

## Isolation and Identification of Municipal Excess Sludge and Investigation of Its Resistance to Amoxicillin and Gentamicin

**Elahe khayyami**

PhD. Student, Department of Environment, West Tehran Branch, Azad Islamic University, Tehran, Iran

**Roya Mafigholami**

\*Associate Professor, Department of Water and Wastewater Environment, West Tehran Branch, Azad Islamic University, Tehran, Iran.

**(Corresponding**

**Author)** r.mafigholami@wtiau.ac.ir

**Shahrooz Saviz**

Professor, Plasma Physics Research Center, Science and Research Branch, Azad Islamic University, Tehran, Iran.

**Hadi Farsiani**

Assistant Professor, Department of Microbiology & Virology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

**Amir Hossein Sari**

Quantum Technologies Research Center, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

### Abstract

**Background and Objective:** Sustainable Municipal Sewage Sludge Management (MSS) and its stabilization to reduce pathogens and unpleasant odors are critical environmental imperatives. However, the influx of antibiotic residues into wastewater systems can affect the diversity and function of microbial communities, posing new challenges for biological stabilization processes. Consequently, the present study was designed to isolate and identify bacterial strains from municipal excess sludge samples and analyze their resistance patterns against amoxicillin and gentamicin, in order to evaluate the impact of these compounds on the performance of these strains.

**Materials and Methods:** In this descriptive-analytical study, bacterial strains were isolated from municipal waste activated sludge. The strains were identified via biochemical tests, and their antibiotic resistance patterns against amoxicillin and gentamicin were evaluated using the disk diffusion method.

**Results:** The results demonstrated a significantly high level of antibiotic resistance among the bacterial agents isolated from the waste activated sludge. Among the antibiotics studied, the highest resistance was observed toward amoxicillin.

**Conclusion:** The findings indicate that the excessive and improper use of antibiotics in healthcare has led to increased microbial resistance within sewage treatment environments. Consequently, it is recommended to revise protocols for managing unused medications and optimize sludge stabilization methods by considering the influence of antibiotics.

**Keywords:** Waste Activated Sludge, Municipal Sewage, Stabilizing Bacteria, Antibiotic, Antibiotic Resistance

**Open Access Policy:** This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. To view a copy of this licence, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

► **Citation:** Khayyami E, Mafigholami R, Saviz Sh, Farsiani H, Sari AH. Isolation and Identification of Municipal Excess Sludge and Investigation of Its Resistance to Amoxicillin and Gentamicin. *Journal of Research in Environmental Health*. 12(1):127-136.

Received: 2026/03/11

Accepted: 2026/06/11

Doi:10.22038/jreh.2026.28094

## جداسازی و شناسایی باکتری‌های لجن مازاد فاضلاب شهری و بررسی مقاومت آن‌ها در برابر آموکسیسیلین و جنتامایسین

### الهه خیامی

دانشجوی دکترا، گروه محیط زیست، واحد تهران غرب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### رویا مافی‌غلامی

دانشیار، محیط زیست آب و فاضلاب، واحد تهران غرب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. (نویسنده مسئول)

r.mafigholami@wtiau.ac.ir

### شهرزاد ساویز

استاد، مرکز تحقیقات فیزیک پلاسما، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### هادی فارسایانی

استادیار، گروه میکروپزشناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

### امیرحسین ساری

استادیار، مرکز تحقیقات فناوری‌های کوانتومی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** مدیریت پایدار لجن فاضلاب شهری (MSS) و تثبیت آن به‌منظور کاهش پاتوژن‌ها و بوهای نامطبوع، از ضرورت‌های زیست‌محیطی حائز اهمیت است. با این حال، ورود باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی به سیستم‌های فاضلاب می‌تواند بر تنوع و عملکرد جوامع میکروبی تأثیر گذاشته و چالش‌های جدیدی را در فرآیندهای تثبیت بیولوژیکی ایجاد کند. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف جداسازی و شناسایی سویه‌های باکتریایی از نمونه‌های لجن مازاد فاضلاب شهری و بررسی الگوی مقاومت آن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آموکسیسیلین و جنتامایسین طراحی گردید تا میزان اثرگذاری این ترکیبات بر عملکرد این سویه‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، سویه‌های باکتریایی از لجن مازاد فاضلاب شهری جداسازی شدند. تعیین هویت این سویه‌ها از طریق آزمون‌های بیوشیمیایی صورت گرفت و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها در برابر دو آنتی‌بیوتیک آموکسیسیلین و جنتامایسین، با استفاده از روش انتشار دیسک (Disk Diffusion) مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عوامل باکتریایی جداسازی شده از لجن مازاد به‌طور قابل‌توجهی بالا است. در میان آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده، بیشترین میزان مقاومت مربوط به آموکسیسیلین بود.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که مصرف بی‌رویه و نادرست آنتی‌بیوتیک‌ها در بخش بهداشت و درمان، منجر به افزایش مقاومت میکروبی در محیط‌های تصفیه فاضلاب شده است. لذا بازنگری در پروتکل‌های مدیریت داروهای مصرف‌نشده و بهینه‌سازی روش‌های تثبیت لجن با در نظر گرفتن اثرات آنتی‌بیوتیک‌ها توصیه می‌گردد.

