد از تعیین میزان کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی متوسط، حجم نمونه بر آورد گردید در این مطالعه مقدار خطای مطالعه ۲۵ در صد منظور گردید.

نمونه های مورد نیاز به منظور آنالیز میکروبی فاضلاب شهری به منظور کاهش تاثیر نقطه نمونه برداری از ۶ نقطه مختلف در امتداد انتهایی رودخانه جمع آوری گردید. فاضلاب های برداشت شده از ۶ نقطه در بطری های استریل ۱۰۰ میلی لیتری جمع آوری و تحت شرایط کنترل شده دمایی (حدود ۴ درجه سانتی گراد) به آزمایشگاه انتقال داده شدند. انجام نمونه برداری طی ده روز تکرار شد. نمونه های مورد نیاز به منظور بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در فاضلاب بیمارستانی، از ۶ بیمارستان در سطح شهر جمع آوری شد. سیستم جمع آوری فاضلاب در بیمارستان ها شامل زهکش های واحدهای کودکان، عفونی، آشپزخانه، رستوران، رختشویخانه است. نمونه های فاضلاب از پنج منهل ترجیحا مرتبط با واحد های مختلف در بطری های استریل ۱۰۰ میلی لیتری جمع آوری گردید و در نهایت به یک بطری شیشه ای استریل ۱۰۰۰ میلی لیتری انتقال داده شد. بدین ترتیب در طی یک روز ۱ نمونه یک لیتری از هر بیمارستان و در مجموع ۶ نمونه از تمام بیمارستان ها جمع آوری و تحت شرایط دمایی حدود ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه منتقل شد. انجام نمونه برداری از فاضلاب های بیمارستانی طی ده روز تکرار شد. لازم به ذکر است انجام نمونه برداری ده روزه از فاضلاب های بیمارستانی و شهری که در تیرماه ۱۳۸۸ انجام شد صرفاً به منظور کاهش خطاهای ناشی از محل و زمان نمونه برداری بوده و بررسی تغییرات روند روزانه مقاومت میکروبی مد نظر نبوده است. انجام آزمایش های میکروبی بر روی نمونه های جمع آوری شده در طی کمتر از ۲ ساعت بعد از زمان نمونه برداری صورت پذیرفت. به منظور افزایش دقت، جداسازی باکتری های مورد مطالعه از هر نمونه، دو بار انجام شد. کشت میکروبی از نمونه های مورد بررسی، بر روی محیط های کشت مک کانکی، EMB، TSI و SIM انجام شد و به دنبال آن

P. aeruginosa PTCC 1430 به عنوان سوش های رفرنس استفاده شدند.

مقدار مقاومت آنتی بیوتیکی با توجه به تفسیر نتایج حاصل از اندازه گیری ناحیه انتشار اطراف هر دیسک که در سه وضعیت مقاوم، حد واسط و حساس تفسیر گردید، با توجه به تعداد نمونه های آنالیز شده برای فاضلاب های بیمارستانی و شهری بر حسب درصد گزارش گردید. محسوس بودن اختلاف آماری بین مقاومت آنتی بیوتیکی در فاضلاب شهری و بیمارستانی با استفاده از تست ناپارامتریک Mann-Whitney مورد بررسی قرار گرفت. مطابق فرض صفر این آزمون، سطح مقاومت آنتی بیوتیکی در فاضلاب بیمارستانی و شهری مساوی در نظر گرفته شد. همه تست ها به صورت دو طرفه انجام و مقدار  $0.05 < p$  شرط مردود بودن فرض صفر آزمون در نظر گرفته شد.

