Environmental cycle of antibiotic resistance encoded genes: A systematic review

R. ghanbari[1], A. shahryari[2], E. Asgari[3], S. Hosseinpoor[4], J. Yeganeh[5], N. Salighehdar Iran[6], R. Aali[3,5]

[1] Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
[2] Environmental Health Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
[3] Cellular and Molecular Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
[4] Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
[5] Department of Environmental Health Engineering, Khoy University of Medical Sciences, Khoy, Iran
[6] Department of Health Education and Health Promotion, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Iran

Corresponding Address: Rahim Aali, Cellular and Molecular Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
Tel: +98-914-3476048, Email: Aali@hlth.mui.ac.ir
Received: 8 Apr 2017; Accepted: 5 Aug 2017

Abstract

Antibiotic-resistant bacteria and genes enter the environment in different ways. The release of these factors into the environment has increased concerns related to public health. The aim of the study was to evaluate the antibiotic resistance genes (ARGs) in the environmental resources. In this systematic review, the data were extracted from valid sources of information including ScienceDirect, PubMed, Google Scholar and SID. Evaluation and selection of articles were conducted on the basis of the PRISMA checklist. A total of 39 articles were included in the study, which were chosen from a total of 1249 papers. The inclusion criterion was the identification of genes encoding antibiotic resistance against the eight important groups of antibiotics determined by using the PCR technique in the environmental sources including municipal and hospital wastewater treatment plants, animal and agricultural wastes, effluents from treatment plants, natural waters, sediments, and drinking waters. In this study, 113 genes encoding antibiotic resistance to eight groups of antibiotics (beta-lactams, aminoglycosides, tetracyclines, macrolides, sulfonamides, chloramphenicol, glycopeptides and quinolones) were identified in various environments. Antibiotic resistance genes were found in all the investigated environments. The investigation of microorganisms carrying these genes shows that most of the bacteria especially gram-negative bacteria are effective in the acquisition and the dissemination of these pollutants in the environment. Discharging the raw wastewaters and effluents from wastewater treatments acts as major routes in the dissemination of ARGs into environment sources and can pose hazards to public health.

Keywords: Antibiotic resistance genes, Water and wastewater resources, Environmental pollution
Citation: Ghanbari R, Shahryari A, Asgari E, Hosseinpoor S, Yeganeh J, Salighehdar Iran N, Aali R. Environmental cycle of antibiotic resistance encoded genes: A systematic review. J Qazvin Univ Med Sci. 2018; 21 (5): 55-71.

چرخش محیطی ژن‌های کُدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی: یک مرور سیستماتیک

دکتر رضا قنبری[۱]، دکتر علی شهریاری[۲]، اسرافیل عسگری[۳]، سعید حسین‌پور[۴]، دکتر جابر یگانه[۵]، نیلوفر سلیقه‌دار ایران[۶]، دکتر رحیم عالی[۳و۵]

[۱] گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
[۲] مرکز تحقیقات بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
[۳] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[۴] گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[۵] گروه مهندسی بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی خوی، خوی، ایران
[۶] گروه آموزش بهداشت و ارتقاء سلامت دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۰۹۱۴۳۴۷۶۰۴۸
تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۴

چکیده

باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک از طرق مختلف به محیط زیست وارد می‌شوند. انتشار این عوامل بـه محـیط زیسـت باعـث افـزایش نگرانی‌های مرتبط با سلامت عمومی شده است. در مقاله حاضر ژن‌های کُدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در منابع محیطی مورد بررسـی قـرار گرفتـه اسـت. در ایـن مـرور سیسـتماتیک داده‌هـا از ۱۲۹۴ مقالـه، ۳۹ مقالـه از منابـع اطلاعاتـی معتبـر شامـل؛ PubMed ،Science Direct، Google Scholar و SID استخراج و انتخاب مقالات براساس چک لیست پریزما انجام شد. معیار ورود به مطالعـه شناسـایی ژن‌هـای کُدکننـده مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به هشت گروه مهم آنتی‌بیوتیکی با استفاده از تکنیک PCR در منابع محیطی اعم از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و بیمارستانی، زایدات حیوانی، کشاورزی، پساب خروجی تصفیه‌خانه‌ها، آب‌های طبیعی، رسـوبات و آب‌هـای آشـامیدنی بـود. در ایـن بررسـی ۱۱۳ ژن کُدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به هشت گروه آنتی‌بیوتیکی (بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین‌ها، ماکرولیدها، سولفونامیدها، کلرامفنیکل، گلیکوپپتید و کینولون‌هـا در محـیط‌هـای مختلـف شناسـایی گردیـد. در همـه محـیط‌هـای مـورد بررسـی ژن‌هـای کُدکننـده یافـت شـد. بررسـی میکروارگانیسم‌های حامل این ژن‌ها نشان داد بسیاری از باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های گرم منفی در اکتساب و انتشار این آلاینده‌ها در محیط مـؤثر مـی‌باشـند. تخلیـه فاضـلاب خـام یـا پسـاب تصـفیه‌خانـه‌هـای فاضـلاب از زمینـه‌هـای اصـلی انتشـار ژن‌هـای مقـاوم بـه آنتـی‌بیوتیـک (Antibiotic Resistance Genes, ARGs) به منابع محیطی بوده و می‌تواند برای سلامت عمومی ایجاد خطر نماید.

کلیدواژه‌ها: ژن‌های کُدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی، منابع آب و فاضلاب، آلاینده‌های زیستی

مقدمه:

دغدغه اصلی ناشی از آزاد شدن آنتـی‌بیوتیـک‌هـا بـه محـیط زیسـت مـرتبط بـا توسـعه و انتشـار ژن‌هـا و باکتری‌های مقاوم در محـیط‌زیسـت مـی‌باشـد. مقاومـت می‌تواند از طریـق اجـزای ژنتیکـی از جملـه پلاسـمیدها، اینتگرون‌ها و ترانسپوزون‌ها و همچنین ژنوم باکتریـایی از بـاکتری‌هـای حامـل بـه بـاکتری‌هـای بیمـاری‌زا و از باکتری‌های بیماری‌زا بـه بـاکتری‌هـای محیطـی منتقـل شـود.[۱-۴] کسـب ژن‌هـای مقـاوم بـه آنتـی‌بیوتیـک (Antibiotic Resistance Genes) می‌تواند با افـزایش پتانسیل ماندگاری باکتری‌هـای بیمـاری‌زا و کـاهش اثـر آنتی‌بیوتیک‌ها همراه باشد. احتمالاً فاضلاب‌های تولیدی و پساب خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب بزرگ‌ترین منبـع تخلیه بـاکتری‌هـا و ژن‌هـای مقـاوم بـه محـیط زیسـت هستند.[۵]

بخـش اساسـی تصـفیه‌خانـه‌هـای فاضـلاب؛ حـذف آلاینده‌ها (آلاینده‌های آلی به‌عنوان ماده غذایی) به کمک میکروارگانیسم‌ها مـی‌باشـد. میکروارگانیسـم‌هـا در رونـد مصـرف مـواد آلـی (بـه‌عنـوان سوبسـترا) در فراینـدهای بیولوژیک دارای تراکم بـالا بـوده و در تمـاس زیـادی بـا یکدیگر می‌باشند. فراینـدهای تصـفیه بیولوژیـک محـیط

مناسبی را برای انتقال ژن‌های کُدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین میکروارگانیسم‌ها و انتشار این عوامل ایجاد می‌کنند.[۶-۸] همچنین باکتری‌ها در فاضلاب‌های شهری در تماس مداوم با غلظت‌های زیر غلظت بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند. اثر متابولیسمی غلظت زیر بازدارندگی آنتی بیوتیک ها بر روی باکتری‌های محیطی مختصر بوده و منجر به ایجاد مقاومت می‌شود.[۹] تأسیسات تصفیه فاضلاب شهری (شامل فرایندهای مختلف؛ مکانیکی، بیولوژیکی، فیزیکی، شیمیایی و فیزیکی- شیمیایی) احتمالاً بر افزایش باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم آنتی‌بیوتیکی به طرق مختلف مؤثر بوده و منجر به تشدید انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی به داخل محیط زیست می‌شود[۷و۹] (شکل شماره ۱). وجود منابع غذایی فراوان (مواد آلی موجود در فاضلاب)، تماس زیاد باکتری‌ها به‌دلیل تراکم زیاد (ناشی از بازگردش بخشی از لجن دفعی)، شرایط دمایی مناسب، وجود باکتری‌های از قبل مقاوم شده از محیط‌های درمانی، وجود باکتری‌های بومی محیط مستعد دریافت مقاومت و فشار ناشی از واحد گندزدایی باعث افزایش سریع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌شود.[۱۰و۱۱]

