

ارزیابی کیفیت میکروبی منابع آبی مختلف با استفاده از روش سنجش آنژیمی در مقایسه با روش متداول تخمیر چند لوله‌ای

مریم حاتمزاده^۱، بی‌بی فاطمه نبوی^۲، مهناز نیک‌آئین^۳، اکبر حسن‌زاده^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پایش میکروبی منابع آبی به منظور اجرای مدیریت صحیح این منابع حیاتی، ضروری می‌باشد. روش معمول برای پایش میکروبی منابع آبی، ردیابی میکروارگانیسم‌های شاخص توسط روش متداول تخمیر چند لوله‌ای است، اما امروزه روش سنجش آنژیمی به عنوان رویکرد جانشین، توسعه یافته است. هدف از انجام مطالعه حاضر، مقایسه روش سنجش آنژیمی با روش متداول تخمیر چند لوله‌ای، برای شمارش کلی فرم‌های کل و مدفعوعی در آب‌های آشامیدنی و غیر آشامیدنی بود.

روش‌ها: در این تحقیق، ۶۰ نمونه از منابع آبی مختلف (شرب، چشم، چاه و قنات و پساب) برداشت گردید. ردیابی کلی فرم‌های کل و مدفعوعی (اشرشیا کلی) در نمونه‌های فوق توسط روش متداول تخمیر چند لوله‌ای و روش سنجش آنژیمی و با استفاده از محیط کشت LMX Broth، انجام گرفت. جهت بررسی میزان ارتباط پارامترهای اندازه‌گیری شده توسط دو روش، از آزمون همبستگی Pearson استفاده شد. همچنین، میزان حساسیت، ویژگی و صحت روش سنجش آنژیمی برآورد گردید.

یافته‌ها: یافته‌ها ارتباط بالایی را بین اندازه‌گیری کلی فرم کل و مدفعوعی از طریق هر دو روش سنجش آنژیمی و تخمیر چند لوله‌ای نشان داد. در کل، روش سنجش آنژیمی از حساسیت، ویژگی و دقیقی به ترتیب حدود ۹۲، ۹۵ و ۹۴ درصد برخوردار بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به مزایای روش سنجش آنژیمی از قبیل سرعت، حساسیت و دقت به نسبت بالا و ردیابی همزمان کلی فرم‌های کل و اشرشیاکلی، می‌توان روش سنجش آنژیمی با استفاده از LMX را به عنوان روش جایگزینی جهت روش تخمیر چند لوله‌ای به کار برد.

واژه‌های کلیدی: سنجش آنژیمی، تخمیر چند لوله‌ای، کیفیت میکروبی، منابع آبی، LMX

ارجاع: حاتمزاده مریم، نبوی بی‌بی فاطمه، نیک‌آئین مهناز، حسن‌زاده اکبر. ارزیابی کیفیت میکروبی منابع آبی مختلف با استفاده از روش سنجش آنژیمی در مقایسه با روش متداول تخمیر چند لوله‌ای. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۵، ۱۲ (۱): ۸۹-۸۴.

پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۵/۵

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۲۳

مقدمه

کیفیت میکروبی آب، نقش بسیار مهمی در حفظ سلامت عموم مردم دارد. بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها، معمول‌ترین و شایع‌ترین خطر سلامتی مرتبط با آب آشامیدنی می‌باشد. بنابراین، پایش و کنترل میکروبی آب جهت مدیریت خوب این منبع حیاتی ضروری است. باکتری‌های کلیفرم کل و مدفعوعی از میکروارگانیسم‌های شاخص تعیین کیفیت آب‌های آشامیدنی، سطحی، دریابی و تقریبی محسوب می‌شوند (۱). در این میان، اشرشیا کلی به عنوان مطمئن‌ترین شاخص تأیید وجود آسودگی مدفعوعی می‌باشد و بر خطر وجود بیماری‌های روده‌ای دلالت می‌کند (۲، ۳).