#### یافته ها

الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروجینوزا و اشریشیاکلی ایزوله شده از فاضلاب شهری و بیمارستانی در جدول ۱ نشان داده شده است. از تعداد ۶۰ نمونه فاضلاب شهری، باکتری های سودوموناس آئروجینوزا، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلی به ترتیب از ۲۸، ۳۱ و ۵۵ نمونه جداسازی شدند. همچنین از تعداد ۶۰ نمونه فاضلاب بیمارستانی، باکتری های مذکور به ترتیب از ۳۴، ۴۹ و ۴۹ نمونه جداسازی شدند. میزان درصد مقاومت دارویی

برای باکتری های مورد مطالعه نسبت به هر آنتی بیوتیک در جدول ۱ آورده شده اند. باکتری کلبسیلا پنومونیه در بیش از ۷۰٪ از نمونه های بیمارستانی نسبت به آنتی بیوتیک های NA، CT، CN، SXT، COR و CAZ مقاومت نشان داد. این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک C کمترین مقاومت را در هر دو محیط فاضلاب بیمارستانی (۸/۱۶٪) و شهری (۶/۴۵٪) نشان داد. باکتری سودوموناس آئروجینوزا از تعداد ۳۴ نمونه فاضلاب بیمارستانی جداسازی شد. این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک های NA و CN به ترتیب در ۷۹٪ و ۶۱٫۷۶٪ نمونه ها مقاومت نشان داد. فاضلاب شهری الگوی نسبتاً مشابهی با فاضلاب بیمارستانی داشت اما نسبت به آنتی بیوتیک NA در فاضلاب شهری، مقاومت کمتری در مقایسه با فاضلاب بیمارستانی نشان داد. مطابق جدول ۱ این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک های NA و CN به ترتیب در ۱۰٫۷۱٪ و ۵۳٫۵۷٪ درصد نمونه ها مقاوم بود. باکتری اشریشیا کلی از تعداد ۴۹ نمونه فاضلاب بیمارستانی جداسازی شد. بیشترین میزان مقاومت این باکتری به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های CAZ (۵۱/۲٪)، CN (۴۴/۸۹٪)، GM (۳۴/۶۹٪) و SXT (۳۲/۶۵٪) به ثبت رسید. الگوی نسبتاً مشابهی از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری در فاضلاب بیمارستانی با فاضلاب شهری دیده شد به طوری که میزان مقاومت این باکتری به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های CA، CAZ، GM برابر با ۴۰٪، ۳۰/۹٪ و ۲۳/۶۳٪ تعیین گردید.

جدول ۱: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های جداسازی شده از فاضلاب های شهری و بیمارستانی

درصد مقاومت									آنتی بیوتیک
K. pneumoniae			P. aeruginosa			E. coli			
H	U	p-value	H	U	p-value	H	U	p-value	
48.97	35.48	0.055	8.82	10.71	0.587	34.69	23.63	0.012	GM
<b>81.67</b>	<b>41.93</b>	<b>0.003</b>	<b>79.41</b>	<b>10.7</b>	<b>0.000</b>	<b>28.57</b>	<b>30.9</b>	<b>0.730</b>	NA
73.46	35.48	0.000	7.64	14.28	1.000	20.40	5.45	0.004	CT
<b>71.42</b>	<b>41.93</b>	<b>0.015</b>	<b>61.76</b>	<b>53.57</b>	<b>0.119</b>	<b>44.89</b>	<b>12.72</b>	<b>0.000</b>	CN
91.83	64.51	0.001	26.47	3.57	0.023	32.65	7.27	0.003	SXT
<b>85.71</b>	<b>70.96</b>	<b>0.065</b>	<b>50</b>	<b>10.71</b>	<b>0.001</b>	<b>30.61</b>	<b>5.45</b>	<b>0.005</b>	COR
8.16	6.45	0.175	47.05	10.71	0.000	12.24	3.63	0.104	C
<b>38.77</b>	<b>29.03</b>	<b>0.063</b>	<b>29.41</b>	<b>7.14</b>	<b>0.070</b>	<b>30.61</b>	<b>1.81</b>	<b>0.000</b>	CP
71.42	58.06	0.108	41.17	3.57	0.001	51.02	40	0.064	CAZ

U: فاضلاب شهری H: فاضلاب بیمارستانی

آئروجینوزا نسبت به آنتی بیوتیک SXT برابر با ۴۷،۲۶٪ تعیین شد که نسبت به میزان مقاومت آن (۵۰٪) در مطالعه ای که توسط Oliveria و همکاران در برزیل انجام شده است کمتر می باشد (۲۷).

