

وزارت نیرو
شرکت آب و فاضلاب استان مرکزی

بررسی تغییرات جمعیت سودوموناس ها در شبکه شهر اراک

معاونت بهره برداری
آزمایشگاه مرکزی آب
سالومه کلاتتری - ونوس سلطانی

مقدمه :

شهر اراک مرکز استان مرکزی است که با وسعتی معادل ۶۱۴۷ کیلومتر مربع ، ۲۰ درصد از مساحت استان را دارا می باشد . این شهر تا سال ۱۳۴۹ یکی از قطب های کشاورزی ایران محسوب می شد ولی از سال ۱۳۵۰ به بعد به دلیل رشد جمعیت به یکی از قطب های صنعتی کشور تبدیل گردید . شهر اراک با توجه به مقدار متوسط سالیانه ۳۴۳ میلیمتری و متوسط دمای سالانه ۱۳/۵ درجه سانتیگراد بر اساس طبقه بندی دومارتین اقلیم نیمه خشک دارد . جمعیت تحت پوشش آب و فاضلاب اراک در سال ۱۳۸۲ معادل ۴۷۲۰۰۰ نفر است و تعداد منابع در مدار بهره برداری ۵۴ حلقه می باشد.

طول کل شبکه ۹۵۰ کیلومتر است که ۳۸۰ کیلومتر آن از لوله های آزیست می باشد و بنا براین با فرض اینکه چگالی توزیع جمعیت در این شهر یکسان باشد ، ۱۹۵ هزار نفر از لوله های آزیست تأمین آب می شوند . کل شبکه پلی اتیلنی ۲۵۰ کیلومتر و جمعیت تحت پوشش آن حدود ۱۰۰ هزار نفر می باشد .

سود و موناس :

جنس سودوموناس شامل بیش از ۲۹ گونه است . سودوموناس ها باکتری های میله ای گرم منفی هستند که ممکن است به دلیل فلاژله های قطبی متحرک باشند . اسپور تولید نمی کنند و متابولیسم آنها در محیط های متفاوت هوازی و در دمای مناسب سریع است . این ارگانیسیم ها اغلب قادر به تخمیر گلوکز نمی باشند . بیشتر آنها فلورسنت هستند و پیگمنت های محلول در آب (زرد ، سبز و قرمز) تولید می کنند ، در حالیکه برخی استرنیهای دیگر دارای پیگمان های غیر فلورسنت آبی محلول در آب می باشند . گسترش این پیگمنت ها بواسطه فاکتورهای غذایی، انتخاب محیط کشت و دمای انکوباسیون بین ۴۲-۲۰ درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار می گیرند .

توانایی سودوموناس آئروژینوزا برای تشکیل سریع کلونی در هر محیطی و از جمله انسان حساس ، سبب شده است که این ارگانیسیم از مهمترین پاتوژنهای فرصت طلب به شمار رود . عفونت با این باکتری معمولاً مرتبط با بیماران بستری شده در بیمارستان است ، که بصورت یک عفونت ثانویه بروز می کند . نوزادان ، افراد خاصی که سیستم ایمنی آنها مهار شده است و افراد مسن بدلیل کاهش موانع طبیعی مستعد عفونت با این باکتری هستند .

سودوموناس ها باکتری هایی هستند که قادرند در پهنه وسیعی از محیط ها رشد کرده و در واقع همه جایی اند . در آبهای سطحی ، آبهای بطری شده ، آب مقطر ، آب دریا ، خاک و وجود دارند . راه گسترش و انتشار سودوموناس بواسطه حضورش در غذا یا آب ، تماس بدن با آب آلوده به این باکتری در حمام یا تماس شخص به شخص در بیمارستانها می باشد .

حدود ۱۹-۳ درصد از موارد سودوموناس در ناحیه روده انسان کلونیزه می شود که البته این درصد ندرتاً در انسانهای بالغ و سالم مشاهده می گردد .