روش‌های متداول ردیابی میکروارگانیسم‌های شاخص گروه کلیفرم، روش تخمیر چند لوله‌ای و صافی غشایی است که از روش تخمیر چند لوله‌ای به صورت معمول در ایران استفاده می‌شود. روش تخمیر چند لوله‌ای بر اساس توانایی کلیفرم‌ها در تخمیر لاکتوز و تولید گاز و کدورت می‌باشد. نتایج این روش طی

۱- کارشناسی، مرکز تحقیقات محیط زیست و گروه مهندسی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات محیط زیست و گروه مهندسی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات محیط زیست و گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- مری، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده مسؤول: مهناز نیک‌آئین

Email: nikaeen@hlth.mui.ac.ir

نگهداری محیط در دمای $0/5^{\circ}\text{C}$ به مدت 24 ± 2 ساعت، رشد (کدورت درون محیط کشت) و تولید گاز در لوله‌ها بررسی گردید. اگر نتیجه بدون رشد و تولید گاز بود، نمونه‌ها دوباره انکوبه می‌شدند و در انتهای 48 ± 3 ساعت مورد بررسی قرار می‌گرفتند. وجود رشد و تولید گاز در لوله‌ها طی 3 ± 3 ساعت نشان دهنده واکنش احتمالی مثبت بود. یک قطعه از هر یک از لوله‌های مشتب در مرحله احتمالی به محیط بریانست گرین لاکتوز بیل براث EC (BGLB) یا Brilliant Green Lactose Bile) و یک قطعه به محیط EC Broth (EC) تلقیح شد و سپس محیط در انکوباتور 37°C در بن ماری 45°C به مدت 24 ساعت قرار گرفت و پس از آن، وجود رشد و تولید گاز بررسی گردید. تعداد کلیفرم کل با استفاده از نتایج مشبت محیط BGLB و تعداد کلیفرم مدفوعی با استفاده از نتایج مشبت محیط EC (Escherichia Coli broth) و مراجعه به جداول استاندارد متد بر حسب (Most probable number) MPN/100 ml به دست آمد (۷).

روش سنجش آنژیمی: در این روش از محیط کشت LMX براث حاوی سوسترهای اختصاصی برای ریدیابی همزمان باکتری‌های کلیفرم کل و اشرشیا کلی استفاده شد. بسته به نوع نمونه، آزمایش به صورت 10 لوله و یا تلقیح اشاره‌ای مطابق روش تخمیر چند لوله‌ای انجام گردید. پس از کشت، لوله‌ها در انکوباتور با دمای $0/5^{\circ}\text{C}$ به مدت 35 ± 3 ساعت قرار گرفت. پس از این مدت، لوله‌ها برای تغییر رنگ بررسی شد. مشاهده تغییر رنگ (سبز یا آبی) به عنوان نتیجه مثبت برای کلیفرم کل تلقی گردید. جهت بررسی اشرشیا کلی، لوله‌های مثبت را مقابل لامپ UV با طول موج 366 nm برای مشاهده فلورسنس قرار داده شد و لوله‌هایی که فلورسان داشت، دلیلی بر وجود اشرشیا کلی بود. MPN با توجه به تعداد لوله‌های مشبت و جدول استاندارد متد محاسبه گردید و بیشترین تعداد احتمالی (MPN) در 100 میلی‌لیتر به دست آمد (۷). میزان همبستگی پارامترهای اندازه‌گیری شده هر 2 روش با استفاده از آزمون همبستگی Pearson در نرم‌افزار SPSS سخنه 20 (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، مقایسه بین پارامترهای اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون آتالیز واریانس انجام گردید. معنی دار بودن داده‌ها برای P کمتر از $0/05$ در نظر گرفته شد. حساسیت، ویژگی و دقت روش سنجش آنژیمی در مقایسه با روش تخمیر چند لوله‌ای به عنوان یک روش استاندارد، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

یافته‌های حاصل از آزمایش‌های میکروبی طی 5 ماه نمونه‌برداری بر روی منابع مختلف آب (چاه، شرب، چشم، و قنات و پساب) در جدول‌های 1 و 2 ارائه گردید.