در این مطالعه درصد مقاومت باکتری اشیشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه به طور کلی بین ۱/۸۱٪ تا ۵۱/۰۲٪ تعیین شد که نسبت به میزان مقاومت باکتری سودوموناس آئروجینوزا ( بین ۳/۵۷٪ تا ۶۱/۷۶٪) و کلبسیلا پنومونیه (بین ۶/۴۵٪ تا ۹۱۳/۸۳٪) کمتر است. نتایج این مطالعه نشان می دهد باکتری کلبسیلا پنومونیه بیشترین مقاومت را در مقایسه با دو باکتری دیگر نسبت به آنتی بیوتیک ها پیدا کرده است. آزمون ناپارامتریک Mann-Withney تفاوت محسوسی بین فاضلاب شهری و بیمارستانی از نظر میزان مقاومت باکتری کلبسیلا پنومونیه نسبت به آنتی بیوتیک های GM، COR، C، CP و CAZ و همچنین باکتری سودوموناس آئروجینوزا نسبت به آنتی بیوتیک های GM، CT، CN و CP نشان نداد ( $p > 0.05$ ). از طرفی بر اساس این آزمون تفاوت محسوسی بین فاضلاب شهری و بیمارستانی از نظر مقاومت باکتری سودوموناس آئروجینوزا نسبت به آنتی بیوتیک های GM، CT، CN، SXT، CRO و NA، CAZ و همچنین باکتری اشیشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک های GM، CT، CN، SXT، CRO و CP مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). این در حالی است که تفاوت محسوسی بین فاضلاب شهری و بیمارستانی از نظر میزان مقاومت باکتری اشیشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک های NA، C و CAZ مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). میزان مقاومت باکتری اشیشیا کلی در مطالعه انجام شده توسط Reinthaler و همکاران (۳۱) برای فاضلاب شهری و بیمارستانی برابر ۱۵٪ گزارش گردید. در مطالعه حاضر میزان مقاومت باکتری اشیشیا کلی نسبت به این آنتی بیوتیک در فاضلاب شهری و بیمارستانی به ترتیب برابر با ۳۰/۹٪ و ۲۸/۵۷٪ تعیین گردید که در مقایسه با مطالعه مذکور بیشتر است. مقاومت باکتری اشیشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک C برای فاضلاب شهری

استفاده از ایندکس MAR (مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی) می تواند پتانسیل قابل توجهی را در تفکیک منبع باکتریایی از نظر بروز مقاومت دارویی فراهم کند (۲۸). در این مطالعه مقدار ایندکس MAR برای باکتری های جداسازی شده به تفکیک از تقسیم کردن تعداد آنتی بیوتیک های که باکتری نسبت به آن مقاومت نشان داده است بر تعداد کل آنتی بیوتیک ها محاسبه گردید. مقادیر MAR برای باکتری های مورد مطالعه به تفکیک فاضلاب های شهری و بیمارستانی در جدول ۲ نشان داده شده اند.