در این راستا بسیاری از باکتری‌ها، مقاومت نسبت به چند آنتی‌بیوتیک را نیز کسب می‌کنند. منابع محیطی به‌ویژه منابع آبی از دریافت‌کنندگان اصلی ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق پساب خروجی از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب می‌باشند.[۱۲] این عوامل در محیط ماندگاری بالایی دارند و می‌توانند به‌صورت بین نسلی منتقل شوند.[۲] فرایندهای تصفیه آب به‌صورت کامل نمی‌توانند ARGs را حذف نمایند. برخی محققین حتی افزایش برخی از این عوامل را در فرایندهای تصفیه آب نیز گزارش نموده‌اند.[۱۳-۱۵] تحقیقات حضور این عوامل را در شبکه‌های توزیع آب شهری تأیید نموده است.[۱۲و۱۶] حضور ARGs در آب شرب و در نقطه مصرف، خطر جدی برای سلامت عمومی بوده و به‌عنوان یک آلاینده زیست محیطی مطرح می‌باشد.[۱۷و۱۸]

شکل ۱- جریان مداوم ARGs در چرخه بین انسان، محیط و هر کدام به تنهایی

تقریباً نسبت به همه گروه‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی در محیط زیست مقاومت وجود دارد. نکته مهم دیگر این که بسیاری از میکروارگانیسم‌ها نسبت به دو یا بیش‌تر از گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مقاوم می‌باشند. این موضوع یک مزیت انتخابی برای میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بوده و این عوامل می‌توانند علاوه بر ماندگاری، افراد در معرض را درگیر نمایند.[۹] متأسفانه مقاومت چندگانه در بین باکتری‌های موجود در محیط رایج است. نتایج مطالعات نشان داده که افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها با مقدار آنتی‌بیوتیک موجود در محیط دارای رابطه مستقیم است. به بیانی دیگر مقاومت ایجاد شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی که به مقدار بیش‌تری از طریق فاضلاب وارد منابع محیطی می‌شوند بیش‌تر مشاهده می‌شود. به‌هر حال غلظت بیش‌تر آنتی‌بیوتیک به معنی در معرض قرارگیری تعداد بیش‌تری باکتری در محیط است. لذا همان‌طور که قبلاً بیان شد تماس مداوم باکتری‌ها با یک آنتی‌بیوتیک باعث پاسخ طبیعی (ایجاد مقاومت) متقابل باکتری می‌شود.[۱۱و۱۹]

در این مرور سیستماتیک، ژن‌های مقاوم در منابع آب و فاضلاب اعم از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و بیمارستانی، زایدات حیوانی، کشاورزی، پساب خروجی تصفیه‌خانه‌ها، آب‌های طبیعی، رسوبات و آب‌های

آشامیدنی نسبت به هشت گروه مهم آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفته است.

❋مواد و روش‌ها:

در این مرور سیستماتیک، مقالات منتشر شده طی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۶ در پایگاه‌های اطلاعاتی Direct Science، PubMed، Google Scholar و SID بررسی شدند. ژن‌های کُدکننده مقاومت در منابع آب و فاضلاب اعم از تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری و بیمارستانی، زایدات حیوانی، کشاورزی، پساب خروجی تصفیه‌خانه‌ها، آب‌های طبیعی، رسوبات و آب‌های آشامیدنی نسبت به هشت گروه مهم آنتی‌بیوتیکی (بتالاکتام، آمینوگلیکوزید، تتراسایکلین، ماکرولید، سولفونامید، گلیکوپپتید و کینولون) مورد ارزیابی قرار گرفتند. کلیدواژه‌های Antibiotic resistance, antibiotic resistance genes, wastewater treatment, water treatment, hospital and municipal wastewaters, sludge, qualify PCR به‌صورت فارسی و انگلیسی جستجو گردید. از تعداد کل ۱۲۹۴ مقاله یافت شده، ۱۰۱ مقاله مناسب تشخیص داده شد. عنوان و چکیده مقالات مورد بررسی و در نهایت ۳۹ مقاله با رعایت اصول چک لیست پریزما وارد مطالعه گردید و مورد تجزیه و تحلیل واقع شدند. معیار ورود مقالات به مطالعه، بررسی ژن‌های کُدکننده حداقل در یکی از بخش‌های محیطی موردنظر با استفاده از تکنیک PCR و وجود متن اصلی مقاله بود.

❋یافته‌ها:

در مجموع طی این مرور سیستماتیک، ۱۱۳ ژن کُدکننده نسبت به هشت گروه آنتی‌بیوتیکی؛ بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها، تتراسایکلین‌ها، ماکرولیدها، سولفونامیدها، کلرامفنیکل، گلیکوپپتید و کینولون‌ها در محیط‌های متفاوت شناسایی گردید.[۲،۶،۱۱،۱۴،۱۶،۲۲و۲۸] ژن‌های کُدکننده مقاومت به تفکیک گروه‌های آنتی‌بیوتیکی با تأکید بر مبانی و مکانیسم مقاومت، منابع محیطی و همچنین جمعیت/گونه‌های میکروبی حمل‌کننده ژن‌های کُدکننده به‌ترتیب در زیر آورده شده است.

۱- بتالاکتام‌ها:

بتالاکتام‌ها از قدیمی‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های شناسایی شده و از پُرمصرف‌ترین آن‌ها می‌باشند.[۱۱و۱۷] افزایش مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند اثرات جدی منفی بر درمان و کنترل بیماری‌ها داشته باشد چرا که به دلیل پایین بودن سمیت، این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها برای بدن گزینه مطلوب می‌باشند.[۱۷و۲۰] کاربرد وسیع و طیف زیاد این خانواده باعث شده است که بسیاری از گروه‌های میکروبی نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دهند.[۱۱] مهم‌ترین و رایج‌ترین مکانیسم مقاومت، تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (Extended-Spectrum β-lactamases) می‌باشد. این مکانیسم در بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و منفی وجود دارد.[۱۱]

بررسی ۹ ساله در کشور نشان داده که این گروه آنتی‌بیوتیکی پُرمصرف‌ترین گروه آنتی‌بیوتیکی و متعاقب آن دارای بیش‌ترین مقاومت ایجاد شده است.[۲۱] ژن‌های کُدکننده مقاومت بتالاکتامی در محیط به‌صورت گسترده‌ای شناسایی شده است (جدول شماره ۱). ژن *bla*TEM (ژن کُدکننده مقاومت نسبت به کلاس A بتالاکتام‌ها) طی مطالعه‌ای در دریاچه ژنو شناسایی گردید. با توجه به استفاده از آب دریاچه برای شرب خطر انتقال این عوامل به انسان محتمل گزارش گردیده است.[۲۲] مطالعات عالی و همکارانش نشان می‌دهد ژن‌های کُدکننده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های این گروه (سفتازیدیم) در کشور دارای وفور بالایی در فاضلاب‌های شهری و بیمارستانی است.[۵و۲۳]

۲- آمینوگلیکوزیدها:

آمینوگلیکوزیدها عوامل ضدمیکروبی هستند که از طریق ممانعت از ساخت پروتئین و کاهش تمایل نفوذپذیری غشاء عمل می‌کنند. این آنتی‌بیوتیک‌ها اثر

تشدیدکنندگی با دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. چندین مکانیسم مقاومت برای آمینوگلیکوزیدها شناخته شده است: ۱- پمپ فعال ۲- کاهش نفوذپذیری ۳- تغییر ریبوزومی و ۴- غیرفعال‌سازی به‌وسیله آنزیم‌های آمینوگلیکوزیدی. این گروه آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی از جمله جنتامایسین را در بر می‌گیرد. صمدی و همکاران (۲۰۱۵) باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم به جنتامایسین را در محیط‌های مختلف محیطی در کشور شناسایی نمودند.[۳۲] گستردگی شناسایی این عامل به انعکاس استفاده از این آنتی‌بیوتیک جهت مصارف به‌ویژه درمانی برای انسان و حیوانات نسبت داده شده است.[۳۳]