**کلیدواژه:** لجن مازاد، فاضلاب شهری، باکتری تثبیت‌کننده، آنتی‌بیوتیک، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

◀ **استناد:** خیامی الف، مافی‌غلامی ر، ساویز ش، فارسایانی ه، ساری ام. جداسازی و شناسایی باکتری‌های لجن مازاد فاضلاب شهری و بررسی مقاومت آن‌ها در برابر آموکسیسیلین و جنتامایسین. فصلنامه‌ی پژوهش در بهداشت محیط. بهار ۱۴۰۵؛ ۱۲(۱): ۱۲۷-۱۳۶.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۱

نوع مقاله: پژوهشی

در میان توسعه اقتصادی و گسترش روزافزون مناطق شهری، تصفیه‌خانه‌های فاضلاب حجم قابل توجهی از محصولات جانبی، به‌ویژه لجن فاضلاب تولید می‌کنند. با توجه به چالش مبرمی که روش‌های تصفیه و دفع موجود در هماهنگی کافی با رشد شهری دارند، تصفیه و دفع مناسب لجن به‌عنوان نگرانی‌های اصلی در کنترل آلودگی محیط زیست شهری ظاهر شده است (۱). در سال‌های اخیر، بازیافت و مدیریت پایدار لجن فاضلاب شهری<sup>۱</sup> به‌عنوان یک موضوع کلیدی و حائز اهمیت مطرح شده است (۲). لجن فاضلاب شهری یک محصول جانبی بوده که در طی فرآیند تصفیه فاضلاب از تصفیه اولیه (فیزیکی و/یا شیمیایی)، ثانویه (بیولوژیکی) و نهایی ایجاد می‌شود (۳). قبل از بازیافت، لجن فاضلاب شهری باید تثبیت شود تا مشکلات مربوط به حضور پاتوژن‌های انسانی (ویروس‌ها، باکتری‌ها و انگل‌ها) و بو را کاهش دهد (۴). مدیریت لجن فاضلاب را می‌توان از طریق روش‌های تثبیت بیولوژیکی در شرایط هوازی (تثبیت اکسیداتیو) و بی‌هوازی (تخمیر) و یا با بهره‌گیری از روش‌های شیمیایی مانند افزودن آهک به انجام رساند (۵). در تثبیت هوازی، که عمدتاً در تصفیه‌خانه‌های کوچک و متوسط با حجم لجن کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶). لجن باقیمانده هیدرولیز شده و به مواد آلی محلول زیست تخریب‌پذیر تبدیل می‌شود. در طی این فرآیند، باکتری‌های هتروتروف، مواد آلی را به کربن دی‌اکسید<sup>۲</sup>، آب<sup>۳</sup> و زیست توده فعال تبدیل می‌کنند (۷). هضم بی‌هوازی یکی از متداول‌ترین روش‌ها برای تثبیت لجن فاضلاب شهری است. این فرآیند مقدار مواد جامد لجن فاضلاب شهری را کاهش می‌دهد و گازهای زیستی تولید