دانشیه سودوموناس آئروژینوزا در آبهای سطحی که به فاضلاب یا پسابهای جاری آغشته اند بین 10^4 - 10^6 سلول در 100 ml می باشد که البته بواسطه مواد غذایی مناسب و دمای نرمال آب تحت تأثیر قرار می گیرند . بقای

سودوموناس با دانسیته پایین در آبهای بطری شده و آب مقطر ممکن است برای چندین ماه ادامه پیدا کند که می تواند بدلیل توانایی باکتری به متابولیسم کند و زندگی در میزان کم منابع کربن و نیتروژن در آبهای تولید شده باشد. آبهای زیر زمینی بواسطه نشت فاضلاب آلوده شده و عدم فیلتراسیون آبهای سطحی باعث گسترش این عامل می گردد.

خوردگی تحت اثر عوامل میکربی :

تحت اثر این فرآیند فلزات فرسایش می یابند و به همان نسبت نیز غیر فلزات درگیرند. این پروسه بواسطه میکروارگانسیم هایی که به سطوح چسبیده و اصطلاحاً بیوفیلم نامیده می شوند، ایجاد می گردد. اگر خوردگی تحت تأثیر میکروارگانسیم ها باشد نیازمندیهایی از جمله منابع انرژی، کربن، یک دهنده و یک گیرنده الکترون و آب باید فراهم باشد. باکتری ها برای این فرآیند به آب احتیاج دارند و قادر به تکثیر نبوده مگر اینکه **water activity** بالاتر از ۰/۹ باشد. دهنده الکترون نیز از نیازمندی های رشدی است که اکسید می گردد و نیز یک گیرنده الکترون که احیا می شود.

نیاز رشدی دیگر منبع انرژی است. مهمترین منبع انرژی خورشید است که البته در مورد پروسه فوق سیستم های انتقال آب چنین چیزی امکان پذیر نیست. بنابراین انرژی از طریق واکنش های شیمیایی بدست می آید. دما نیز از فاکتورهای مهمی است که رشد میکروارگانسیم ها را تحت تأثیر قرار می دهد. در زیر دمای حداقل، رشد میکروبی امکان پذیر نبوده و در دمای اپتیمم سریعترین رشد اتفاق خواهد افتاد و نیز از دمای ماکزیمم به بعد رشد نخواهیم داشت. باکتریهای درگیر در خوردگی در سیستمهای توزیع آب اکثراً از دسته باکتریهای مزوفیل و ساکروفیل می باشند.

میکرو ارگانسیمهای درگیر پروسه های MIC فلزاتی نظیر آهن، مس، و آلومینیوم را تحت تأثیر خود قرار میدهند و از نظر فیزیولوژیک متفاوتند. باکتریهای درگیر در خوردگی فلزات اغلب براساس نیازمندیهای متابولیکی برای سوبستراهای متفاوت تنفسی یا گیرنده های الکترونی گروه بندی می گردند. باکتریهای دخیل در این فرآیند به چند دسته کلی تقسیم می گردند که شامل باکتریهای احیا کننده سولفات، باکتریهای احیا کننده فلزات، باکتریهای ذخیره کننده فلزات و باکتریهای تولید کننده اسید می باشند.

نقش سودوموناس در فرآیند خوردگی :

سودوموناس از جمله میکرو ارگانسیمهایی است که می تواند در این فرآیند مورد بحث قرار گیرد. سودوموناس یک سری پلی ساکاریدهای خارج سلولی تولید می کند و بواسطه این محصولات در برابر کلرو پر اکسید هیدروژن محافظت می گردد. برخی از این پلی ساکاریدهای تولید شده خاصیت اسیدی دارند همانند **alginate acid** که منجر به فرآیند خوردگی خواهند شد. سودوموناس بر روی فلزات اثر کرده و باعث خوردگی سطوح آنها می گردد که عمده‌تاً بواسطه تولید اسید و یا ذخیره کردن فلزات در درون خود این کار را انجام می دهد ولی به همان نسبت نیز قادر است بر روی غیر فلزات مؤثر واقع شود.

در اینجا نقش سودوموناس در فرآیند خوردگی لوله های توزیع آب بررسی شده است تا بتوان با جداسازی سودوموناس از این مناطق رابطه ای بین خاصیت خوردگی این باکتری و تأثیر عوامل متفاوت بر روی آن بدست آورد .