جدول ۲: مقایسه ایندکس MAR برای باکتری های مورد مطالعه به تفکیک فاضلاب های شهری و بیمارستانی

باکتری	ایندکس MAR	
	فاضلاب شهری	فاضلاب بیمارستانی
<i>P. aeruginosa</i>	۰/۰۶	۰/۲۲
<i>K. pneumoniae</i>	۰/۲۲	۰/۲۲
<i>E. coli</i>	۰/۱۳	۰/۲۵

## بحث

مطابق جدول ۱ در بین ۹ آنتی بیوتیک بررسی شده، باکتری کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از فاضلاب بیمارستانی بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های SXT (۹۱/۸٪) و COR (۸۵/۷۱٪) نشان داد. این باکتری الگوی مشابهی در فاضلاب بیمارستانی با فاضلاب شهری داشت به طوری که بیشترین مقاومت آن نسبت به آنتی بیوتیک های SXT و COR و به ترتیب برابر با ۶۴،۵۱٪ و ۷۰،۹۶٪ تعیین گردید. مقایسه الگوی مقاومتی باکتری کلبسیلا پنومونیه نسبت به آنتی بیوتیک های NA، CT، CN و SXT در فاضلاب های شهری و بیمارستانی، از نظر آماری تفاوت قابل قبولی را نشان داد ( $p < 0.05$ ).

باکتری سودوموناس آئروجینوزا در فاضلاب بیمارستانی به ترتیب بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های CT، GM و SXT نشان داد. میزان مقاومت باکتری سودوموناس

و بیمارستانی به ترتیب برابر با ۳،۶۳٪ و ۱۲،۲۴٪ تعیین شد. میزان مقاومت این باکتری در فاضلاب شهری و لجن به ترتیب برابر با ۰٪ و ۸٪ گزارش شده است (۳۱). Misra و همکاران (۲۳) میزان مقاومت این باکتری را برای فاضلاب شهری برابر با ۱٪ و Tamanai و همکاران (۳۴) و همچنین Kremery و همکاران (۱۷) به ترتیب برابر با ۱۷٪ و ۶۰٪ گزارش نموده اند.

فراوانی بروز مقاومت آنتی بیوتیکی بین گونه های مختلف باکتری سودوموناس آئروجینوزا بسته به اینکه باکتری در فاضلاب خانگی یا بیمارستانی باشد متفاوت است به طوری که میزان بروز مقاومت دارویی در فاضلاب های بیمارستانی بیشتر است. به علاوه مکانیزم مقاوم شدن گونه های این باکتری در فاضلاب بیمارستانی متفاوت از شهری می باشد (۳۵). برای مثال مقاومت فلئوئوروکوینولونی که به طور معمول از طریق موتاسیون و تماس با فلئوئوروکوینولون عارض می شود غالب ترین مکانیزم مقاوم شدن باکتری در فاضلاب بیمارستانی است. از طرفی مکانیزم سیستم انتشار (Efflux system) به نظر می رسد مکانیزم غالب ایجاد مقاومت در فاضلاب های شهری باشد (۱۲). در فاضلاب های بیمارستانی به دلیل بالا بودن غلظت آنتی بیوتیک های مختلف، تماس باکتری ها با آنتی بیوتیک ها، به عنوان یک ریسک فاکتور اصلی در انتقال عامل مقاوم فلئوئوروکوینولون مطرح است. از طرف دیگر وجود غلظت بالایی از ترکیبات ضد عفونی کننده از قبیل تریکلوسان و ترکیبات آمونیوم کواترنر که به طور گسترده ای در بیمارستان ها مورد استفاده قرار می گیرند می توانند به عنوان سوبسترای سیستم پمپ انتشاری در باکتری سودوموناس آئروجینوزا، بروز مقاومت در این باکتری را تشدید کنند. این مکانیزم امروزه به عنوان مهم ترین مکانیزم غیر آنزیمی کسب مقاومت در باکتری سودوموناس آئروجینوزا مطرح است (۶).