جدول ۱. مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری کلیفرم کل منابع مختلف آب به روش سنجش آنژیمی و تخمیر چند لوله‌ای

روش	منبع آب	تعداد نمونه	میانگین \pm انحراف معیار (MPN/100 ml)
سنجش آنژیمی	چاه	25	9792 ± 4847
	چشم و قنات	10	1075 ± 919
	شرب	13	-
	پساب	6	1571350 ± 957888
تخمیر چند لوله‌ای	چاه	25	6326 ± 4429
	چشم و قنات	10	155 ± 150
	شرب	13	-
	پساب	6	752250 ± 528775

MTF: Multiple tube fermentation

نمونه‌های محیطی (از قبیل آبروسل‌های خاک، رواناب و لجن) استفاده می‌گردد (۷). روش سنجش آنژیمی مبتنی بر هیدرولیز باکتریایی سوستراتی رنگزا و تشخیص محصولات هیدرولیز می‌باشد (۶). ردیابی کلیفرم‌های کل در این روش مشتمل بر مشاهده فعالیت آنژیم بتا- گالاكتوزیداز است که سوستراتی رنگزا نظیر CPRG (Orthonitro Phenul - β -D-galacto Pyramside) ONPG X-GAL (Chlorophenol Red- β -D-galactopyranoside) ۵-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside) فراورده‌های رنگی هیدرولیز می‌کند (۴، ۸). همچنین، ردیابی اشرشیا کلی بر اساس MUG هیدرولیز یک سوستراتی فلوروژن به نام (4-Methylumbelliferyl- β -D-glucuronide) گلوكورونیداز (آنژیم موجود در اشرشیا کلی) انجام می‌شود. فلورسنت فراورده نهایی این واکنش، می‌تواند به راحتی با یک لامپ UV با طول موج بلند ردیابی گردد (۵، ۹، ۱۰).

مطالعات زیادی در مورد روش سنجش آنژیمی صورت گرفته است که برای انجام این آزمایش از کیت‌های آماده با نام‌های تجاری مختلف مانند Entrolert، Colliquer، Coliquik و همکاران طی مطالعه‌ای بر روی منابع آب تایوان مخصوص نمودند که ردیابی اشرشیا کلی به روش سنجش آنژیمی (Colilert) بیشتر از صافی غشایی است (۱۱). مطالعه‌ای دیگر بر روی حوضه آبریز رودخانه ویرجینیا مشخص کرد که همبستگی بالایی بین روش سنجش آنژیمی (Colilert) و صافی غشایی جهت ردیابی میکروارگانیسم‌های شاخص وجود دارد (۱۲). با توجه به هزینه بالای کیت‌ها، از محیط کشت پودری LMX حاوی سوسترات‌های آنژیمی در مطالعه حاضر استفاده گردید.

مطالعه حاضر با توجه به خصوصیات منابع آب موجود، به بررسی و مقایسه روش سنجش آنژیمی با روش تخمیر چند لوله‌ای متداول در ایران پرداخت.

روش‌ها

۶۴ نمونه از منابع آب مختلف (آب شرب، چشم، چاه و قنات و پساب) طی مدت 5 ماه نمونه‌برداری تهیه شد و آزمایش‌های مربوط انجام گردید. داده‌های به دست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

روش استاندارد تخمیر چند لوله‌ای (MTF): مطالعه حاضر از روش تخمیر چند لوله‌ای به صورت 10 لوله‌ای برای آب شرب و تلقیح اشاری و در صورت لزوم رقت سریالی جهت آزمایش سایر منابع بر اساس روش ذکر شده در استاندارد متد استفاده کرد (۷). به طور خلاصه، از مطالعه حاضر جهت لакتوز براث جهت ردیابی کلیفرم کل استفاده شد. بعد از

جدول ۲. مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری کلیفرم مدفعی در منابع مختلف آب به روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

روش	منبع آب	تعداد نمونه	میانگین ± انحراف معیار (MPN/100 ml)	حداقل (MPN/100 ml)	حداکثر (MPN/100 ml)
سنجش آنزیمی	چاه	۲۵	۱۵۹ ± ۹۵	۲۹۰۰	.
چشمی و قنات		۱۰	۱۰ ± ۶	۴۳	.
شرب		۱۳	.	.	۱۰۰۰۰
پساب		۶	۳۴۱۷۴۵ ± ۲۱۴۰۴۱	۲۴۰	۱۵۰۰۰
چاه		۲۵	۸۵۱ ± ۶۸۸	.	۱۵۰۰۰
چشمی و قنات		۱۰	۴۶ ± ۴۳	.	۹۳۰۰
شرب		۱۳	.	.	۱۱۰۰۰
پساب		۶	۳۷۱۴۵۷ ± ۲۲۰۴۱۴	۱۵۰	