می‌کند. متان<sup>۴</sup> به‌دلیل سرعت محدود هیدرولیز که در آن تجزیه مواد آلی شامل چهار مرحله هیدرولیز، اسیدزایی، استوژنز و متانوژنز است، به‌عنوان یک فرآیند تخریب کند در نظر گرفته می‌شود (۲). آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مؤثرترین مواد ضد میکروبی در درمان بیماری‌های باکتریایی انسان و حیوان، نقشی حیاتی در مراقبت‌های بهداشتی ایفا می‌کنند (۸). با این حال، به دلیل عدم متابولیسم کامل این ترکیبات در بدن، تقریباً ۳۰ تا ۹۰ درصد از آنتی‌بیوتیک‌های مصرف شده به صورت متابولیت‌های اولیه یا داروهای اصلی وارد سیستم فاضلاب می‌شوند (۹، ۱۰). ورود این ترکیبات به سیستم‌های آبی می‌تواند اثرات منفی بر ارگانیسم‌های غیرهدف داشته باشد؛ ازجمله مهار رشد جلبک‌ها، تغییر در رونویسی و تکثیر کلروپلاست‌ها و اختلال در چرخه نیتروژن میکروارگانیسم‌ها (۱۲، ۱۳). علاوه بر این، حضور آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به مهار رشد باکتری‌های حساس (اعم از مفید و بیماری‌زا) شده و در نتیجه باعث تغییر در تنوع، فراوانی و عملکرد جوامع میکروبی در خاک، رسوبات و آب می‌گردد (۱۱). یکی از پیامدهای حائز اهمیت حضور آنتی‌بیوتیک‌ها و باقی‌مانده‌های آن‌ها، گسترش ژن‌های مقاومت (ARGs) و افزایش تولید باکتری‌های مقاوم است (۱۴). در این راستا، لجن فاضلاب به‌عنوان یکی از منابع اصلی انتشار ژن‌های مقاومت در محیط زیست شناخته می‌شود (۱۳) و مقادیر قابل توجهی از این باقی‌مانده‌ها در مدفوع و فاضلاب تجمع می‌یابند (۱۵). هم‌چنین استفاده‌ی گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کشاورزی و آبی‌پروری، مسیرهای غیرمستقیمی را برای اثرگذاری بر سلامت انسان ایجاد کرده است (شکل ۱-الف) (۲۰). مطابق با شکل ۱-ب، مسیرهای انتشار ARGs در محیط به دو دسته مسیرهای انسانی (زرد) و طبیعی (سبز) تقسیم می‌شوند. فاضلاب‌های حاوی آنتی‌بیوتیک‌ها و

<sup>۱</sup> MSS<sup>۲</sup> CO<sub>2</sub><sup>۳</sup> H<sub>2</sub>O<sup>۴</sup> CH<sub>4</sub>

ژن‌های مقاوم (مانند پساب‌های دارویی، کشاورزی و خانگی) در تصفیه‌خانه‌ها جمع‌آوری شده و از آن‌جایی که این ترکیبات به‌طور کامل زیست‌تخریب‌پذیر نیستند، از طریق جذب بر روی سطح ذرات لجن فعال، از فاز مایع به فاز جامد منتقل می‌شوند (۱۳)، (۲۱).

لجن فعال متعلق به جنس‌های گرم منفی هستند. جنس‌های اصلی شامل آکروموباکتر<sup>۱</sup>، آکالی ژنز<sup>۲</sup>، باسیلوس<sup>۳</sup>، فلاووباکتریوم<sup>۴</sup>، میکروکوکوس و سودوموناس<sup>۵</sup> هستند (۱۷). حسینی و همکاران در سال ۲۰۰۷، دو باکتری سودوموناس بتلی<sup>۶</sup> و اسینتوباکتر جونسونی<sup>۷</sup> را از لجن فعال جداسازی کردند که به ترتیب قادر به تجزیه ۹۷/۲ درصد و ۹۶/۴ درصد از سورفاکتانت‌های آنیونی بودند (۱۷). در تحقیق ژوتو و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داده شد که اضافه کردن لجن فعال به خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌ها، تجزیه هیدروکربن‌ها را تحریک می‌کند و باعث تجزیه بالای آلکان‌ها و هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAHs) می‌شود در این بررسی مشخص شد، دلیل اصلی، تجزیه‌ی بالای آلکان‌ها می‌تواند وجود میکروارگانیزم‌های موجود در لجن از جمله باکتری‌ها باشد که جهت تجزیه هیدروکربن‌ها، قدرت سازگار شدن با محیط را دارند (۱۹). پژوهش حاضر با هدف جداسازی و شناسایی سویه‌های باکتریایی از نمونه‌های لجن مازاد فاضلاب شهری و بررسی الگوی مقاومت آن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آموکسیسیلین و جنتامایسین طراحی گردید تا میزان اثرگذاری این ترکیبات بر عملکرد این سویه‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد.

## روش کار

در این پژوهش برای شناسایی باکتری‌های تثبیت-کننده‌ی لجن از لجن مازاد تصفیه‌خانه فاضلاب شهری شماره ۴ مشهد در سال ۱۴۰۳ نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در پلیت حاوی محیط کشت افتراقی<sup>۸</sup> محیط اتوزین متیلن بلو<sup>۹</sup> پخش شد پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند کلنی‌هایی که از لحاظ شکل ظاهری با هم تفاوت داشتند انتخاب شدند و از آن‌ها کشت ایزوله‌ی رنگ-آمیزی گرم انجام شد. باکتری‌های گرم مثبت در محیط کشت عمومی بلاد آگار کشت داده شد.