برخی محققین ژن‌های کُدکننده مقاومت نسبت به جنتامایسین (از جمله *Aac*3-I) را در محیط‌های مختلف به افزایش فراوانی عناصر انتقال ژنتیکی مربوط می‌دانند.[۳۳] از طرفی مکانیسم غالب مقاومت نسبت به جنتامایسین غیرفعال‌سازی آنزیم عنوان شده است. در این راستا بیش از ۵۰ نوع آنزیم شناسایی شده است این آنزیم‌ها بر مبنای عمل بیوشیمیایی‌شان شامل؛ استیل ترانسفرازها، فسفوترانسفرازها و نوکلئوتید ترانسفرازها می‌باشند.[۴۰،۱۷و۴۱] این آنزیم‌ها توسط ژن‌های مختلف از جمله *Aac*، *Aph* و *Ant* (*Aad*) کُد می‌شوند. آنزیم‌های ذکر شده و ژن‌های کُدکننده در محدوده وسیعی از باکتری‌های ایزوله شده (آئرومونـاس، اشریشیا، ویبریو، سالمونلا و لیستریا) از محیط‌های بیمارستانی و آب‌های آلوده شناسایی شده‌اند.[۳۳،۲۹و۳۵]

ژن *Aac*3 کُدکننده آمینوگلیکوزید-N- استیل ترانسفرازها در جمعیت‌های میکروبی ایزوله شده از تأسیسات تصفیه فاضلاب، آب رودخانه و مناطق کشاورزی شناسایی شده است.[۴۲و۴۳] محققین طی مطالعات مختلف وجود ژن‌های کُدکننده مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها را در منابع محیطی کشور تأیید نموده‌اند.[۵و۳۲] ژن‌های مختلف کُدکننده مقاومت آمینوگلیکوزیدها در منابع مختلف در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱- ژن‌های مقاوم به بتالاکتام‌ها و آمینوگلیکوزیدها در منابع محیطی

نام ژن	منابع محیطی*	میکروارگانیسم‌های حامل	منبع
ژن‌های مقاوم به بتالاکتام‌ها			
ctx-m-32, *amp*C, ,*bla*PSE-1, $bla_{SHV,}$ *bla*TEM-1, *bla*OXA-1 *bla*OXA-2, *bla*OXA-10, *bla*OXA-30, ,*mec*A, *pen*A	ASP, SW,US, DW, NW, US, EW, SD, HW,VR,AR, AS	جمعیت‌های میکروبی، انتروباکتر، سالمونلا، آئرومونـاس، اشریشیاکلی و ویبریو، پلاسمیدpTB11، پلاسمید آئرومونـاس، پلاسمید pB8، پلاسمیدpTB11، استرپتوکوکوس، لیستریا	(۱۷و۳۱-۲۴)
ژن‌های مقاوم به آمینوگلیکوزیدها			
aacA, *aacA1*, *aac*A4, *aacA7*, *aac*A29b, *aac*C1, *aac*C2, *aac*C3, *aac*C4, *aad*A1, *aad*A2 *aad*A4, *aad*A5, *aadA10*, *aadA12*,*aad*A13, *aad*B, *aph*, *aphA*, *aph*A1, *aph*A2, *aphA-3*, *aph*D, *npt*II, *sat*1, *sat*2, *str*A, *str*B	ASP, NW, HW,VR,AR, US, EW, SD, DW,	جمعیت میکروبی، پلاسمیدpTB11، آئرومونـاس، سیترواکتر، شیگلا، اشریشیاکلی، پلاسمیدpB2، pB3، پلاسمیدpB8، لیستریا، سالمونلا، ویبریو، پلاسمید pB4، پلاسمید pB4، pB10	(۳۱-۳۹و۲۹،۲۷،۲۶)

*Hospital Wastewater (HW): فاضلاب ناشی از بیمارستان‌ها، Veterinary Residues (VR): تولیدات حیوانی، Agricultural Region (AR): مناطق کشاورزی، Untreated Sewage (US): فاضلاب تصفیه نشده، Activated Sludge Process (ASP): لجن فعال و تصفیه‌خانه‌های فاضلاب، Effluent Wastewater (EW): پساب خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب، Natural Waters (NW): آب‌های طبیعی، Sediment Deposite (SD): رسوبات، Drinking Water (DW): آب آشامیدنی

۳- تتراسیکلین‌ها:

تتراسایکلین‌ها باعث مهار سنتز پروتئین در سلول باکتریایی می‌شوند. عنصر اصلی در این فرایند، انتقال آنتی‌بیوتیک (نیازمند صرف انرژی) از میان غشای سیتوپلاسمی است که منجر به تجمع آن در سلول می‌شود. درون سلول، آنتی‌بیوتیک به‌صورت برگشت‌پذیر به زیرواحد 30 S ریبوزومی در باکتری متصل و از این طریق باعث مهار سنتز پروتئین در باکتری می‌گردد. سمیت گزینشی این آنتی‌بیوتیک‌ها در نفوذپذیری متفاوت آن‌ها در برابر سلول‌های پستانداران و باکتری‌ها نهفته است که باعث عدم وجود یک سیستم انتقال مناسب می‌شود. تتراسایکلین‌ها در عمل، گستره ضدمیکروبی یکسانی دارند و تنها تفاوت در میزان فعالیت نسبت به این عوامل میکروبی و یا سایر میکروارگانیسم‌هاست.[۱۱] به‌عنوان یک قانون، مقاومت نسبت به هر یک از انواع تتراسایکلین‌ها نشان‌گر وجود مقاومت در برابر سایر انواع آن‌هاست. از انواع آن‌ها می‌توان کلروتتراسایکلین را نام برد که از اثر باکتریوستاتیکی در مقابل باکتری‌ها برخوردار است.[۴۴]

تتراسایکلین‌ها دارای فراوانی بالا در فاضلاب می‌باشند. این آنتی‌بیوتیک‌ها با اهداف انسانی، حیوانی و محیط زیستی در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در فاضلاب خام ورودی در ایالات متحده در محدوده ۱۰ تا ۶۰ نانوگرم در لیتر شناسایی شده‌اند. به‌صورت متعارف این آنتی‌بیوتیک‌ها در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب با میانگین ۶۰ درصد حذف می‌شود. این راندمان پس از تصفیه ثانویه و کلرزنی افزایش می‌یابد. گزارش‌های زیادی مبنی بر فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به تتراسایکلین در جمعیت‌های میکروبی و همچنین ژن‌های مقاوم ارایه شده است.[۴۵] باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و ژن‌های مقاوم باکتریایی مرتبط با تتراسایکلین در بخش‌های مختلف از جمله: منابع آبی، فاضلاب خام و پساب خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب یافت شده است.[۴۶و۴۷] عالی و همکاران (۲۰۱۴) و مونیر و همکاران (۲۰۱۱) غلظت بالایی از ژن‌های مقاوم به تتراسایکلین را در فاضلاب خام و پساب خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شناسایی نمودند[۴۷و۴۸] (جدول شماره ۲).