مقدار ایندکس MAR برای باکتری اشریشیاکلی در فاضلاب شهری و بیمارستانی به ترتیب برابر با ۰/۱۳ و ۰/۲۵ تعیین گردید. این مقادیر را می توان با مقادیر محاسبه شده توسط

parveen و همکاران (۲۸) مقایسه نمود که در آن مطالعه مقدار MAR برای باکتری اشریشیاکلی جدا شده از منابع نقطه ای (مانند بیمارستان ها) و غیر نقطه ای (مانند فاضلاب شهری) به ترتیب برابر با ۰/۲۵ و ۰/۱۳ تعیین گردید. این تفاوت نشان دهنده قابلیت این ایندکس برای مشخص نمودن منبع آلودگی مدفوعی است. مقدار MAR برای باکتری کلبسیلا پنومونیه در فاضلاب شهری و بیمارستانی به ترتیب برابر با ۰/۲۲ و ۰/۵۲ و برای باکتری سودوموناس آئروجینوزا برابر با ۰/۰۶ و ۰/۲۲ تعیین گردید. همان طور که دیده می شود مقدار MAR برای هر سه باکتری در فاضلاب بیمارستانی بیشتر از فاضلاب شهری است. این مساله به احتمال زیاد به دلیل بالاتر بودن غلظت و تنوع آنتی بیوتیک ها در فاضلاب های بیمارستانی در مقایسه با فاضلاب شهری است که منجر به افزایش انتقال عوامل مقاوم بین باکتری ها شده و مقاومت چندانگانه را تسریع می کند (۲۸). بیشتر بودن مقدار ایندکس MAR در این مطالعه در فاضلاب بیمارستانی در مقایسه با فاضلاب شهری (جدول ۲) با نتایج سایر مطالعات مانند مطالعه انجام شده توسط Olayemi و همکاران (۲۶) هم خوانی دارد. مقاومت چند گانه آنتی بیوتیکی به عنوان یکی از عوامل تهدید کننده سلامت مطرح بوده و حضور ارگانیزم های مقاوم در محیط های آبی به ویژه فاضلاب و انتقال عوامل مقاوم ساز بین آنها می تواند سلامت انسان را به دلیل بی اثر شدن عملکرد درمان های آنتی بیوتیکی تهدید نماید.

در برخی از مطالعات به بالاتر بودن میزان مقاومت دارویی باکتری اشریشیاکلی در فاضلاب بیمارستانی در مقایسه با فاضلاب شهری اشاره شده است (۳۱) که نتایج این مطالعه نیز تاییدکننده مطالعات قبل است. Feuerpfeil و همکاران دلیل بالاتر بودن مقاومت این باکتری در فاضلاب بیمارستانی در مقایسه با فاضلاب شهری را بالا بودن غلظت آنتی بیوتیک ها در فاضلاب بیمارستانی و در نتیجه افزایش شانس تماس باکتری ها با آنتی بیوتیک ها و گونه های مقاوم می دانند که این مساله باعث افزایش انتقال افقی ژن های مقاوم بین باکتری ها خواهد شد (۸).

## نتیجه گیری

به طور کلی به دلیل تفاوت های بسیاری که از نظر مکان و زمان بررسی و همچنین گوناگون بودن آنتی بیوتیک های مختلف که در مطالعات متعدد مورد بررسی قرار می گیرند و همچنین متفاوت بودن محتوای آنتی بیوتیکی فاضلاب ها، نمی توان به آسانی نتایج این مطالعه را با سایر مطالعات مقایسه نمود. با در نظر گرفتن تمامی محدودیت هایی که در بررسی و مقایسه نتایج وجود دارد به آسانی می توان این نتیجه گیری را نمود که دسترسی آسان به آنتی بیوتیک های مختلف از طریق داروخانه ها و بعضا منابع غیر مجاز امکان استفاده کنترل شده این داروها را عملا غیر ممکن نموده و از طرفی به دلیل نبودن نظارت مناسب بر استفاده آنها طیف وسیعی از آنتی بیوتیک های مختلف مورد استفاده قرار می گیرد که نهایتا به فاضلاب ها راه یافته و با توجه به مساله بروز مقاومت آنتی بیوتیکی از توانایی این داروها در درمان عفونت های باکتریایی کاسته خواهد شد. از این رو توسعه راهکارهای کنترلی از قبیل تصفیه مجزای فاضلاب های بیمارستانی و شهری و در ضمن آن نظارت بر استفاده از این داروها و اصلاح فرهنگ مصرف دارو، می تواند در کاهش گونه های باکتریایی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها و به مراتب بروز مشکلات در درمان عفونت های باکتریایی موثر باشد. در واقع فقدان سیستم های مناسب برای تصفیه فاضلاب های بیمارستانی می تواند باعث افزایش گونه های باکتریایی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها در محیط های آبی