### تست‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی

برای شناسایی و تأیید باکتری‌ها از تست‌های بیوشیمیایی IMVPC<sup>۱۰</sup> (اندول متیل، ردوژ پروسکوتر و سترات)، کاتالاز واوره آز استفاده شد.

### بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری

به منظور سنجش میزان مقاومت باکتری‌های جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، آزمون آنتی‌بیوگرام به روش انتشار دیسک<sup>۱۱</sup> مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور، سوسپانسیون باکتریایی در محلول نرمال سالین تهیه و کدورت آن با استاندارد ۰/۵ مک‌فارلاند تطبیق داده شد. سپس سوسپانسیون تهیه شده با استفاده از سواب‌های استریل بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار (MHA) به صورت یکنواخت کشت داده شد. پس از قراردادن دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی سطح محیط کشت، پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه گردیدند. در نهایت، قطره‌اله‌های عدم رشد با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، نتایج به دست آمده با جداول استاندارد کمیته جهانی استانداردهای آزمایشگاهی کلینیکی (CLSI 2018) مقایسه گردید و بر این اساس، وضعیت مقاومت سویه‌ها در سه دسته «مقاوم»، «حساس» و

<sup>1</sup> *Achromobacter*

<sup>2</sup> *Alcaligenes*

<sup>3</sup> *Bacillus*

<sup>4</sup> *Flavobacterium*

<sup>5</sup> *Micrococcus*

<sup>6</sup> *P. beteli*

<sup>7</sup> *Acinetobacter Johnsonii*

<sup>8</sup> Media Differential

<sup>9</sup> methylen Eosin Blue

<sup>10</sup> Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Citrate (IMVPC)

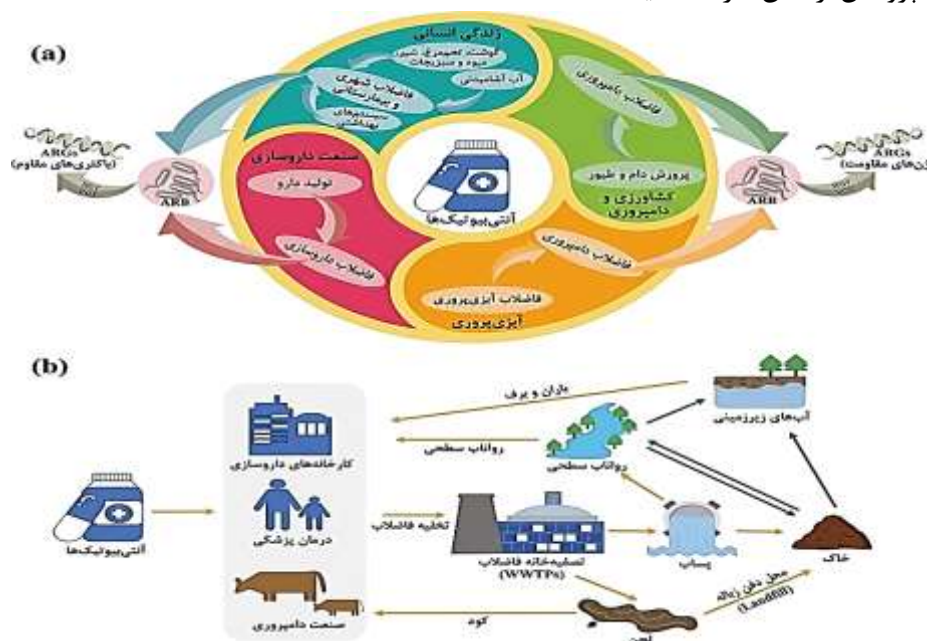
<sup>11</sup> Disk Diffusion

فاضلاب شهری که روش تثبیت آن به صورت هوازی بوده است برای شناسایی باکتری‌های تثبیت‌کننده آن نمونه‌ها جداسازی و شناسایی شدند. باسیلوس‌ها، کورینه باکتریوم‌ها، استافیلوکوک‌های کوآگولازمنفی، استرپتوکوک‌های ویریدنس، کپک‌ها و مخمرها (به دلیل رشد زیاد باکتری‌های ساپروفیت امکان تفکیک و کانت این باکتری‌ها وجود نداشت) و صرفه نظر گردید بنابراین براساس تست‌های بیوشیمیایی سویه‌های جدا شده متعلق به خانواده انتروباکتریاسه بوده است (جدول ۱).