۴- ماکرولیدها:

این ترکیبات عموماً در مواردی که حساسیت به پنی‌سیلین‌ها مشاهده می‌شود مورد استفاده قرار می‌گیرند و جزو آنتی‌بیوتیک‌های بسیار بی‌خطر محسوب می‌شوند.[۱۱و۶۷] ماکرولیدها باعث مهار سنتز پروتئین‌های باکتری می‌شوند. اولین مرحله از فرایند سنتز پروتئین، رونویسی کُد ژنتیکی از DNA به mRNA است که این مرحله وابسته به RNA پلیمراز است. سنتز پروتئین در ریبوزوم انجام می‌گیرد. باکتری دارای ریبوز 80 S است که از دو زیر واحد 50 S و 30 S تشکیل شده است. در فرایند سنتز پروتئین در باکتری، 30S به mRNA و 50S به آمینواسیدها متصل می‌شود که به منطقه رشد زنجیر پپتیدی موسوم است. ماکرولیدها با اتصال به بخش 50 S باعث مهار سنتز پروتئین و مانع رشد زنجیر پپتیدی می‌شوند.[۶۸]

این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها بدون تغییر و با مقدار بیش از ۶۰ درصد مقادیر اولیه در فاضلاب ردیابی شده‌اند. در مکان‌هایی که استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها بالاست انتظار مقادیر بالایی را در فاضلاب می‌توان داشت. به‌عنوان نمونه در مناطق کشاورزی، دام‌پروری و دام‌داری با توجه به مصرف بالای آنتی‌بیوتیک اریترومایسین انتظار بالای وجود این آنتی‌بیوتیک وجود دارد.[۶۹] اریترومایسین که یکی از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده ماکرولیدها است می‌تواند به هر دو شکل فعال و غیرفعال در فاضلاب وجود داشته باشد.[۶۵] ماکرولیدها در فاضلاب خام ورودی به تصفیه‌خانه‌های ایالات متحده با غلظتی حدود ۱۰۰۰ تا ۱۵۰۰ نانوگرم در لیتر شناسایی شده است.[۷۰]

۵- سولفونامیدها:

سولفونامیدها معمولاً در منابع محیطی یافت می‌شوند.[۷۰] این آنتی‌بیوتیک‌ها حتی تا حدود ۸۰۰۰ نانوگرم در لیتر (سولفامتوکسازول) در فاضلاب‌های خام در چین شناسایی شده‌اند. مشخص شده است

تصفیه‌خانه‌های فاضلاب راندمان مناسبی در حذف این آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. به‌عنوان نمونه راندمان حذف ۱۰۰ درصدی سولفامتوکسازول نیز گزارش شده است.[۷۱] همچنین تحقیقی نشان داده که حذف سولفامتوکسازول به روش راکتور غشایی بیولوژیکی (Membrane Bioreactor) به pH بستگی دارد (PH=۵-۹). سولفونامیدها تا حدی تمایل به جذب لجن دارند. هضم بی‌هوازی لجن عملکرد خوبی برای حذف سولفومرازین داشته است (راندمان بالای ۹۷ درصد). نقطه هدف توسط سولفونامیدها از جمله سولفامتوکسازول (SMX) سنتز دی هیدروپتروات می‌باشد.[۷۲]

مقاومت به سولفونامیدها اغلب به‌وسیله کُد کردن موتاسیون بر روی ناحیه فوق‌العاده محافظت شده از ژن *sul* است.[۷۳] انواع مختلفی از مکانیسم‌ها برای القای مقاومت به سولفونامیدها یافت شده‌اند که براساس تغییر در ژن *sul* و همراهی عناصر متحرک انجام می‌شود.[۷۳-۷۵] ژن *sul1* در باکتری‌های مختلف محیطی یافت شده است.[۴۹،۷۶و۷۷] این ژن به‌عنوان بخشی از کلاس اینتگرون ۱ است. اینتگرون‌ها عناصر ژنتیکی هستند که شامل تعدادی ژن و محل الحاق ویژه برای سیستم‌های نوترکیبی می‌باشند که آن‌ها را قادر می‌سازد تا کاست‌های ژنی متحرک را به‌دست آوردند و می‌تواند به‌صورت انتقال افقی در بین گونه‌های مختلف باکتریایی در فاضلاب و دیگر محیط‌های آبی منتشر شود.[۳۴،۳۵و۷۸] فراوانی بالای این ژن می‌تواند ناشی از فراوانی بالای عناصر ژنتیکی در فاضلاب و همچنین نقش اینتگرون کلاس ۱ باشد (جدول شماره ۲).

جدول ۲- ژن‌های مقاوم به تتراسایکلین، ماکرولیدها و سولفونامیدها در منابع محیطی

نام ژن	منابع محیطی*	میکروارگانیسم‌های حامل	منبع
ژن‌های مقاوم به تتراسایکلین			
*tet*A,,*tet*B, *tet*C, *tet*D, *tet*E, *tet*G, *tet*H, *tet*J, *tetX*, *tet*Y, *tet*Z, *tet*33, *tet*39, *otr*B, *tet*M, *tet*O, *tet*Q, *tet*S, *tet*T, *tet*W, *otr*A, *tetU*	US, EW, ASP, DW, NW, SD, HW,VR,AR	جمعیت میکروبی، آلکالیژنز، آرتروباکتر، کوموناس، اشریشیاکلی، لیستریا، آئروموناس، سودوموناس، سالمونلا و ویبریو، آفیپیا، بورخولدریا، سراتیا، استافیلوکوکوس، برویباکتریوم، سودوآلترموناس، فلاووباکتریوم، پروتئوس، ویوترسیلا، اسیدیووراکس، اسینتوباکتر، اکتینومیست، دیتزیا، لئوکوباکتر، مایکوباکتریوم، اسینتوباکتر، استرپتومیسیت، باسیلوس لاکتوکوکوس، پنی‌باسیلوس، شیوانلا، اسپوروسارسینا، لاکتوکوکوس	(۲۹،۳۱،۴۳و۶۱-۴۸)
ژن‌های مقاوم به ماکرولیدها			
mph, mph(A), ph(B), ermA, ermB, ermC, ermE, ermF, ermT, ermV, ermX, mef(A), mefE , mefI	EW, HW,VR,AR ASP	جمعیت میکروبی، پلاسمیدpRSB101، انتروکوکوس باسیلوس، انتروکوکوس	(۵۰،۳۴و۶۵-۶۲)
ژن‌های مقاوم به سولفونامیدها			
dfrII, dfrV, dfrA1, dfrA5, dfrA7, dfrA12, dfr13, dfrA15, dfr16, dfrA17, dfr18, dfrA19, sulI, sulII, sulIII, sulA	ASP, NW, HW, VR,AR, DW, EW, SD	جمعیت میکروبی،آئروموناس، اشریشیا، سالمونلا، ویبریو، لیستریا pB2، پلاسمید، pB3 , pB8 , pB10 , آسینتوباکتر	(۵۰،۵۹،۳۴و۶۶)

* مخفف منابع محیطی در جدول شماره ۱ آورده شده است

۶- کلرامفنیکل:

این ترکیب در ابتدا از محیط کشت طبیعی در سال ۱۹۴۷ استخراج و جداسازی شد. این ترکیب باعث مهار سنتز پروتئین در باکتری‌ها و در تعداد محدودی در سلول‌های یوکاریوتی می‌شود.[۱۱] این آنتی‌بیوتیک به زیر واحد 50 S ریبوزوم باکتری به‌صورت برگشت‌پذیر متصل شده و مانع از اتصال آمینواسید انتهایی به tRNA در نواحی فعال در زیر واحد 50 S ریبوزوم می‌شود. این آنتی‌بیوتیک گستره فعالیت وسیعی شامل باکتری‌های هوازی، بی‌هوازی، گرم مثبت و منفی است.[۷۹] مقاومت در برابر کلرامفنیکل اغلب با حضور پلاسمیدی که منجر به تولید آنزیم کلرامفنیکل استیل ترانسفراز می‌شود توضیح داده می‌شود. این آنزیم با استیله کردن آنتی‌بیوتیک مانع از اتصال آن به بخش 50 S ریبوزوم می‌شود. این ترکیب آنتی‌بیوتیکی ذاتاً سمی بوده و در کاربرد آن باید احتیاط را رعایت نمود.[۱۱] مطالعات مختلف محیطی حاکی از حضور ژن‌های کُدکننده نسبت به این گروه آنتی‌بیوتیکی در محیط‌های آبی، فاضلاب خام و تصفیه شده و حتی شبکه توزیع آب شهری است.[۸۰]

۷- گلیکوپپتیدها:

از این گروه، وانکومایسین از آنتی‌بیوتیک‌های مهم در درمان عفونت‌های انتروکوکی بیمارستانی است.[۸۴] نگرانی از ورود ژن‌های کُدکننده مقاومت نسبت به این عوامل به محیط باعث مطالعات زیادی در این زمینه شده است. وانکومایسین باعث مهار سنتز غشای سلول باکتریایی می‌شود. برخلاف آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام که منجر به مهار مرحله سوم سنتز پپتیدوگلیکان می‌شوند، وانکومایسین باعث ایجاد اختلال در مرحله دوم ساخت غشای باکتری می‌شود. وانکومایسین، واکنشی که واحد تکرارشونده غشای سلولی از غشای فسفولیپیدی سیتوپلاسمی جدا شده و به پپتیدوگلیکان‌های موجود متصل می‌شود را متوقف می‌کند.[۱۱] در ضمن این آنتی‌بیوتیک منجر به آسیب پروتوپلاست‌ها از طریق تأثیر بر غشای سیتوپلاسمی از مسیر مهار سنتز RNA می‌شود. این آنتی‌بیوتیک تنها بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثر بوده و حتی در برابر سویه‌هایی از باکتری استافیلوکوک اورئوس که مقاوم به متی‌سیلین و سفالوسپورین‌هاست به‌خوبی عمل می‌کند. علت عدم تأثیر این آنتی‌بیوتیک بر باکتری‌های گرم منفی، عدم نفوذپذیری غشای خارجی آن‌ها نسبت به وانکومایسین است.[۲۱] مطالعات محیطی از جمله بررسی رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) وجود ژن‌های کُدکننده مقاومت به وانکومایسین را در فاضلاب‌های شهری کشور تأیید نمود.[۸۵]

۸- کینولون‌ها:

کینولون‌ها طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی را در بر می‌گیرند که کاربردهای انسانی و حیوانی دارند. مکانیسم کینولون‌ها، اثر بر آنزیم DNA ژیراز و توپوایزومراز IV است. این آنتی‌بیوتیک‌ها با مهار DNA جیراز باعث مهار همانندسازی می‌شوند.[۸۶] مطالعات محیطی وجود این آنتی‌بیوتیک‌ها را تأیید نموده است. این آنتی‌بیوتیک‌ها به‌راحتی تجزیه نمی‌شوند. راندمان حذف این آنتی‌بیوتیک‌ها از مرحله آبی طی تصفیه فاضلاب در سوئد تا ۸۰ درصد هم گزارش شده است. حذف این آنتی‌بیوتیک‌ها توسط روش لجن فعال تا ۴۴ درصد گزارش شده است.[۷۰و۸۷] یک دسته از آنتی‌بیوتیک‌های مهم این گروه فلوروکینولون است که برای درمان عفونت‌های ادراری استفاده می‌شود. میزان بالای مصرف باعث رهاسازی مقدار زیادی از این آنتی‌بیوتیک‌ها به محیط می‌شود.[۸۸] ژن‌های کُدکننده مقاومت مربوط به این گروه آنتی‌بیوتیکی در منابع محیطی مورد بررسی و شناسایی واقع شده است (جدول شماره ۳).

جدول ۳ – ژن‌های مقاوم به کلرامفنیکل، گلیکوپپتیدها و فلوروکینولون در منابع محیطی

نام ژن	منابع محیطی*	میکروارگانیسم‌های حامل	منبع
ژن‌های مقاوم به کلرامفنیکل			
cmlA, cmlA1, cmlA5, catB2, catB3, catB6, catB7, catB8, catI, catII, catIII, catIV, floR, cat-TC	ASP, HW, VR, AR, DW	پلاسمید pB2، pB3 جمعیت میکروبی، پلاسمیدpTB11، آئرومونواس، سودوالترومونواس، لیستریا، ویبریو، سالمونلا	(۸۱و۵۰،۳۸،۳۵،۵)
ژن‌های مقاوم به گلیکوپپتیدها			
vanA, vanB	DW, EW, NW, HW, VR, AR, UW	انتروکوکوس و استافیلوکوکوس	(۸۲و۲۴)
ژن‌های مقاوم به فلوروکینولون			
*qnr, qnrA3, qnrB1, qnrB4, qnrB7, qnr*S	ASP, HW, VR, AR, US, EW	جمعیت میکروبی، اشریشیاکلی، کلبسیلا، پلاسمید	(۸۳و۵۰،۶)

* مخفف منابع محیطی در جدول شماره ۱ آورده شده است

❋بحث و نتیجه‌گیری:

ضرورت پاسخ‌گویی به نیازهای درمانی انسانی، حیوانی و همچنین ارتقای کیفی و کمی نیازهای تغذیه‌ای، نه‌تنها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را کم نکرده بلکه افزایش نیز داده است. متأسفانه جنبه مثبت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها آن‌قدر عریض شده است که جنبه‌های منفی و یا دغدغه آفرین آن یا دیده نمی‌شود و یا امکان طرح آن نبوده است. به هرحال استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها و عدم حذف کامل باقی‌مانده آن‌ها در سیستم‌های تصفیه فاضلاب منجر به حضور این عوامل به محیط زیست شده است. آنتی‌بیوتیک‌های ورودی به محیط زیست باعث فشار بر اکوسیستم میکروارگانیسمی و ایجاد مقاومت در آن‌ها می‌شود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ساختار اکوسیستم محیطی را دچار تغییرات (به‌دلیل تأثیرپذیری متفاوت میکرو و ماکروارگانیسم‌های موجود در محیط) وسیع می‌کند. به هرحال ژن‌های مقاوم ناشی از موارد فوق به‌عنوان یکی از آلاینده‌های مهم محیطی شناخته می‌شوند. اثرات این آلاینده‌ها هم کوتاه‌مدت، بلندمدت، انسانی و حیوانی است و در واقع همه ارکان زیست‌بوم کره خاکی را در بر می‌گیرد.[۸۹] مهم‌ترین سد دفاعی در برابر حضور این آلاینده‌ها به محیط تصفیه‌خانه‌های فاضلاب هستند.[۸۰] در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب واحد گندزدایی بیش‌ترین نقش را در کاهش یا کنترل این عوامل دارد.[۹۰]

در حال حاضر فرایند گندزدایی در تصفیه‌خانه‌های فاضلاب بر مبنای استفاده از ترکیبات کلر می‌باشد. مطالعات نسبتاً مفصلی، اثر واحد گندزدایی با استفاده از کلر را بر ژن‌های کُدکننده مورد ارزیابی قرار داده‌اند. اثرات میکروب‌کشی کلر (گاز کلر یا هیپوکلریت) شامل؛ مکانیسم‌های اکسیداسیون جسم سلولی، تغییر نفوذپذیری سلول، تغییر پروتوپلاسم سلول، ممانعت از فعالیت آنزیمی و آسیب به DNA و RNA سلول است.[۹] کلر پیوند قوی با لیپید غشا ایجاد می‌کند و باعث تخریب آن می‌شود. مکانیسم‌های غالب گندزدایی به نوع میکروارگانیسم، مشخصه‌های فاضلاب و دز کلر بستگی دارد. متأسفانه باکتری‌های آسیب‌دیده به‌وسیله فرایندهای گندزدایی می‌توانند زنده بمانند و تحت غلظت پایین کلر مجدداً رشد کنند.[۹۱و۹۲] برخی محققین کاهش باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم در مقابل برخی اثر افزایشی این واحد گندزدایی را گزارش نموده‌اند.[۷۱]

مبتنی بر مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف دنیا، به نظر می‌رسد واحد متعارف گندزدایی با کلر، اطمینان لازم برای کنترل باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم را

ایجاد نمی‌کند.[۷۰] برخی مطالعه‌ها افزایش حذف باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها را با تغییر pH در واحد گندزدایی گزارش کرده‌اند که می‌تواند در حذف باکتری‌ها و ژن‌ها هم مؤثر باشد.[۹۳] روش‌های ترکیبی مانند استفاده از $H_2O_2+CL_2$، استفاده از ازن و فتوکاتالیزها (Tio_2) پیشنهاد شده‌اند. نتایج این بررسی‌ها توانمندی بالاتر روش‌های ترکیبی در کاهش یا حذف این آلاینده‌ها را نشان می‌دهد. استفاده از روش‌های پیشرفته احتمالاً بیش‌ترین تأثیر را در کاهش یا حذف این آلاینده‌ها دارد.[۴۷] محققین استفاده از پیش تصفیه فاضلاب‌های بیمارستانی با استفاده از روش‌های پیشرفته مثل؛ بیوراکتورهای غشایی و یا صافی‌های شنی تند را مناسب دانسته‌اند. این روش علاوه بر حذف باکتری‌ها و ژن‌های کُدکننده مقاومت می‌تواند آنتی‌بیوتیک‌های باقی‌مانده را نیز در حد بهینه حذف کند.[۴۸و۹۴]

