بررسی میزان آلودگی منابع آبی بیمارستانهای شهرخرم آباد به باکتری لژیونلا پنوموفیلا در سال 1387

سید حامد میرحسینی[1]، محسن محمدی[2]، مهدی بیرجندی[1]، بهرام کمره ای[1]، علی جعفری[1]، حسن حسین زادگان[3]، آلاله محرری[4]

1- مربی، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
2- مربی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
3- استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
4- کارشناس آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره یازدهم / شماره 2 / تابستان 88 / مسلسل 40

چکیده

دریافت مقاله: 87/3/17، ***پذیرش مقاله***: 88/5/12

Ø مقدمه: لژیونلا باکتری آبی گرم منفی و از عوامل شایع در بروز عفونتهای بیمارستانی است. محیطهای بیمارستانی از حیث ایجاد زمینه رشد، سیستم انتقال آئروسل و افراد در معرض خطر، مکانی با پتانسیل بالا جهت رشد و شیوع این عامل است. وجود درجه حرارت مناسب در مخازن آب و سیستم توزیع آب رشد این باکتری را تشدید می کند .هدف از این پژوهش بررسی حضور لژیونلا در سیستم توزیع آب بیمارستانهای شهر خرم آباد بوده است.

Ø مواد و روش ها: نمونه برداری با تناوب 15 روزه از مخازن آب سرد و گرم بیمارستانها و همچنین شیرهای برداشت آب گرم و سرد در بخشهایی از بیمارستان که آسیب پذیری بالاتری دارند انجام شد. هر یک از نمونه ها با استفاده از فیلتراسیون غشایی تغلیظ شدند و از هر نمونه 2 پلیت بر روی محیط کشت **BCYE** و انتخابی**GVPC** کشت داده شدند و رشد باکتریها در روزهای سوم، هفتم و دهم کنترل و ثبت شد.

Ø یافته ها: در مجموع از بین 240نمونه گرفته شده از 5 بیمارستان شهر خرم آباد 41/7 درصد نمونه ها مثبت بودند. درصد نمونه های مثبت بیمارستانهای شهدای عشایر، تأمین اجتماعی، توحید، عسلیان و مدنی به ترتیب: 68/8 ، 45/5 ، 33/3 ، 9/1 و 36/4 درصد بود و میانگین کلر باقیمانده نمونه ها به ترتیب برابر 52/38، 0/0، 0/46، 0/82 و 0/6 میلیگرم بر لیتر بودند. بیشترین نمونه های مثبت مربوط به سردوش آب گرم و کمترین مقدار مربوط به شیرهای آب سرد بوده اند.

Ø بحث و نتیجه گیری: با وجود اینکه همه بیمارستانهای شهر خرم آباد از آب تصفیه شده استفاده می نمایند اما از 240 نمونه جمع آوری شده 100 نمونه در بخشهای مختلف بیمارستان مثبت بودند نتایج بدست آمده ارتباط مستقیمی بین میزان کلر باقیمانده و حضور باکتری لژیونلا نشان می دهد به این ترتیب که در غلظتهای 0/6 میلیگرم در لیتر و بالاترکلر باقیمانده هیچ یک از نمونه ها مثبت نبوده اند. بنابراین معمولاً مقادیر کلر باقیمانده موجود در شبکه توزیع آب برای مقابله با لژیـونلا کافی نیست.

Ø واژه های کلیدی: لژیونلا، منابع آبی، بیمارستان، کلر باقیمانده، خرم آباد

آدرس مکاتبه: خرم آباد - گلدشت شرقی جنب بیمارستان تامین اجتماعی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی لرستان
پست الکترونیک: Hmirhossaini@gmail.com

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 10:52 +0430 on Thursday May 24th 2018

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 10:52 +0430 on Thursday May 24th 2018

مقدمه

لژیونلا پنوموفیلا باکتری گرم منفی و از عوامل شایع در بروز عفونتهای بیمارستانی است. مهمترین بیماریهای ناشی از این باکتری، بیماری لژیونلوزیس (ایجاد پنومونی) و بیماری تب پونتیاک(بدون پنومونی) است(1).