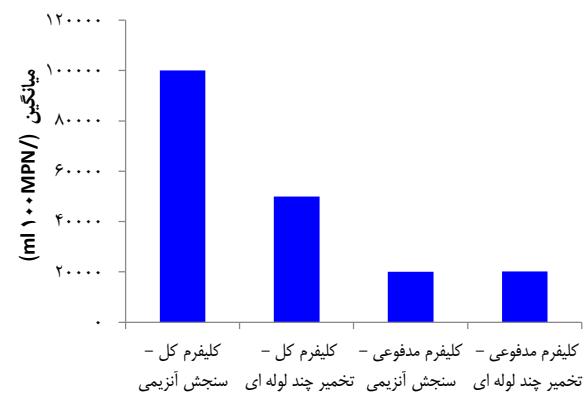
MTF: Multiple tube fermentation

بحث

بر اساس نتایج ارایه شده در جدول ۱ و ۲ ملاحظه شد که بیشترین مقدار کلیفرم کل و مدفعی اندازه‌گیری شده با هر ۲ روش مربوط به پساب و کمترین آن مربوط به آب شرب بود. نتایج آنالیز آماری نیز اختلاف معنی‌داری را بین آن‌الودگی منابع آبی مختلف (چاه، چشمی، شرب و پساب) به کلیفرم‌های کل و مدفعی نشان داد. هیچ گونه آنالیز آماری از نظر کلیفرم‌های کل و مدفعی برای آب استفاده از همین ۲ روش بر روی آب شرب یکی از شهرها گزارش کردند که ۱۶ درصد (۸ از ۵۰ نمونه) و ۱۴ درصد (۷ از ۵۰ نمونه) از نمونه‌های آب آشامیدنی به ترتیب آلوود به کلیفرم کل و مدفعی بودند (۱۰). مطالعه هاشمی کروئی و همکاران با استفاده از روش تخمیر چند لوله‌ای بر روی نمونه‌های آب چاه خانگی یکی از شهرها نشان داد که ۸۷ و ۷۰ درصد نمونه‌ها به ترتیب کلیفرم کل و مدفعی داشتند (۱۶).

میانگین تعداد کلیفرم کل به روش سنجش آنزیمی به طور معنی‌داری بیشتر از کلیفرم کل به روش تخمیر چند لوله‌ای در مطالعه حاضر به دست آمد (جدول ۱). شکل (۱) بررسی مطالعات مشابه نیز نشان داد که میزان بازیابی کلیفرم‌های کل در محیط‌های مختلف آبی شامل آب آشامیدنی، آب رودخانه و دریا به روش سنجش آنزیمی بیش از روش متداول تخمیر چند لوله‌ای است (۱۶، ۱۵)، به نظر می‌رسد که دلیل اصلی بازیابی بیشتر کلیفرم‌ها در روش سنجش آنزیمی نسبت به روش متداول، وجود باکتری‌های فعال و غیر قابل کشت (Viable-but-nonculturable) یا (VBNC) می‌باشد که نمی‌توانند بر روی محیط کشت رشد کنند، اما هنوز زنده و قادر به فعالیت متابولیکی هستند. مطالعات مختلف نشان دادند که باکتری‌ها می‌توانند از نظر متابولیکی فعال باشند، حتی اگر با روش‌های متداول کشت میکروبی نتوانند مورد رדיابی قرار گیرند (۱۷، ۱۸).

میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده کلیفرم‌های کل و مدفعی در تمام نمونه‌ها با هر ۲ روش در شکل ۱ مورد مقایسه قرار گرفت. ارتباط بین پارامترهای اندازه‌گیری شده هر ۲ روش نیز در جدول ۳ ارایه شد.



شکل ۱. مقایسه میانگین مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری کلیفرم کل و کلیفرم مدفعی نمونه‌ها به روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

برآورد حساسیت و ویژگی روش سنجش آنزیمی نشان داد که این روش به ترتیب دارای ۱۰۰ درصد ویژگی و ۱۰۰ درصد حساسیت برای ارزیابی کیفیت میکروبی نمونه‌های آب و فاضلاب بود. در مجموع، حساسیت، ویژگی و دقت روش سنجش آنزیمی با توجه به کل نمونه‌های مورد آزمایش به ترتیب معادل ۹۴ و ۹۵ درصد به دست آورد.