لازم به ذکر است استفاده عملیاتی از روش‌های پیشرفته نیازمند مطالعات بیش‌تری است. علی‌رغم تلاش‌های بسیار برای جلوگیری از ورود ژن‌های مقاوم به محیط، این عوامل در منابع آبی شناسایی شده‌اند.[۹۵] تصفیه‌خانه‌های آب، سد دفاعی بسیار مهمی در جلوگیری از تماس باکتری‌های واجد ژن‌های کُدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی به انسان از طریق آب شرب می‌باشند.[۱۲و۹۶] در فرایندهای تصفیه آب تکیه بر کارایی و اثربخشی منعقدکننده‌ها، بهینه‌سازی فرایند فیلتراسیون، سیستم‌های ترکیبی گندزدایی و وجود ماده گندزدا با ماندگاری بالا در شبکه توزیع، از عوامل مؤثر در کنترل تماس باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم با انسان است.[۹و۹۷]

با توجه به اهمیت موضوع و این‌که در کشور ما در زمینه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در محیط تحقیقات زیادی صورت نگرفته، پیشنهادهای زیر می‌تواند در جهت توسعه مطالعات مرتبط مفید باشد:

– اثر فرایندهای تصفیه آب بر روی ARGs به‌صورت گسترده‌ای مورد ارزیابی قرار گیرد.

– اثر واحدهای متفاوت و همچنین فرایندهای مختلف تصفیه فاضلاب بر ARGs مورد بررسی قرار گیرد.

– نقش اجزاء ژنتیکی با قابلیت انتقال کُدهای ژنتیکی انتقال‌دهنده مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گیرد.

– مکانیسم‌های انتشار ژن‌های کُدکننده مقاومت، نحوه و میزان بیان آن‌ها در محیط بررسی شود.

– تغییرات و نوسانات ARGs از محیط‌های درمانی، فاضلاب‌های تولیدی، تصفیه‌خانه‌های فاضلاب، منابع محیطی تا فرایندهای تصفیه آب تا نقطه مصرف مورد بررسی قرار گیرند.

– اثر فرایندهای گندزدایی و همچنین سیستم‌ها تلفیقی مورد ارزیابی قرار گیرد.

– سیستم‌های تصفیه آب و فاضلاب در راستای کنترل این آلاینده‌ها ارتقا یابند.

– سیستم‌های گندزدایی بهینه‌سازی شوند.

– مطالعات کشوری در این زمینه برای ایجاد یک تصویر شفاف از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در محیط زیست انجام پذیرد.

– ارزیابی خطر تماس این آلاینده‌ها با استفاده از مدل‌های مناسب مورد بررسی قرار گیرد.

– مطالعات اپیدمیولوژیک با هدف سنجش اثرگذاری بلندمدت این آلاینده‌ها بر سلامتی افراد جامعه مورد بررسی قرار گیرد.

❋مراجع:

1. Kümmerer K, Alexy R, Hüttig J, Schöll A. Standardized tests fail to assess the effects of antibiotics on environmental bacteria. Water Res 2004; 38(8): 2111-6.

2. Bouki C, Venieri D, Diamadopoulos E. Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: a review. Ecotoxicol Environ Saf 2013; 91: 1-9. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.01.016.

3. Huang JJ, Hu HY, Lu SQ, Li Y, Tang F, Lu Y, et al. Monitoring and evaluation of antibiotic-resistant bacteria at a municipal

wastewater treatment plant in China. Environ Int 2012; 42: 31-6. doi: 10.1016/j.envint. 2011.03.001.

4. Hoa PT, Managaki S, Nakada N, Takada H, Shimizu A, Anh DH, et al. Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern Vietnam. Sci Total Environ 2011; 409(15): 2894-901. doi: 10.1016/j.scitotenv. 2011.04.030.

5. Aali R, Nikaeen M, Khanahmad H, Hassanzadeh A. Monitoring and comparison of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes in municipal and hospital wastewaters. Int J Prev Med 2014; 5(7): 887-94.

6. Rodriguez-Mozaz S, Chamorro S, Marti E, Huerta B, Gros M, Sànchez-Melsió A, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. Water Res 2015; 69: 234-42. doi: 10. 1016/j.watres.2014.11.021.

7. Szczepanowski R, Linke B, Krahn I, Gartemann KH, Gutzkow T, Eichler W, et al. Detection of 140 clinically relevant antibioticresistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics. Microbiology 2009; 155(Pt 7): 2306-19. doi: 10.1099/mic.0. 028233-0.

8. Abhirosh C, Sherin V, Thomas AP, Hatha AA, Mazumder A. Potential public health significance of faecal contamination and multidrug-resistant Escherichia coli and Salmonella serotypes in a lake in India. Public Health 2011; 125(6): 377-9. doi: 10. 1016/j.puhe.2011.03.015.

9. Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy MC, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. Sci Total Environ 2013; 447: 345-60. doi: 10.1016/j.scitotenv. 2013.01.032.

10. Shrivastava R, Upreti RK, Jain SR, Prasad KN, Seth PK, Chaturvedi UC. Suboptimal chlorine treatment of drinking water leads to selection of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Ecotoxicol Environ Saf 2004; 58(2): 277-83.

11.van Hoek AH, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJ. Acquired antibiotic resistance gene: an overview. Front Microbiol 2011; 2: 203. doi: 10.3389/fmicb. 2011.00203.

12. Xi C, Zhang Y, Marrs CF, Ye W, Simon C, Foxman B, et al. Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems. Appl Environ Microbiol 2009; 75(17): 5714-8. doi: 10.1128/AEM. 00382-09.

13. Stine OC, Johnson JA, Keefer-Norris A, Perry KL, Tigno J, Qaiyumi S, et al. Widespread distribution of tetracycline resistance genes in a confined animal feeding facility. Int J Antimicrob Agents 2007; 29(3): 348-52.

14. Ferreira da Silva M, Vaz-Moreira I, Gonzalez-Pajuelo M, Nunes OC, Manaia CM. Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant. FEMS Microbiol Ecol 2007; 60(1): 166-76.

15. Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D, Petit F. Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in Escherichia coli isolated from a densely populated estuary (Seine, France). FEMS Microbiol Ecol 2009; 68(1): 118-30. doi: 10.1111/j.1574-6941. 2009.00655.x.

16. Armstrong JL, Calomiris JJ, Seidler RJ. Selection of antibiotic-resistant standard plate count bacteria during water treatment. Appl Environ Microbiol 1982; 44(2): 308-16.
17. Zhang XX, Zhang T, Fang HH. Antibiotic resistance genes in water environment. Appl Microbiol Biotechnol 2009; 82(3): 397-414. doi: 10.1007/s00253-008-1829-z.
18. Aminov RI, Mackie RI. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. FEMS Microbiol Lett 2007; 271(2): 147-61.
19. Segawa T, Takeuchi N, Rivera A, Yamada A, Yoshimura Y, Barcaza G, et al. Distribution of antibiotic resistance genes in glacier environments. Environ Microbiol Rep 2013; 5(1): 127-34. doi: 10.1111/1758-2229. 12011.
20. Livermore DM. Are all beta-lactams created equal? Scand J Infect Dis Suppl 1996; 101: 33-43.
21. Noorbakhsh Sabet N, Japoni A, Mehrabani D, Japoni S. Multi-drug resistance bacteria in Qom hospitals, Central Iran. Iran Red Crescent Med J 2010; 12(4): 501-3.
22. Thevenon F, Adatte T, Wildi W, Poté J. Antibiotic resistant bacteria/genes dissemination in lacustribe sediments highly increased following cultural eutrophication of lake Geneva (Swizerland). Chemosphere 2012; 86(5): 468-76. Doi: 10.1016/j/ chemosphere.2011.09.048.
23. Aali R, Hosseinpoor S, shahryari A, Asgari E, mirhosseini Sh. Diversity of genes coding of antibiotic resistance in municipal wastewaters. Rahavard Salamat J 2016; 2(3): 1-14. [In Persian]
24. Volkmann H, Schwartz T, Bischoff P, Kirchen S, Obst U. Detection of clinically relevant antibiotic-resistance genes in municipal wastewater using real-time PCR (TaqMan). J Microbiol Methods 2004; 56(2): 277-86.
25. Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, Obst U. Detection of antibiotic-resistant badteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms, FEMS Microbiol Ecol 2003; 43(3): 325-35. doi: 10.1111/j.1574-6941.2003.tb01073.x.
26. Schlüter A, Heuer H, Szczepanowski R, Poler SM, Schneiker S, Pühler A, et al. Plasmid pB8 is closely related to the prototype IncP-1[beta] plasmid R751 but transfers poorly to Escherichia coli and carries a new transposon encoding a small multidrug resistance efflux protein. Plasmid 2005; 54(2): 135-48.
27. Moura A, Henriques I, Ribeiro R, Correia A. Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. J Antimicrob Chemother 2007; 60(6): 1243-50.
28. Srinivasan V, Gillespie BE, Lewis MJ, Nguyen LT, Headrick SI, Schukken YH, et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of Escherichia coli isolated from dairy cows with mastitis. Vet Microbiol 2007; 124(3-4): 319-28.
29. Tennstedt T, Szczepanowski R, Krahn I, Pühler A, Schlüter A. Sequence of the 68,869 bp IncP-1[alpha] plasmid pTB11 from a waste-water treatment plant reveals a highly conserved backbone, a Tn402-like integron and other transposable elements. Plasmid 2005; 53(3): 218-38.
30. Alpay-Karaoglu S, Ozgumus OB, Sevim E, Kolayli F, Sevim A, Yesilgil P. Investigation of antibiotic resistance profile and TEM-type β-lactamase gene carriage of ampicillin-resistantEscherichia coli strains isolated from drinking water. Ann Microbiol 2007; 57: 281-8. doi: 10.1007/BF03175221.
31. Cernat R, Balotescu C, Ivanescu D,