«حد واسط» طبقه‌بندی شد. جهت بررسی توزیع الگوی مقاومت، درصد فراوانی مقاومت برای هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه محاسبه گردید. همچنین، به منظور ارزیابی تفاوت‌های معنی‌دار در میزان مقاومت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (آموکسیسیلین و جنتامایسین)، تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

برای انجام این پژوهش از لجن مازاد تصفیه خانه



شکل ۱. منابع اصلی (الف) و مسیرهای چرخه (ب) آنتی‌بیوتیک‌ها و ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک (ARGs) در محیط زیست (۱۳)

جدول ۱- میزان باکتری‌های گرم منفی روده‌ای کشت شده از نمونه لجن مازاد فاضلاب شهری (100.000 cfu/ml(400.000)

| ردیف | Type of bacteria       | نوع باکتری           |
|------|------------------------|----------------------|
| ۱    | Escherichia coli       | اشریشیا کلی          |
| ۲    | Klebsiella pneumoniae  | کلبسیلا پنومونیه     |
| ۳    | Enterobacter aerogenes | انتروباکتر آئروژنز   |
| ۴    | Pseudomonas aeruginosa | سودوموناس آئروژینوزا |
| ۵    | Proteus mirabilis      | پروتئوس میرابیلیس    |
| ۶    | Enterobacter cloacae   | انتروباکتر کلواکه    |
| ۷    | Acinetobacter sp       | آسینتوباکتر          |

## نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری‌های مورد بررسی به روش انتشار از دیسک

نتایج تست‌های حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها برای تمامی جدایه‌ها بررسی و با توجه به جدول CLSI تفسیر شد (شکل ۲) (جدول ۲).



شکل ۲. نتایج حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها با روش انتشار از دیسک و هاله‌های عدم رشد  
جدول ۲. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مورد بررسی

| ردیف | Type of bacteria       | نوع باکتری           | آموکسی سیلین | جنتامایسین |
|------|------------------------|----------------------|--------------|------------|
| ۱    | Klebsiella pneumoniae  | کلبسیلا پنومونیه     | مقاومت       | حساس       |
| ۲    | Enterobacter aerogenes | انتروباکتر آئروژنز   | مقاومت       | حساس       |
| ۳    | Pseudomonas aeruginosa | سودوموناس آئروژینوزا | مقاومت       | مقاومت     |
| ۴    | Escherichia coli       | اشریشیا کلی          | مستعد        | حساس       |
| ۵    | E.coli                 | ای.کلی               | مقاومت       | حساس       |
| ۶    | E.coli                 | ای.کلی               | مقاومت       | مقاومت     |
| ۷    | Proteus mirabilis      | پروتئوس میرابیلیس    | مقاومت       | حساس       |
| ۸    | Enterobacter cloacae   | انتروباکتر کلواکه    | مقاومت       | حساس       |
| ۹    | Acinetobacter sp       | آسینتوباکتر          | مقاومت       | مقاومت     |
| ۱۰   | Gram positive bacilli  | باسیل گرم مثبت       | مقاومت       | حساس       |



## بحث

براساس این پژوهش باکترهای کلبسیلا پنومونیه و انتروباکتر کلوآکه بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک آموکسی سیلین و بیشترین حساسیت متعلق به آنتی بیوتیک جنتامایسین را نشان داد. هم چنین باکتری آسینتوباکتر و سودوموناس آئروژینوزا نسبت به دو آنتی بیوتیک آموکسی سیلین و جنتامایسین مقاوم بوده است. خانواده باکتری اشرشیاکلی نسبت به دو آنتی بیوتیک مقاوم و حساس مشاهده شد.

باکتری های پروتئوس میرابیلیس، انتروباکتر کلوآکه و باسیل گرم مثبت نسبت به آنتی بیوتیک آموکسی سیلین مقاوم و حساس به آنتی بیوتیک جنتامایسین بوده است.

در پژوهش حاضر، با هدف شناسایی باکتری های تثبیت کننده لجن، اثر آنتی بیوتیک ها بر عملکرد این باکتری ها و میزان مقاومت آن ها در تصفیه خانه فاضلاب شهری مورد ارزیابی قرار گرفت. انتروباکتریاسه تولیدکننده بتالاکتاماز با طیف گسترده (مانند اشرشیاکلی، کلبسیلانومونیه انتروباکترها و انتروکوکوس ها) پس از تخلیه به محیط از طریق مدفوع و فاضلاب، ممکن است در خاک، گیاهان و آب های سطحی بسیار شایع باشند، بنابراین ممکن است خطری برای کلونیزاسیون در انسان ها، حیوانات خانگی و دام ها باشد (۲۸). در پژوهشی در اتیوپی با بررسی حساسیت ضد میکروبی انتروباکتریاسه شایع در نمونه های فاضلاب بیمارستان ها، کشتارگاه ها در مجموع ۵۴ جدایه باکتریایی متعلق به ۶ گونه اشرشیاکلی، سالمونلا، کلبسیلا نومونیه، انتروباکتر آئروژنز، کلبسیلا اوکسی توکا، سیتروباکتر و انتروباکتر کلوآکه شناسایی شدند. همه جدایه ها به دو یا چند آنتی بیوتیک آزمایش شده مقاوم بودند (۲۳).