روش تحقیق :

(۱) محل و زمان نمونه برداری : با توجه به نقشه های موجود و جنس شبکه ها که شامل آبست ، پلی اتیلن و گالوانیزه می باشد و نیز نقاط کور شبکه ها نمونه برداری انجام شد . نمونه برداری در تاریخ ۸۲/۲/۱۵ آغاز گردید و در تاریخ ۸۲/۸/۱۵ پایان یافت ، در واقع در یک دوره ۶ ماهه این طرح انجام پذیرفت . ۲۱۵ نمونه تست گردید که از این میان ۱۵۰ مورد از لوله های آبست ، ۳۵ نمونه از لوله های پلی اتیلن و ۳۰ نمونه از لوله های گالوانیزه می باشد . /

(۲) مواد و معرفهای مورد نیاز : محیطهای کشت *Asparagine broth* و *Acetamid broth* ساخت شرکت *biomark* و نیز *lactose broth* ، *BGB broth* ، *EC broth* ساخت شرکت *Merck* ، *R2A agar* ساخت شرکت *Quelab* استفاده شدند . همچنین گلسیرین ، معرفهای مربوط به آزمایشات نیترات ، نیتريت و سختی نیز بکار برده شد .

(۳) روش کار : نمونه برداری مطابق با روشهای نمونه برداری میکروبی و از محل های مشخص انجام گرفت . محیط های کشت مورد استفاده با توجه به روش آماده سازی هر یک تهیه گردید . تکنیک استفاده شده *Multiple tube* می باشد ، بنابراین محیط های آسپاراژین برات و استامیدبرات در دو رقت دوپل و نرمال تهیه گردید . روش آزمایش بکار رفته ۱۵ لوله ای می باشد . برای هر نمونه مورد نظر آزمایشات احتمالی و تأییدی تشخیص سودوموناس آئروژینوزا به همراه تشخیص کلیفرم ، شمارش باکتریهای هتروتروف ، اندازه گیری میزان کلر باقیمانده ، کدورت ، PH ، هدایت ، نیترات و نیتريت انجام گرفت . برای آزمایش احتمالی تشخیص سودوموناس طبق دستور العمل *standard method* از محیط آسپاراژین برات استفاده گردید . بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتیگراد ، لوله ها از نظر احتمال وجود سودوموناس بواسطه لامپ *uv* و در اتاق تاریک بررسی گردیدند تا وجود پیگمنت های فلورسنت در محیط کشت تأیید گردد . از لوله های مثبت به منظور تأیید حضور سودوموناس آئروژینوزا به محیط استامید برات انتقال یافتند و انکوباسیون برای ۳۶-۲۴ ساعت و در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتیگراد انجام گردید . بعد از این مدت لوله های حاوی محیط کشت از نظر تشکیل رنگ ارغوانی و تأیید حضور باکتری فوق بررسی گردیدند . علاوه بر محیط استامید برات میتوان از محیط کشت *cetrimide agar* بمنظور تأیید وجود سودوموناس آئروژینوزا استفاده نمود . بدین منظور نمونه های مثبت محله احتمالی بر روی پلیت های حاوی محیط فوق به روش ایزوله کشت یافتند . انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه انجام گرفت ، کلونیهای سودوموناس آئروژینوزا به آسانی قابل تشخیص اند .

برای شمارش باکتریهای هترو تروف از محیط کشت **R₂ Agar** با روش **Pour Plate** و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت صورت گرفت . کدورت هر یک از نمونه ها نیز با کمک دستگاه کدورت سنج **HACH** اندازه گیری گردید .

نتایج بدست آمده در جدول شماره (۱) گردآوری شده است .