گردد. از اینرو ضروری است که فاضلاب های بیمارستانی را با استفاده از راهکارهای موثر مورد تصفیه و ضد عفونی قرار داد. از این راه کارها می توان به استفاده از کلرین ( ۲ تا ۳ لوگ کاهش باکتری ها با غلظت ۳۰ mg/L کلرین)، ازن ( ۳ تا ۴ لوگ کاهش باکتری ها با غلظت ۱۰۰ mg/L) و یا نور فرابنفش اشاره کرد که مورد آخر در مقایسه با کلرین و ازن یک راه کار گران قیمت و البته موثر است.

دفع کنترل نشده فاضلاب های شهری و تا حدودی بیمارستانی در شهرهای مختلف ایران به آب های پذیرنده که به عنوان منابع آب آشامیدنی حیوانات و یا منابع آب کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرند، عامل مهمی است که بر تداوم انتشار گونه های باکتریایی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها در بین جمعیت های انسانی و حیوانات دامن می زند. لذا با توجه به این مهم ضروری است که از دفع کنترل نشده این قبیل فاضلاب ها و خصوصا فاضلاب های بیمارستانی به آب های پذیرنده جلوگیری شود و با احداث سیستم های تصفیه کاملا مجهز و کاملا مجزا این فاضلاب ها را مورد تصفیه قرار داد تا از این طریق چرخه انتقال عوامل مقاوم ساز از گونه های مقاوم به گونه های باکتریایی حساس متوقف گردد. با تمام این تفاسیر به دلیل پیچیدگی عوامل موثر بر بروز مقاومت دارویی در محیط های آبی انجام تحقیقات مکرر در این حیطه توصیه می شود.

## منابع

1. Aarestrup FM. Association Between the consumption of antimicrobial agents in animals husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1999;12(4):279-85.
2. Baquero F, Martinez JL, Canton R. Antibiotic and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol*. 2008;19:260-65.
3. Barbeau J, Gauthier C, Payment P. Biofilms, infectious agents and dental unit waterlines: a review. *Can J Microbiol*. 1998;44:1019-28.
4. Barberio C, Pagliai L, Cavalieri D, Fani R. Biodiversity and horizontal gene transfer in culturable bacteria isolated from activated sludge enriched in nonylphenol ethoxylates. *Research in Microbiology*. 2001;152(1):105-12.
5. Bryan C, Reynolds KL, Brenner ER. Analysis of 1186 episodes of gram-negative bacteremia in non-university hospitals: the effects of antimicrobial therapy. *Rev Infect Dis*. 1983;5:629-38.
6. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:1379-82.
7. Domenico P, Johanson WG, Straus DC. Lobar pneumonia in rats produced by clinical isolates of *Clebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*. 1982;37:327-35.
8. Feuerpfeil I, Lopez-Pila J, Schmidt R, Schneider E, Szewzyk R. Antibiotic resistant bacteria and antibiotics in the environment (Antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotika in der Umwelt). *Bundesgesundheitsbl*. 1999;42:37-50.
9. Gallert C, Fund K, Winter J. Antibiotic resistance of bacteria in raw and biologically treated sewage and in groundwater below leaking sewers. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2005;69:106-12.
10. Goñi-Urriza M, Capdepuy M, Arpin C, Raymond N, Caumette P, Quentin C. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66(1):125-32.
11. Guardabassi L, Lo Fo Wong DMA, Dalsgaard A. The effects of tertiary wastewater treatment on the prevalence of antimicrobial resistant bacteria. *Water Research*. 2002;36(8):1955-64.
12. Hansen GT, Zhao X, Drlica K, Blondeau JM. Mutant prevention concentration for ciprofloxacin and levofloxacin with *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents*. 2006;27:120-24.
13. Hassani L, Rafouk L, Alla AA. Antibiotic resistance among faecal coliform bacteria isolated from wastewater before and after treatment by an experimental sand filter. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1999;15:317-19.
14. Iversen A, Kühn I, Franklin A, Möllby R. High prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Swedish sewage. *Environmental Microbiology*. 2002;68(6):2838-42.
15. Jung R, Fish DN, Orbitsch MD, Maclaren R. Surveillance of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an urban tertiary-care teaching hospital. *J Hosp Infect*. 2004;57:105-11.
16. Khachatourians GG. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Canadian Medical Association Journal*. 1998;159(9):1129-36.
17. Kremery V, Bajizukova A, Langsadt L, Kotuliakova M, Sobotova O. Evaluation of the resistance of *Enterobacteriaceae* strains to antibiotics-comparison of strains from clinical material versus environment. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1989;33(3):299-304.
18. Kruse H, Sorum H. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied and Environmental Microbiology*. 1994;60(11):4015-21.
19. Leclerc H, Mossel DA, Edberg SC, Struijk CB. Advances in the bacteriology of the coliform group: Their suitability as markers of microbial water safety. *Annu Rev Microbiol*. 2001;55:201-34.
20. Macauley JJ, Quiang Z, Adams CD, Surampalli R, Mormile MR. Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone. *Water Res*. 2006;40:2017-26.
21. Martinez JL. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*. 2008;321:365-67.