افشاری و همکاران نیز، با بررسی شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در انتروباکتریاسه های جداسازی شده از فاضلاب شهری و بیمارستانی شهر کرج شایع ترین

ایزوله ها را اشرشیاکلی و کلبسیلا اوکسی توکا و بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم سفتازیدیم، سفتریاکسون و سففیم گزارش کردند (۲۴).

در مطالعه ی قبلی، ماژور و همکاران ۲۰۲۲ تأثیر روش تثبیت و اندازه تصفیه خانه فاضلاب را بر ساختار جوامع میکروبی و هم چنین فراوانی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی<sup>۱</sup> و عناصر ژنتیکی متحرک<sup>۲</sup> بررسی کرده اند. همه ARG و MGE آزمایش شده تقریباً در همه نمونه ها قابل تشخیص بودند. جالب توجه است، حضور MGE و هم چنین فلزات سنگین خاص با حضور چندین ARG همبستگی مثبت دارد. ما نتیجه می گیریم که توزیع ARG و MGE در جامدات زیستی ناشی از تصفیه خانه های فاضلاب شهری، با اندازه تأسیسات یا روش تثبیت اعمال شده قابل توضیح نیست. علاوه بر این، فرض می کنیم که وجود آلاینده ها و اثرات بلندمدت باید قبل از استفاده احتمالی از لجن فاضلاب به عنوان کود ارزیابی شود. سرن و همکاران (۲۰۱۹). ویژگی های فیزیوشیمیایی برخی از لجن فاضلاب شهری آزمایش شده در اینجا را تجزیه و تحلیل کرد و به این نتیجه رسید که لجن فاضلاب شهری جایگزین مناسب برای کودهای معدنی در کشاورزی هستند. محتوای بالای فسفر و نیتروژن آن ها برای گیاهان زراعی مفید است (۲۵). از آنجایی که غلظت فلزات کمیاب کمتر از حد اروپا و کرواسی بود، آن لجن فاضلاب شهری برای سلامت انسان و محیط زیست ایمن در نظر گرفته شد. در مطالعه ی حاضر، هدف شناسایی باکتری های تثبیت کننده ی لجن و اطلاعات مربوط به مقاومت آنتی بیوتیکی بود. در اینجا معمولاً در نمونه های تصفیه خانه فاضلاب یافت می شوند و ممکن است در

<sup>1</sup> Antibiotic Resistance Genes (ARGs)

<sup>2</sup> Mobile Genetic Elements (MGEs)

گسترده‌ای از انواع ARGs منجر به اثرات حذف متفاوت روش‌های مختلف تصفیه بر روی ARG در لجن می‌شود. در نتیجه، درک تغییرات و سرنوشت نهایی ARG ها در طول فرآیند تصفیه و دفع لجن، یک تعهد پیچیده و سخت را به همراه دارد.

**تشکر و قدردانی:** پژوهش حاضر مستخرج از پایان‌نامه مقطع دکتری است. بدین‌وسیله، نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی صمیمانه خود را از شرکت آب و فاضلاب مشهد و همچنین شرکت نیلاب صنعت البرز به پاس همکاری‌های گسترده، حمایت‌های فنی و فراهم آوردن امکانات لازم در راستای اجرای این پژوهش ابراز می‌نمایند.

**تعارض منافع:** نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافع (مالی یا غیرمالی) در رابطه با این پژوهش وجود ندارد.

**حمایت مالی:** این مقاله حمایت مالی نداشته است.

**ملاحظات اخلاقی:** در انجام این پژوهش، تمامی استانداردهای اخلاقی رعایت شده و هیچ‌گونه تداخل یا آسیب به محیط زیست یا حقوق انسانی در طی آزمایش‌ها رخ نداده است.

**سهم نویسندگان:** همه نویسندگان در تنظیم و تدوین مقاله برخوردار هستند.

## References

1. Jun Guo a, Yue Hu a, Yunkun Qian a, Yijun Shi a, Dong An Review analysis and challenges of sludge-conditioner interactions: Promoting the harmonious integration of experiments and simulations. Chemical Engineering Journal .Volume 496, 15 September 2024, 153983 <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.153983>.
2. Nikola Major, Sven Jechalke, Joseph Nesme, Smiljana Goreta Ban, Marko Černe, Søren J. Sørensen, Dean Ban, Rita Grosch, Adam Schikora, Jasper Schierstaedt, Influence of sewage sludge stabilization method on microbial community and the abundance of antibiotic resistance genes, Waste Management, Volume 154, 2022, Pages 126-135, ISSN 0956-053X, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2022.09.033>.