ارائه نتایج ، جداول و نمودارها :

- همانطور که در جدول (۱) مشاهده می شود از میان ۱۵۰ نمونه مناطقی که لوله آزیست داشته اند ۹۳ مورد و یا به عبارتی ۶۲ درصد در تست تأییدی سودوموناس آئروژینوزا مثبت بوده اند . واز ۳۵ نمونه که مربوط به مناطق پلی اتیلنی می باشد ، در ۱۹ مورد وجود باکتری فوق تأیید گردیده است، بدین ترتیب ۵۴/۳ درصد از نمونه های برداشت شده لوله های پلی اتیلنی دارای سودوموناس آئروژینوزا بوده اند از میان ۳۰ نمونه مربوط به شبکه های گالوانیزه ۲۲ مورد مثبت به سود و موناس جدا گردید.(۷۳/۳ درصد).
- در تمام موارد نمونه برداری شده آلودگی کلیفرمی مشاهده نگردید و فقط ۵ مورد از نمونه ها در مرحله احتمالی دارای MPN بوده اند .
- از میان تمام نمونه های برداشت شده که کلرباقیمانده صفر ، ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم در لیتر داشتند، تمامی نمونه ها در تست سود و موناس مثبت بوده اند . درصد فراوانی نمونه های مثبت در تست سود و موناس در کلرباقیمانده ۰/۳ ، ۰/۴ ، ۰/۵ ، ۰/۷ و ۰/۸ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۶۰ ، ۸۷/۸ ، ۷۴/۱ ، ۲۷/۳ و ۱۳/۳ درصد می باشد و در کلر ۰/۶ و ۰/۹ میلی گرم نمونه مثبتی مشاهده نگردید .
- از آن جایی که این امکان وجود داشت که سود و موناس بواسطه آلودگی ثانویه و از طریق شکستگی لوله های انتقال آب وارد سیستم توزیع آب گردد ، مناطقی که از آنها در همان روز و یا ۲ تا ۳ روز قبل از نمونه برداری شکستگی گزارش گردید ، از لیست نتایج جهت تحلیل حذف گردید .

بحث و تفسیر نتایج :

- بیشترین درصد جداسازی سودوموناس از لوله های گالوانیزه بوده است و لوله های آزبست در مقام بعدی قرار داشتند و در نهایت لوله های پلی اتیلنی قرار دارند که تقریباً نیمی از نمونه های گرفته شده در این مناطق مثبت شده اند .
- با توجه به اینکه آلودگی کلیفرمی مشاهده نگردید نمی توان رابطه مستقیمی بین جدا سازی سودوموناس و وجود کلیفرم بدست آورد .
- با مقایسه میزان کلر باقیمانده و نمونه های مثبت در تست تأییدی مشخص گردید که بیشترین موارد مثبت در کلر صفر ، ۰/۱ و ۰/۲ می باشد هرچند که در میزان کلر ۰/۳ ، ۰/۴ و ۰/۵ نیز درصد فراوانی موارد مثبت ، بالاست . و با افزایش کلر این درصد کاهش می یابد .
- ارتباطی میان دما ، هدایت ، سختی ، نیترات ، نیتريت و HPC با وجود سودوموناس یافت نگردید.
- ارتباط مستقیمی میان کدورت و تأیید سودوموناس مشاهده نگردید بطوریکه تنها در ۱۳/۳ درصد از موارد مثبت سودوموناس کدورت بالای ۱ بوده است .

پیشنهادات :

با توجه به نتایج حاصل شده از نظر منفی بودن تست ها در کلر بالا ، پیشنهاد می‌گردد بمنظور حذف سودوموناس از شبکه و متعاقب آن کاهش اثرات ناشی از آن چه از نظر پاتوژنتر و چه از نظر تأثیر در فرآیند خوردگی کلر باقیمانده در میزان بالاتر از 0.5 mg/ml کنترل گردد .

بنام خدا

عنوان تحقیق: بررسی تغییرات جمعیت سودوموناس ها در شبکه اراک

تهیه و تنظیم: سالومه کلاتتری - ونوس سلطانی

واژه های کلیدی: بیوفیلم، خوردگی بیولوژیک، سودوموناس آئروژینوزا

مقدمه: سودوموناس ها باکتری های میله ای گرم منفی می باشند که متحرک بوده و اغلب آنها فلورسنت بوده و پیگمنت های محلول در آب تولید می کنند.