Nedelcu D, Lazar V, Bucur M, et al. Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant Escherichia coli strains isolated from drinking and recreational, salmaster waters. Int J Antimicrob Agents 2007; 29(Suppl 2): S274.

32. Samadi N, Aali R, Asgari E, Mirhosaeini H, Shahriari A, Mahmoodi F, et al. Identification of clinically antibiotic resistant genes Aac (3)-IIa and Aac (6')-Ib in wastewater samples by multiplex PCR. Environ Health Eng Manag J 2015; 2(2): 47-52.

33. Heuer H, Krögerrecklenfort E, Wellington EM, Egan S, van Elsas JD, van Overbeek L, et al. Gentamicin resistance genes in environmental bacteria: prevalence and transfer. FEMS Microbiol Ecol 2002; 42(2): 289-302. doi: 10.1111/j.1574-6941.2002. tb01019.x.

34. Mukherjee S, Chakraborty R. Incidence of class 1 integrons in multiple antibiotic-resistant Gram-negative copiotrophic bacteria from the River Torsa in India. Res Microbiol 2006; 157(3): 220-6.

35. Tennstedt T, Szczepanowski R, Braun S, Pühler A, Schlüter A. Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistace plasmids isolated from a wastewater treatment plant. FEMS Microbiol Ecol 2003; 45(3): 239-52. doi:10.1016/S0168-6496(03)00164-8.

36. Henriques IS, Fonseca F, Alves A, Saavedra MJ, Correia A. Occurrence and diversity of integrons and [beta]-lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. Res Microbiol 2006; 157(10): 938-47.

37. Zhu B. Abundance dynamics and sequence variation of neomycin phosphotransferase gene (nptII) homologs in river water. Aquat Microb Ecol 2007; 48: 131-40.

38. Poppe C, Martin L, Muckle A, Archambault M, McEwen S, Weir E. Characterization of antimicrobial resistance of Salmonella Newport isolated from animals, the environment, and animal food products in Canada. Can J Vet Res 2006; 70(2): 105-14.

39. Mohapatra BR, Broersma K, Mazumder A. Differentiation of fecal Escherichia coli from poultry and free-living birds by (GTG)5-PCR genomic fingerprinting. Int J Med Microbiol 2008; 298(3-4): 245-52.

40. Filipova M, Bujdakova H, Drahovska H, Lišková A, Hanzen J. Occurrence of aminoglycoside-modifying-enzyme genesaac (6′)-aph (2 ″), aph (3′), ant (4′) andant (6) in clinical isolates ofEnterococcus faecalis resistant to high-level of gentamicin and amikacin. Folia Microbiol (Praha) 2006; 51(1): 57-61.

41. Chandrakanth RK, Raju S, Patil SA. Aminoglycoside-resistance mechanisms in multidrug-resistant Staphylococcus aureus clinical isolates. Curr Microbiol 2008; 56(6): 558-62. doi: 10.1007/s00284-008-9123-y.

42. Park JC, Lee JC, Oh JY, Jeong YW, Cho JW, Joo HS, et al. Antibiotic selective pressure for the maintenance of antibiotic resistant genes in coliform bacteria isolated from the aquatic environment. Water Sci Technol 2003; 47(3): 249-53.

43. Szczepanowski R, Krahn I, Linke B, Goesmann A, Pühler A, Schlüter A. Antibiotic multiresistance plasmid pRSB101 isolated from a wastewater treatment plant is related to plasmids residing in phytopathogenic bacteria and carries eight different resistance determinants including a multidrug transport system. Microbiology

2004; 150(Pt 11): 3613-30.
44. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol Mol Biol Rev 2001; 65(2): 232-60.
45. Ding C, He J. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. Appl Microbiol Biotechnol 2010; 87(3): 925-41. doi: 10.1007/s00253-010-2649-5.
46. Hirsch R, Ternes T, Haberer K, Kratz KL. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Sci Total Environ 1999; 225(1-2): 109-18.
47. Munir M, Wong K, Xagoraraki I. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. Water Res 2011; 45(2): 681-93. doi: 10.1016/j.watres.2010.08.033.
48. Aali R, Nikaeen M, Khanahmad H, Hejazi Z, Kazemi M, Hassanzadeh A. Occurrence of tetracycline resistant bacteria and resistance gene(tetW) in hospital and municipal wastewaters. Fresenius Environ Bull 2014; 23(10a): 2560-6.
49. Srinivasan V, Nam HM, Nguyen LT, Tamilselvam B, Murinda SE, Oliver SP. environment of the USA. J Antimicrob prevalence of antimicrobial resistance genes in Listeria monocytogenes isolated from dairy farms. Foodborne Pathog Dis 2005; 2(3): 201-11.
50. Li N, Sheng GP, Lu YZ, Zeng RJ, Yu HQ. Removal of antibiotic resistance genes from wastewater treatment plant effluent by coagulation. Water Res 2017; 111: 204-212. doi: 10.1016/j.watres.2017.01.010.
51. Cheng W, Chen H, Su C, Yan S. Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: a comprehensive inverstigation in eastern China. Environ Int 2013; 61: 1-7. doi: 10. 1016/j.envint.2013.08.023.
52. Auerbach EA, Seyfried EE, McMahon KD. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. Water Res 2007; 41(5): 1143-51.
53. Nsofor CA, Iroegbu CU, Call DR, Davies MA. DNA microarray-based detection of antibiotic resistance genes of human isolates of Escherichia coli in Nigeria. J Bacteriol Res 2013; 5(6): 68-75. doi:10.5897/JBR2013.0120.
54. Jacobs L, Chenia HY. Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in Aeromonas spp. isolated from South African aquaculture systems. Int J Food Microbiol 2007; 114(3): 295-306.
55. Agerso Y, Sengelov G, Jensen LB. Development of a rapid method for direct detection of tet(M) genes in soil from Danish farmland. Environ Int 2004; 30: 117-22.
56. Nikolakopoulou TL, Egan S, van Overbeek LS, Guillaume G, Heuer H, Wellington EM, et al. PCR detection of oxytetracycline resistance genes otr (A) and otr (B) in tetracycline-resistant streptomycete isolates from diverse habitats. Curr Microbiol 2005; 51(4): 211-6.
57. Mackie RI, Koike S, Krapac I, Chee-Sanford J, Maxwell S, Aminov RI. Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. Anim Biotechnol 2006; 17(2): 157-76.
58. Suzuki S, Kobayashi T, Suehiro F, Tuyen BC, Tana TS. High Occurrence Rate of Tetracycline (TC)-Resistant Bacteria and TC Resistance Genes Relates to Microbial Diversity in Sediment of Mekong River Main Waterway. Microbes Environ 2008; 23(2): 149-52.