جدول ۳. ارتباط بین کلیفرم‌های کل و مدفعی با ۲ روش سنجش آنزیمی و تخمیر چند لوله‌ای

اختلاف	TC– MTF	TC– EA	FC– MTF	FC– EA
TC– MTF	۱/۰۰	۰/۸۹۱	۰/۸۹۰	۰/۸۴۹
TC– EA		۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۹۹۶
FC– MTF			۱/۰۰۰	۰/۹۹۶
FC– EA				۱/۰۰۰

* سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵

EA: Enzyme analysis; FC: Fecal coliform; TC: Total coliform; MTF: Multiple tube fermentation

با توجه به ارتباط مشخص شده می‌توان بیان نمود که سنجش آنژیمی به خوبی می‌تواند روشی جهت برآورد آلودگی کلیفرمی منابع آب به خصوص آلودگی مدفعوعی باشد. Bukh و همکاران برای تشخیص اشرشیا کلی آب آشامیدنی از ۲ روش سنجش آنژیمی با ColiLight و تخمیر چند لوله‌ای استفاده کردند. آن‌ها همبستگی مثبتی بین روش سنجش آنژیمی با استفاده از ColiLight و تخمیر چند لوله‌ای ($r = 0.710$) مشاهده نمودند (۲). مطالعه Buckalew و همکاران تیز همبستگی بالایی ($r = 0.956$) را بین ۲ روش سنجش آنژیمی با استفاده از Buckalew و همکاران صافی غشایی جهت ردیابی اشرشیا کلی آب‌های سطحی نشان دادند (۱۲).

مطالعات مختلف با استفاده از سوبسترای MUG مقادیر متفاوتی از حساسیت و ویژگی برای روش سنجش آنژیمی گزارش کردند (۸). برآورد حساسیت، ویژگی و دقت در مطالعه حاضر نشان دهنده این است که روش سنجش آنژیمی با استفاده از LMX با دقت به نسبت بالا (۹۴ درصد)، روش مناسبی برای ارزیابی انواع منابع آبی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، استفاده از LMX به عنوان یک روش سنجش آنژیمی، جانشین مناسبی برای روش تخمیر چند لوله‌ای متداول جهت ردیابی کلیفرم‌های کل و مدفعوعی (اشرشیا کلی) آب‌های آشامیدنی و غیر آشامیدنی می‌باشد. این روش با مزایایی مانند ردیابی همزمان کلیفرم کل و اشرشیا کلی، حساسیت، ویژگی و دقت به نسبت بالا، صرف‌جویی در زمان و نیروی کار، بالا بردن توانایی عملیاتی و آزمایش نمونه‌های بیشتر، امکان اتخاذ اقدامات مدیریتی و نظارتی سریع‌تر به خصوص در شرایط اضطراری و حوادث غیر متوقبه را فراهم می‌نماید.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی شماره ۲۹۳۰۶۹ مصوب مرکز تحقیقات محیط زیست می‌باشد، بدین وسیله نویسندها مقاله مراتب تشکرخود را از این مرکز اعلام می‌نمایند.

مشخص شده است که وقتی باکتری‌ها وارد یک محیط الیگوتروف می‌گردند، تحت استرس‌های محیط نظیر نور و کمبوود مواد غذی قرار می‌گیرند. در این حالت، قسمتی از سلول ممکن است قابلیت کشت خود را از دست دهد؛ در حالی که هنوز از نظر متابولیکی فعال می‌باشد (۱۷، ۱۹). George و همکاران در مطالعه‌ای بر روی رودخانه Seine فرانسه نشان دادند که باکتری‌های قابل کشت با بهبود کیفیت آب رودخانه در فاصله ۱۵۰ کیلومتری از محل تخلیه پساب فاضلاب، کاهش قابل توجهی را نسبت به باکتری‌های دارای فعالیت آنژیمی داشتند (۲۰).