انتشار ژن‌های مقاومت در محیط در معرض قرار داشته باشند و بنابراین به انسان می‌رسند (۲۶، ۲۷).

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در همه‌ی پژوهش‌های گزارش شده، باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه شیوع بالایی را در میان دام‌ها، کشتارگاه‌ها، فاضلاب‌ها و طیور داشتند. هم‌چنین این سویه‌ها نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند که این موضوع می‌تواند ناشی از استفاده ناصحیح و غیراصولی و بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان و تیمار حیوانات باشد که عدم کنترل آن در سلامت جامعه و محیط زیست بسیار تاثیرگذار است و می‌تواند عواقب جبران ناپذیری به همراه داشته باشد. نتایج حاصل از این پژوهش حضور باکتری‌های گرم منفی مقاوم به چند دارو را در لجن مازاد فاضلاب شهری اثبات می‌کند. اغلب باکتری‌های جدا شده در این پژوهش پتانسیل بیماری‌زایی داشته و انتشار آن‌ها در محیط زیست می‌تواند خسارات جبران‌ناپذیری بر سلامت جامعه وارد آورد، هم‌چنین باکتری‌های جدا شده در این پژوهش می‌توانند به‌مدت طولانی در محیط باقی مانده و به‌عنوان مخازن بالقوه‌ی ژن‌های مقاومت دارویی باعث انتقال ژن‌های مقاوم شوند. طیف

3. Fytli, D., Zabaniotou, A., 2008. Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods—A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 12, 116–140.

4. Mininni, G., Blanch, A.R., Lucena, F., Berselli, S., 2015. EU policy on sewage sludge utilization and perspectives on new approaches of sludge management. Environ. Sci. Pollut. R. 22 (10 ), 7361–7374.

5. Wang, K., Larkin, T., Singhal, N., Zhuang, T., 2019. Amendment of municipal sewage sludge with lime and mussel shell: Effects on fate of organic matter and pharmaceutically active compounds. Waste Manage. 85, 272–282

6. Kazimierzczak, M., 2012. Sewage sludge stabilization indicators in aerobic digestion –



areview. Ann. Warsaw Univ. of Life Sci. – SGGW, Land Reclam. 44 (2 ), 101–109.

7. Song, K., Xie, G.-J., Qian, J., Bond, P.L., Wang, D., Zhou, B., Liu, J., Wang, Q., 2017. Improved degradation of anaerobically digested sludge during post aerobic digestion using ultrasonic pretreatment. Environ. Sci.: Water Res. Technol. 3, 857–864.

8. Y.J. Xiang, X. Yang, Z.Y. Xu, W.Y. Hu, Y.Y. Zhou, Z.H. Wan, Y.H. Yang, Y.Y. Wei, J. Yang, D.C.W. Tsang, Fabrication of sustainable manganese ferrite modified biochar from vinasse for enhanced adsorption of fluoroquinolone antibiotics: effects and mechanisms, Sci. Total Environ. 709 (2020 ) 136079, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136079>.

9. W.L. Jia, C. Song, L.Y. He, B. Wang, F.Z. Gao, M. Zhang, G.G. Ying, Antibiotics in soil and water: occurrence, fate, and risk, Curr. Opin. Environ. Sci. Health 32 (2023 ) 100437, <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100437>.

10. J. Lyu, L. Yang, L.S. Zhang, B.X. Ye, L. Wang, Antibiotics in soil and water in China- a systematic review and source analysis, Environ. Pollut. 266 (2020 ) 115147, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115147>.

11. J.M.A. Blair, M.A. Webber, A.J. Baylay, D.O. Ogbolu, L.J.V. Piddock, Molecular mechanisms of antibiotic resistance, Nat. Rev. Microbiol. 13 (2015 ) 42–51, <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>

12. G.Y. Yin, L.J. Hou, M. Liu, Y.L. Zheng, X.F. Li, X.B. Lin, J. Gao, X.F. Jiang, R. Wang, C.D. Yu, Effects of multiple antibiotics exposure on denitrification process in the Yangtze Estuary sediments, Chemosphere 171 (2017 ) 118–125, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.068>.

13. Yingxue Sun, Yuzhu Jiao, Mengyan Wang, Yikan Zhao, Yuting Han, Qianyuan Wu, Shibata Toshiyuki, Chun Wang, Effect of sludge retention time on the removal of fluoroquinolone antibiotics in wastewater

treatment of activated sludge, Journal of Water Process Engineering, Volume 59, 2024, 104941, ISSN 2214-7144, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.104941>.