توانایی سودوموناس آئروژینوزا برای تشکیل سریع کلونی در هر محیطی و از جمله انسان حساس، سبب شده است که این ارگانیسم از مهمترین پاتوژنهای فرصت طلب به شمار رود. دانسیته سودوموناس آئروژینوزا در آبهای سطحی که به فاضلاب یا پسابهای جاری آغشته اند بین $10^4 - 10^6$ سلول در 100 mL می باشد که بواسطه مواد غذایی مناسب و دمای آب تحت تأثیر قرار می گیرند.

سودوموناس از جمله میکرو ارگانیسمهایی است که می تواند در فرآیند خوردگی مورد بحث قرار گیرد، که قادر به فرسایش فلزات و غیر فلزات است.

این باکتری یک سری پلی ساکاریدهای خارج سلولی تولید می کند و بواسطه آن در برابر کلر و نیز پراکسید هیدروژن محافظت می گردد. برخی از این پلی ساکاریدها نظیر آلژینک اسید منجر به فرآیند خوردگی می گردند. در این تحقیق سعی شده است تا با توجه به نقش سودوموناس در فرآیند خوردگی لوله های آب رابطه ای بین خاصیت خوردگی این باکتری و عوامل متفاوت موثر بر آن بدست آوریم.

روش کار:

این بررسی در یک دوره ۶ ماهه انجام پذیرفت، نمونه برداری از لوله های آبست، پلی اتیلن و گالوانیزه صورت گرفت.

برای مراحل احتمالی و تأییدی سودوموناس آئروژینوزا از محیط های **Asparagine** و **Acetamid broth** به روش ۱۵ لوله ای استفاده گردید. مدت انکوباسیون ۳۶-۲۴ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتیگراد بود. مرحله احتمالی بواسطه لامپ **uv** و ایجاد فلوروسنت بررسی گردید و مرحله بعد با مشاهده رنگ ارغوانی

تأیید شد . تشخیص کلیفرمها ، شمارش Hpc ، اندازه گیری کلر باقیمانده ، کدورت ، نیترات ، نیتريت ، سختی و هدایت به موازات آزمایشات صورت گرفت .

نتایج : از ۲۱۵ نمونه تست شده ، ۱۳۴ نمونه یعنی حدود ۵۳/۶ درصد از نمونه ها دارای سودوموناس آئروژینوزا بودند . در واقع می توان گفت از ۶۲ درصد از نمونه های مربوط به لوله های آزبست در تست تأییدی مثبت بودند که این میزان در لوله های پلی اتیلنی ۵۴/۳درصد و در نمونه های مربوط به شبکه های گالوانیزه به ۷۳/۳ درصد می رسد . تمامی نمونه های برداشت شده که کلر صفر ۰/۱ و ۰/۲ داشته اند مثبت بودند و به ترتیب این مقدار در کلر ۰/۳ ، ۰/۴ ، ۰/۵ ، ۰/۷ ، ۰/۸ ، کاهش می یابد تا جایی که در کلر ۰/۶ و ۰/۹ نمونه مثبتی یافت نشد . این نکته را نیز باید متذکر شد که در تمامی موارد آلودگی کلیفرمی وجود نداشت . و نیز تنها در ۱۳/۳ درصد از موارد مثبت به سود و موناس کدورت بالای ۱ بوده است .

بحث ، تفسیر و پیشنهاد :

بیشترین درصد جداسازی سودوموناس آئروژینوزا در لوله های گالوانیزه بوده است و سپس آزبست و در نهایت لوله های پلی اتیلنی . و از آنجایی که این باکتری در کلر پایین بیشتر جدا شده است می توان با افزایش میزان کلر باقیمانده و کنترل آن از صدمات ناشی از سودوموناس آئروژینوزا چه پاتورنز و چه خوردگی در لوله های توزیع آب جلوگیری نمود .

ارتباطی میان دما ، هدایت ، سختی ، نیترات ، نیتريت ، کدورت و Hpc با وجود سودوموناس یافت نگردید .