نتایج مطالعه حاضر در مورد تفاوت میانگین تعداد کلیفرم‌های مدفعوعی با هر ۲ روش برعکس کلیفرم‌های کل بود. به عبارت دیگر، میانگین تعداد کلیفرم مدفعوعی با روش تخمیر چند لوله‌ای به طور معنی‌داری بیشتر از روش سنجش آنژیمی به دست آمد (جدول ۲، شکل ۱). این اختلاف در مورد کلیفرم‌های مدفعوعی می‌تواند به این دلیل باشد که تمام اعضای گروه کلیفرم مدفعوعی در روش متداول قابل ردیابی است، اما روش سنجش آنژیمی تنها اشرشیا کلی را به عنوان یگانه شاخص آلودگی مدفعوعی ردیابی می‌کند (۸). نکته قابل توجه این می‌باشد که اگر چه اشرشیا کلی در حدود ۷۷ درصد بالایی (در حدود ۷۷ درصد بالایی) در مطالعه حاضر در میانگین تعداد کلیفرم‌های آبی تشکیل می‌دهد (۲۱)، اما باکتری‌های دیگری به ویژه کلیپسیلا می‌توانند به عنوان کلیفرم مدفعوعی در روش MTF در دمای 5°C ردیابی شوند (۲۲). بنابراین، روش MTF در صورت وجود کلیپسیلا مقدار بیشتری از کلیفرم‌های مدفعوعی را نسبت به روش LMX که تنها می‌تواند اشرشیا کلی را نشان دهد، بازیابی نماید.

آنالیز آماری نتایج نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین تعداد کلیفرم کل و کلیفرم مدفعوعی در هر ۲ روش سنجش آنژیمی و تخمیر چند لوله‌ای وجود داشت (جدول ۳). این ارتباط آماری بین تعداد کلیفرم کل و کلیفرم مدفعوعی با توجه به ضریب همبستگی در روش سنجش آنژیمی قویتر بود ($r = 0.996$)؛ در حالی که این ارتباط در روش تخمیر چند لوله‌ای کمتر به دست آمد ($r = 0.890$). همچنین، آنالیز آماری نشان داد که ارتباط خوبی بین اندازه‌گیری کلیفرم کل و مدفعوعی با هر ۲ روش سنجش آنژیمی و تخمیر چند لوله‌ای وجود داشت، اما این ارتباط در مورد اندازه‌گیری کلیفرم مدفعوعی قویتر بود ($r = 0.996$).

References

- Mukhopadhyay C, Vishwanath S, Eshwara VK, Shankaranarayana SA, Sagir A. Microbial quality of well water from rural and urban households in Karnataka, India: a cross-sectional study. *J Infect Public Health* 2012; 5(3): 257-62.
- Bukh AS, Hansen E, Roslev P. Detection and persistence of clinical escherichia coli in drinking water evaluated by a rapid enzyme assay and qPCR. *Advances in Microbiology* 2012; 2(3): 252-62.
- Girones R, Ferrus MA, Alonso JL, Rodriguez-Manzano J, Calgua B, Correa AA, et al. Molecular detection of pathogens in water--the pros and cons of molecular techniques. *Water Res* 2010; 44(15): 4325-39.
- Maheux AF, Huppe V, Boissinot M, Picard FJ, Bissonnette L, Bernier JL, et al. Analytical limits of four beta-glucuronidase and beta-galactosidase-based commercial culture methods used to detect Escherichia coli and total coliforms. *J Microbiol Methods* 2008; 75(3): 506-14.
- Douterelo I, Boxall JB, Deines P, Sekar R, Fish KE, Biggs CA. Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water Research* 2014; 65: 134-56.
- Fiksdal L, Tryland I. Application of rapid enzyme assay techniques for monitoring of microbial water quality. *Curr Opin Biotechnol* 2008; 19(3): 289-94.
- Eaton AD, Franson MAH. Standard methods for the examination of water & wastewater. Washington, DC: American Public Health Association; 2005.
- Mirhendi H, Nikaeen M. Wastewater microbiology. Tehran, Iran: Tehran University of Medical Sciences Publications; 2004. [In Persian].