22. Mirzaee M, Pourmand MR, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to CTX-M-Type extended-spectrum B-Lactamases in clinical isolates of Escherichia coli. Iranian J Publ Health. 2009;38(1):10-17.
23. Misra DS, Kumar A, Singh IP. Antibiotic resistance and transfer factor (R+) in E. coli isolated from raw sewage. Indian J Med Res. 1979;70:559-62.
24. NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A5. USA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2000 [cited 2011 Jun 12]. Available from: <http://www.clsi.org/source/orders/free/m07-a8.pdf>.
25. Nikkhah J, Mehr-Movahead A. Antibiotic resistance of Shigella species in Iran. Iranian J Publ Health. 1987;16(1-4):111-16.
26. Olayemi AB, Opaleye FI. Antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from hospital and urban wastewaters. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 1990;6:285-88.
27. Oliveira ACD, Maluta RP, Stella AE, Rigobelo EC, Marin JM, De Ávila FA. Isolation of Pseudomonas aeruginosa strains from dental office environments and units in Barretos, state of São Paulo, Brazil, and analysis of their susceptibility to antimicrobial drugs. Braz J Microbiol. 2008;39(3):579-84.
28. Parveen S, Murphree R, Edmiston L, Kaspar C, Portier K, Tamplin M. Association of multiple-antibiotic-resistance profiles with point and nonpoint sources of Escherichia coli in Apalachicola Bay. Appl Environ Microbiol. 1997;63:2607-12.
29. Pathak SP, Bhattacharjee JW, Ray PK. Seasonal variation in survival and antibiotic resistance among various bacterial populations in a tropical river. Journal of General and Applied Microbiology. 1993;39(3):47-56.
30. Podschunm R, Ullmann U. Klebsiella ssp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 1998;11:589-603.
31. Reinthaler FF, Posch J, Feierl G, Ust GW, Haas D, Ruckebauer G, et al. Antibiotic resistance of E. Coli in sewage and sludge. Water Research. 2003;37:1685-90.
32. Selvaratnam S, Kunberger JD. Increased frequency of drug-resistant bacteria and fecal coliforms in an Indiana Creek adjacent to farmland amended with treated sludge. Canadian Journal of Microbiology. 2004;50(8):653-56.
33. Talebi M, Rahimi F, Katouli M, Kuhn I, Mollby R, Eshraghi S, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococcal species in sewage treatment plants in Iran. Water Air Soil Pollut. 2007;185:111-19.
34. Tamanai-Shacoori Z, Arturo M, Pommepuy M, Mamez C, Cormier M. Conjugal transfer of natural plasmids between E. Coli strains in sterile environmental water. Curr Microbiol. 1995;30:155-60.
35. Tumeo E, Gbaguidi-Haore H, Patry I, Bertrand X, Thouverez M, Talon D. Are antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalised patients recovered in the hospital effluents? Int J Hyg Environ Health. 2008;211:200-204.
36. Vilanova X, Manero A, Cerdà-Cuellar M, Blanch AR. The composition and persistence of Faecal coliforms and enterococcal populations in sewage Treatment plants. Journal of Applied Microbiology. 2004;96(2):279-88.
37. Watkinson AJ, Micalizzi GB, Graham GM, Bates JB, Costanzo SD. Antibiotic-Resistant Escherichia coli in wastewaters, surface waters, and oysters from an urban riverine system. Applied and Environmental Microbiology. 2007;37(17):5667-70.
38. White DG, Zhao S, Simjee S. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. Microbes Infect. 2002;4:405-12.