14. Qin, K., Zhao, Q., Yu, H., Xia, X., Li, J., He, S., Wei, L., An, T., 2021. A review of bismuthbased photocatalysts for antibiotic degradation: insight into the photocatalytic degradation performance, pathways and relevant mechanisms. Environ. Res. 199, 111360 <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111360>.

15. Nnorom, M., Saroj, D., Avery, L., Hough, R., Guo, B., 2023. A review of the impact of conductive materials on antibiotic resistance genes during the anaerobic digestion of sewage sludge and animal manure. J. Hazard. Mater. 446, 17. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130628>.

16. Shiyu Yin, Le Gao, Xiumin Fan, Shuhong Gao, Xu Zhou, Wenbiao Jin, Zhongqi He, Qilin Wang, Performance of sewage sludge treatment for the removal of antibiotic resistance genes: Status and prospects, Science of The Total Environment, Volume 907, 2024, 167862, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167862>.

17. Kafilzadeh F, Khaledi Z. Evaluation of the isolated bacteria from activated sludge of Asalouyeh Special Zone municipal wastewater treatment for bioaugmentation of kerosene-contaminated soils. Iranian Journal of Health and Environment. 2016;9(2 ):211-22.

18. Hosseini F, Malekzadeh F, Amirmozafari N, Ghaemi N. Biodegradation of anionic surfactants by isolated bacteria from activated sludge. International Journal of Environmental Science and Technology. 2007;4(1 ):127-32.

19. Juteau P, Bisaillon J-G, Lépine F, Ratheau V, Beaudet R, Villemur R. Improving the biotreatment of hydrocarbons-contaminated soils by addition of activated sludge taken from the wastewater treatment facilities of an oil refinery. Biodegradation. 2003;14(1 ):31-40.

20. Lulijwa, R., Rupia, E.J., Alfaro, A.C., 2019. Antibiotic use in aquaculture, policies and

regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers.

Rev. Aquac. 12 (2 ), 640–663.  
<https://doi.org/10.1111/raq.12344>.

21. Zhang, Z.H., Li, X., Liu, H., Zamyadi, A., Guo, W.S., Wen, H.T., Gao, L., Nghiem, L.D., Wang, Q.L., 2022e. Advancements in detection and removal of antibiotic resistance genes in sludge digestion: a state-of-art review. Bioresour. Technol. 344, 12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126197>.

22. Melvin, P. W., Brandi, L., Jean, B. P., Amy, J. M., Carey-Ann, B., Tony, M., et al., 2018. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 13th ed. CLSI Standard M02. Clinical and Laboratory Standards Institute, PA. USA.

23. Tesfaye, H., Alemayehu, H., Desta, A. F. & Eguale, T., 2019. Antimicrobial susceptibility profile of selected Enterobacteriaceae in wastewater samples from health facilities, abattoir, downstream rivers and a WWTP in Addis Ababa, Ethiopia. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 8, 1-11.  
<https://doi.org/10.1186/s13756-019-0588-1>.

24. Afshari, M., Haddadi, A. & Shavandi, M., 2020. Prevalence assay of antibiotic resistance in enterobacteriaceae isolated from hospital and urban wastewaters in Karaj City. Journal of Water and Wastewater, 31, 68-76. (InPersian).

<https://doi.org/10.22093/wwj.2019.174603.2841>.

25. Cerne, M., Palčič, I., Paskovič, I., Major, N., Romić, M., Filipović, V., Igrc, M.D., Perčin, A., Goreta Ban, S., Zorko, B., Vodenik, B., Glavič Cindro, D., Milačič, R., Heath, D.J., Ban, D., 2019. The effect of stabilization on the utilization of municipal sewage sludge as a soil amendment. Waste Manage. 94, 27–38.

26. Liu, H.G., Zhou, X.Y., Huang, H.X., Zhang, J.S., 2019. Prevalence of antibiotic resistance genes and their association with antibiotics in a wastewater treatment plant: process distribution and analysis. Water 11, 14.

27. Wolters, B., Fornefeld, E., Jechalke, S., Su, J.Q., Zhu, Y.G., Sørensen, S.J., Smalla, K., Jacquiod, S., 2019. Soil amendment with sewage sludge affects soil prokaryotic community composition, mobilome and resistome. Fems Microbiology Ecology 95,14.

28. Savin, M., Bierbaum, G., Kreyenschmidt, J., Schmithausen, R. M., Sib, E., Schmoger, S., et al., 2021. Clinically relevant Escherichia coli isolates from process waters and wastewater of poultry and pig slaughterhouses in Germany. Microorganisms, 9, 698.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9040698>