9. Berger SA. Increased protection afforded by the defined substrate technology Colilert system by its ability to detect Shigella β -glucuronidase. Letters in Applied Microbiology 1994; 19(1): 53-6.
10. Nikaeen M, Pejhan A, Jalali M. Rapid monitoring of indicator coliforms in drinking water by an enzymatic assay. Iran J Environ Health Sci Eng 2009; 6(1): 7-10.
11. Chao KK, Chao CC, Chao WL. Suitability of the traditional microbial indicators and their enumerating methods in the assessment of fecal pollution of subtropical freshwater environments. J Microbiol Immunol Infect 2003; 36(4): 288-93.
12. Buckalew DW, Hartman LJ, Grimsley GA, Martin AE, Register KM. A long-term study comparing membrane filtration with Colilert defined substrates in detecting fecal coliforms and Escherichia coli in natural waters. J Environ Manage 2006; 80(3): 191-7.
13. Eccles JP, Searle R, Holt D, Dennis PJ. A comparison of methods used to enumerate Escherichia coli in conventionally treated sewage sludge. J Appl Microbiol 2004; 96(2): 375-83.
14. Hashemi Karouei SM, Eslamifar M, Zazouli MA. Determination of fecal coliform contamination of water supplies in some rural areas of Sari, Iran with most probable number test. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23(104): 89-95. [In Persian].
15. Rompre A, Servais P, Baudart J, de-Roubin MR, Laurent P. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. J Microbiol Methods 2002; 49(1): 31-54.
16. Geissler K, Manafi M, Amoros I, Alonso JL. Quantitative determination of total coliforms and Escherichia coli in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. J Appl Microbiol 2000; 88(2): 280-5.
17. George I, Petit M, Servais P. Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters. J Appl Microbiol 2000; 88(3): 404-13.
18. Caruso G, Crisafi E, Mancuso M. Development of an enzyme assay for rapid assessment of Escherichia coli in seawaters. J Appl Microbiol 2002; 93(4): 548-56.
19. Fricker EJ, Fricker CR. Use of two presence/absence systems for the detection of E. coli and coliforms from water. Water Research 1996; 30(9): 2226-8.
20. George I, Petit M, Theate C, Servais P. Use of rapid enzymatic assays to study the distribution of faecal coliforms in the Seine river (France). Water Sci Technol 2001; 43(12): 77-80.
21. Garcia-Armisen T, Prats J, Servais P. Comparison of culturable fecal coliforms and Escherichia coli enumeration in freshwaters. Can J Microbiol 2007; 53(6): 798-801.
22. Edberg SC, Allen MJ, Smith DB. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and Escherichia coli from drinking water: comparison with the standard multiple tube fermentation method. Appl Environ Microbiol 1988; 54(6): 1595-601.

Comparison of Microbial Quality Assessment of Water Sources Using Multiple Tube Fermentation Technique and Enzymatic Assay

Maryam Hatamzadeh¹, Bibi Fatemeh Nabavi¹, Mahnaz Nikaien², Akbar Hassanzadeh³

Original Article

Abstract

Background: Microbial monitoring of aquatic sources is essential in the correct management of these vital sources. Multiple tube fermentation (MTF) technique is currently used for assessment of the microbial quality of water sources. However, today enzymatic assay has been presented as an alternative approach for detecting indicator bacteria. The purpose of this study was to compare enzymatic assay with MTF technique in terms of the detection of total and fecal coliforms in potable and non-potable waters.

Methods: A total of 64 samples were collected from different water sources (potable, spring, well, and aqueduct water, and wastewater effluent). Detection of total and fecal (*Escherichia coli*) coliforms was performed using MTF method and enzymatic assay using LMX broth. The relationship between the parameters measured by the two methods was tested using the Pearson correlation. The sensitivity, specificity, and accuracy of enzymatic assay were also evaluated.

Findings: Statistical analysis of results showed a high correlation between total and fecal coliform measurements by the two methods. Enzymatic assay had a sensitivity, specificity, and accuracy of 92, 95, and 94 percent, respectively.

Conclusion: Due to the advantages of enzymatic assay, such as its relatively high sensitivity, accuracy, and speed, and simultaneous detection of total coliforms and *E. coli*, enzymatic assay using LMX can be used as an alternative method to MTF.

Keywords: Enzymatic assay, Multiple tube fermentation (MTF), Microbial quality, Water sources, LMX

Citation: Hatamzadeh M, Nabavi BF, Nikaien M, Hassanzadeh A. Comparison of Microbial Quality Assessment of Water Sources Using Multiple Tube Fermentation Technique and Enzymatic Assay. J Health Syst Res 2016; 12(1): 84-9.

1- Environment Research Center AND Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor, Environment Research Center AND Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Lecturer, Department of Statistics and Epidemiology, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mahnaz Nikaien, Email: nikaeen@hlth.mui.ac.ir