## **Antibiotic Resistance of Isolated Bacteria from Urban and Hospital Wastewaters in Hamadan City**

**\*Hadi M. <sup>1</sup>, Shokoohi R. <sup>2</sup>, Ebrahimzadeh Namvar A.M. <sup>2</sup>, Karimi M. <sup>2</sup>, Solaimany Aminabad M. <sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Center for Health Research, Faculty of Health, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Kurdistan, Iran

<sup>2</sup>Environmental Health Research Center, School of Public Health, Center for Health Research, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Received; 26 September 2010 Accepted; 22 January 2010

### **ABSTRACT**

**Background and Objectives:** widely use of antibiotics as therapy and uncontrolled discharge of them to receiving waters increased the percentages of antibiotic resistant bacteria in various environments which may cause problems in therapy. The aim of this study was to investigate the antibiotic resistance of *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* bacteria isolated from urban and hospital wastewaters. Nine antibiotics namely Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Trimethoprim Sulfamethoxazol, Gentamycin, Ceftizoxime, Nalidixic Acid, Ceftazidime, Ceftriaxon and Cefalexin were investigated in this study.

**Materials and Methods:** through a cross-sectional descriptive study the isolation of bacteria from hospital and urban wastewater samples was performed by microbiological identification techniques. The resistance to nine antibiotics was tested by application of the standard disc diffusion technique and zone-size interpretation chart of Kirby-Bauer. Non-parametric Mann-Whitney test was used to assessing two environments differences.

**Results:** The resistance percentage of *E. coli* to studied antibiotics was significantly less (ranged from 1.81 to 51.02%) than the resistance percentage of *P. aeruginosa* (ranged from 3.57 to 61.76) and *K. pneumoniae* (ranged from 6.45 to 91.83%). the highest resistance to antibiotics studied was for *K. pneumoniae* in comparison with others. *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* bacteria showed the highest resistance to CAZ, SXT and CN, respectively. The study showed the resistance rate in hospital wastewater is more than urban wastewater.

**Conclusion:** Easy access and uncontrolled usage of antibiotics cause discharge of antibiotics to wastewaters and consequently diminish the drugs' effectiveness. High concentration of antibiotic and diversity in wastewater of hospital in comparison with urban wastewater causes to transfer resistant agents between bacteria and increased the multiple resistances.

**Key words:** Antibiotic Resistance, Urban wastewater, Hospital wastewater

---

**\*Corresponding Author:** *hadi\_rfm@yahoo.com*

**Tel:** +98 9189061738 **Fax:** +98 871 662 69 69