59. Aali R. Prevalence of antibiotic resistant genes in selected activated sludge processes in Isfahan Province, Iran. J Adv Environ Health Res 2016; 4(1): 49-53.
60. Pei R, Kim SC, Carlson KH, Pruden A. Effect of River Landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG). Water Res 2006; 40(12): 2427-35.
61. Chee-Sanford JC, Aminov RI, Krapac IJ, Garrigues-Jeanjean N, Mackie RI. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. Appl Environ Microbiol 2001; 67(4): 1494-502.
62. Zheng J, Sagar V, Smolinsky A, Bourke C, LaRonde-LeBlanc N, Cropp TA. Structure and function of the macrolide biosensor protein, MphR(A), with and without erythromycin. J Mol Biol 2009; 387(5): 1250-60. doi: 10.1016/j.jmb.2009.02.058.
63. Hayes JR, Wagner DD, English LL, Carr LE, Joseph SW. Distribution of streptogramin resistance determinants among Enterococcus faecium from a poultry production Chemother 2005; 55(1):123-6.
64. Chen J, Yu Z, Michel FC, Wittum T, Morrison M. Development and application of real-time PCR assays for quantification of erm genes conferring resistance to macrolides-lincosamides-streptogramin B in livestock manure and manure management systems. Appl Environ Microbiol 2007; 73(14): 4407-16.
65. Patterson AJ, Colangeli R, Spigaglia P, Scott KP. Distribution of specific tetracycline and erythromycin resistance genes in environmental samples assessed by macroarray detection. Environ Microbiol 2007; 9(3): 703-15.
66. Phuong Hoa PT, Nonaka L, Hung Viet P, Suzuki S. Detection of the sul1, sul2, and sul3 genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of north Vietnam. Sci Total Environ 2008; 405(1-3): 377-84. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.023.
67. Hamilton-Miller JM. Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. Bacteriol Rev 1973; 37(2): 166-9.
68. Drainas D, Kalpaxis DL, Coutsogeorgopoulos C. Inhibition of ribosomal peptidyltransferase by chloramphenicol. Kinetic studies. Eur J Biochem 1987; 164(1): 53-8.
69. Grundmann H, Klugman KP, Walsh T, Ramon-Pardo P, Sigauque B, Khan W, et al. A framework for global surveillance of antibiotic resistance. Drug Resist Updat 2011; 14(2): 79-87. doi: 10.1016/j.drup.2011.02. 007.
70. Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment - a review - Part I. Chemosphere 2009; 75(4): 417-34. doi: 10.1016/j. chemosphere.2008.11.086.
71. Pruden A, Larsson DG, Amézquita A, Collignon P, Brandt KK, Graham DW, et al. Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment. Environ Health Perspect 2013; 121(8): 878-85. doi: 10.1289/ehp. 1206446.
72. Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. Cell 2007; 128(6): 1037-50.
73. Sköld O. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. Drug Resist Updat 2000; 3(3): 155-60.
74. Huovinen P, Sundström L, Swedberg G, Sköld O. Trimethoprim and sulfonamide resistance. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(2): 279-89.

75. Antunes P, Machado J, Peixe L. Dissemination of a new gene cluster comprising sul3 (tnp-sul3-tnp) linked to class 1 integrons with an unusual 3′ CS region (qacH) among Salmonella isolates. Int J Antimicrob Agents. 2007; 29: S112-S3.
76. Agersø Y, Petersen A. The tetracycline resistance determinant Tet 39 and the sulphonamide resistance gene sulII are common among resistant Acinetobacter spp. isolated from integrated fish farms in Thailand. J Antimicrob Chemother 2007; 59(1): 23-7.
77. Akinbowale OL, Peng H, Barton MD. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia. J Appl Microbiol 2007; 103(5): 2016-25.
78. Moammadi F, Arabestani MR, Safari M, Roshanaii G, Alikhani MY. Prevalence of class1, 2 and 3 integrons among extensive drug resistance Acinetobacter baumanii strains isolated from intensive care units in Hamadan, west province, Iran. Iran J Med Microbiol 2014; 8(3): 8-14.
79. Falagas ME, Grammatikos AP, Michalopoulos A. Potential of old-generation antibiotics to address current need for new antibiotics. Expert Rev Anti Infect Ther 2008; 6(5): 593-600. doi: 10.1586/14787210.6.5. 593.
80. Baquero F, Martínez JL, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Curr Opin Biotechnol 2008; 19(3): 260-5. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05. 006.
81. Huys G, Bartie K, Cnockaert M, Hoang Oanh DT, Phuong NT, Somsiri T, et al. Biodiversity of chloramphenicol-resistant mesophilic heterotrophs from Southeast Asian aquaculture environments. Res Microbiol 2007; 158(3): 228-35.
82. Messi P, Guerrieri E, de Niederhäusern S, Sabia C, Bondi M. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) in meat and environmental samples. Int J Food Microbiol 2006; 107(2): 218-22.
83. Karah N, Poirel L, Bengtsson S, Sundqvist M, Kahlmeter G, Nordmann P, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6')-Ib-cr in Escherichia coli and Klebsiella spp. from Norway and Sweden. Diagn Microbiol Infect Dis 2010; 66(4): 425-31. doi: 10.1016/j. diagmicrobio.2009.12.004.
84. Varela AR, Ferro G, Vredenburg J, Yanık M, Vieira L, Rizzo L, et al. Vancomycin resistant enterococci: from the hospital effluent to the urban wastewater treatment plant. Sci Total Environ 2013; 450-451: 155-61. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.02.015.
85. Rahimi F, Talebi M, Saifi M, Pourshafie MR. Distribution of enterococcal species and detection of vancomycin resistance genes by multiplex PCR in Tehran sewage. Iran Biomed J 2007; 11(3): 161-7.
86.
86. Marti E, Balcázar JL. Real-time PCR assays for quantification of qnr genes in environmental water samples and chicken feces. Appl Environ Microbiol 2013; 79(5): 1743-5. doi: 10.1128/AEM.03409-12.
87. Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment–a review–part II. Chemosphere 2009; 75(4): 435-41. doi: 10.1016/j. chemosphere.2008.12.006.
88. Adachi F, Yamamoto A, Takakura K, Kawahara R. Occurrence of fluoroquinolones and fluoroquinolone-resistance genes in the aquatic environment. Sci Total Environ 2013; 444: 508-14. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012. 11.077.

89. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. Lancet Infect Dis 2013; 13(12): 1057-98. doi: 10.1016/S1473-3099(13) 70318-9.

90. Fuentefria DB, Ferreira AE, Corção G. Antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa from hospital wastewater and superficial water: Are they genetically related? J Environ Manage 2011; 92(1): 250-5. doi: 10.1016/j. jenvman.2010.09.001.

91. Rizzo L, Belgiorno V, Napoli RM. Regrowth evaluation of coliform bacteria injured by low chlorine doses using selective and nonselective media. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng 2004; 39(8): 2081-92.

92. Shrivastava R, Upreti RK, Jain SR, Prasad KN, Seth PK, Chaturvedi UC. Suboptimal chlorine treatment of drinking water leads to selection of multidrug - resistant Pseudomonas aeruginosa. Ecotoxicol Environ Saf 2004; 58(2): 277-83.

93. Li B, Zhang T. pH significantly affects removal of trace antibiotics in chlorination of municipal wastewater. Water Res 2012; 46(11): 3703-13. doi: 10.1016/j.watres.2012. 04.018.

94. Kovalova L, Siegrist H, Singer H, Wittmer A, McArdell CS. Hospital wastewater treatment by membrane bioreactor: performance and efficiency for organic micropollutant elimination. Environ Sci Technol 2012; 46(3): 1536-45. doi: 10. 1021/es203495d.

95. Fuentefria DB, Ferreira AE, Corção G. Antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa from hospital wastewater and superficial water: Are they genetically related? J Environ Manage 2011; 92(1): 250-5. doi: 10. 1016/j.jenvman.2010.09.001.

96. Ashbolt NJ, Amézquita A, Backhaus T, Borriello P, Brandt KK, Collignon P, et al. Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. Environ Health Perspect 2013; 121(9): 993-1001. doi: 10.1289/ehp. 1206316.

97. Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, et al. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. Nat Rev Microbiol 2015; 13(5): 310-7. doi: 10.1038/nrmicro 3439.