این باکتری از طریق آئروسلهایی که به هر طریق از منابع آب انتشار می یابند، منتقل می شود و سیستم تنفسی را درگیر می کند(2). محیطهای بیمارستانی از حیث ایجاد زمینه رشد، سیستم انتقال آئروسل و افراد در معرض خطر مکانی با پتانسیل بالا جهت رشد و شیوع این عامل می باشد(3). شبکه توزیع آب بدلیل ایجاد زمان ماند و وجود نقاط کور و وجود بیوفیلم میکروبی در سطوح داخلی لوله ها در شبکه توزیع مستعد رشد لژیونلا پنوموفیلا می باشد. از مهمترین دلایلی که باعث توجه به این باکتری در محیطهای بیمارستانی شده است وجود افراد آسیب پذیر در مکانها می باشد. اگر چه هر فردی می تواند در معرض بیماریزایی این باکتری قرار گیرد، اما افراد بستری شده در بیمارستانها که دارای بیماریهای مزمن ایمنی مانند مبتلایان به سرطان، بیماران دیالیزی، مبتلایان به دیابت و ایدز و کسانی که پیوند کلیه شده اند و بطور کلی افرادی که سطح ایمنی آنها تضعیف شده است بیشتر در معرض خطرند(4). هدف از این تحقیق، شناسایی باکتری لژیونلا پنوموفیلا و عوامل مؤثر بر رشد آن در سیستم آب بیمارستانهای شهر خرم آباد می باشد.

مواد و روش ها

نمونه برداری با تناوب 15 روزه در طی دوره زمانی 6ماه انجام شد. روش نمونه برداری به صورت لحظه ای- زمانی بوده است. محلهای نمونه برداری مخازن آب گرم و سرد بیمارستانها و همچنین شیرهای برداشت آب گرم و سرد در بخشهایی از بیمارستانها بوده است که آسیب پذیری بالاتری دارند. در هر مرحله نمونه برداری چهار نمونه هر کدام مجموعاً به مقدار 5 لیتر در ظروف پلاستیکی استریل شده برداشت شده و به آزمایشگاه منتقل شد. پارامترهای pH (توسط کیت سنجش pH)، دما و کلر باقیمانده (توسط کیت DPD) و کدورت توسط (کدورت سنج پرتابل HACH) در محل نمونه برداری مشخص شدند. هر نمونه بلافاصله با استفاده از سیستم فیلتراسیون غشایی(Multi pore nylon membrane filters, pore size0.22-0.45) تغلیظ شد. پس از تغلیظ هر نمونه فیلتر آن از دستگاه فیلتراسیون جدا شده و درون 50 mlاز همان نمونه آب در یک ظرف استریل شده قرار گرفت تا بخوبی مخلوط شود و سپس از هر نمونه تغلیظ شده 10 ml جدا و باکتریهای مزاحم آن توسط بافر اسیدی (Hcl/Kcl=2.2) در حرارت 56 درجه سانتیگراد حذف شدند(6و5).

محیط کشت BCYE و GVPC مطابق پروتکل موجود ساخته شد(7). از هر نمونه آب دو پلیت کشت داده شد و در دمای 37 درجه سانتیگراد در حضور 5درصد CO2 گرمخانه گذاری شدند. و رشد لژیونلا پنوموفیلا در روزهای سوم، پنجم، هفتم و دهم کنترل و ثبت گردید. این کلنی ها به کمک اندازه، رنگ، نوع و خصوصیات بیوشیمیایی تشخیص داده شدند.

یافته ها

در این مطالعه توصیفی حضور باکتری لژیونلا در شبکه آب بیمارستانهای شهر خرم آباد مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع در طی این مدت 240 نمونه گرفته شد. درصد نمونه های مثبت و میانگین پارامترهای pH، کلر باقیمانده، دما و کدورت در جدول 1 آورده شده است. در مجموع از بین نمونه های گرفته شده 41/7 درصد نمونه ها مثبت بودند. آلودگی سیستم تهویه 33/4 و دوشهای حمام 21/8 درصد بود. که از این میزان 19/4 درصد مربوط به دوشهای آب گرم و 2/4 درصد مربوط به دوشهای آب سرد بود.

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 10:52 +0430 on Thursday May 24th 2018

جدول شماره1- مشخصات نمونه های گرفته شده در بیمارستانهای مختلف شهر خرم آباد

نام بیمارستان	درصد نمونه های مثبت	دما	کدورت	کلر باقیمانده	میانگین pH
عشایر	68/8	26/7±7/9	2/25±2/2	0/38±0/26	7/65±0/58
تأمین اجتماعی	45/5	28/8±3/7	2/64±2	0/52±0/24	7/67±0/45
توحید	33/3	29/1±6/7	1/5±1	0/46±0/17	7/46±0/25
عسلیان	9/1	30/4±9/1	2/54±1/7	0/82±0/17	7/85±0/2
مدنی	36/4	33/7±1	1/55±1/4	0/6±0/49	7/75±0/28

بحث و نتیجه گیری

این پژوهش نشان داد که علیرغم اینکه کلیه بیمارستانهای شهر خرم آباد از آب لوله کشی تصفیه شده استفاده می کردند لیکن 100 نمونه از کل نمونه های گرفته شده مثبت بودند که ممکن است بدلیل نوعی مقاومت بوده است. به نظر می رسد روشهای رایج تصفیه و گندزدایی آب برای پاکسازی شبکه آب ازباکتری لژیونلا کافی نیست.

نتایج اندازه گیری کلر باقیمانده نشان داد که کلر آزاد به میزان 0/6 mg/l برای از بین بردن این میکروارگانیسم در مخازن آب کافی بوده ولی تحت شرایطی باکتری می تواند در غلظتهای بالاتر نیز بخوبی مقاومت کرده و زنده بماند. این امکان وجود دارد که لژیونلا قبل از تشکیل کیست آمیب در آن پناه بگیرد و از آن به مثابه یک سنگر بیولوژیک برای تحمل شرایط کشنده محیط استفاده نماید(8). کلر فرار بوده و سریع در درون لوله از بین می رود بنابراین باید به میزان بیشتری تزریق شود و همچنین لژیونلا نسبت به کلر در حال مقاوم شدن است و کلر بیشتر اثر مهاری دارد. pH در کارایی ضدعفونی کننده ها مهم است و در محدوده 5-8/5 قابل قبول است. pH خیلی اسیدی یا خیلی بازی سبب نقص در هیپر کلریناسیون، یونیزاسیون مس- نقره و تأثیر بیوساید می گردد. از آنجایی که میانگین pH کلیه نمونه های گرفته شده در حد خنثی می باشد، بنابراین نمیتوان گفت که pH تأثیر بسزایی داشته باشد، لیکن توجه دقیق به pH در کلیه مراحله تصفیه اب ضروری است تا از گند زدایی رضایت بخش آب اطمینان حاصل شود. نتایج این مطالعه نشان داد که رشد باکتری لژیونلا در درجه حرارت های بالا (30-27 درجه سانتیگراد) افزایش می یابد و وجود درجه حرارت مناسب در مخازن آب گرم و سیستم توزیع آب گرم رشد این باکتری را تشدید می کند.

در مطالعه ای که توسط آقای حسینی و همکاران بر روی نمونه های آب گرم و سرد بخش پیوند اعضاء در بیمارستانهای تحت مطالعه انجام شد، مشخص گردید که 22 درصد نمونه ها حداقل به یک گونه لژیونلا آلوده بودند. همچنین از بین گونه های شناسایی شده لژیونلا پنوموفیلا 58% کل موارد را به خود اختصاص داده بود (6). بر اساس تحقیقی که بر روی تجهیزات کمک درمانی و منابع آبی مختلف در بیمارستانهای اهواز انجام شد، مشخص گردید که لژیونلا پنوموفیلا در 65% نمونه ها مثبت بوده است (9).

در تحقیقی روشهای مختلف ایزوله کردن و شناسایی باکتری لژیونلا بر روی 102 نمونه برداشت شده از آب دوشها بررسی شد. در این تحقیق از آب گرم و سرد 26 ساختمان با کاربری های متفاوت نمونه برداری صورت گرفت و مشخص گردید روش تصفیه گرمایی و استفاده از محیط کشت GVPC بیشترین کارایی را در ایزوله و شناسایی لژیونلا دارا می باشد (10).

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 10:52 +0430 on Thursday May 24th 2018

در مطالعه ای مشخص شد در فاصله سالهای 1980 تا 2002 میلادی، 4402 مورد از بیماری لژیونلوزیس در انگلیس و ولز ایجاد شده است که 24 مورد آن مربوط به عفونتهای بیمارستانی بود. سهم بیمارستانها در پنومونی ناشی از لژیونلا بین صفر تا 47% بوده است (11).

مطالعات نشان داده که استفاده از UV به عنوان گندزدا در کنترل لژیونلا مؤثر نیست و نیاز به دیگر عوامل مکمل مانند هیپر کلریناسیون و یا پاستوریزاسیون حرارتی می باشد (11).

در مطالعه ای ارتباط میان پارامترهای فیزیکی مانند دما و لژیونلا مورد بررسی قرار گرفت که مشخص شد بیشترین مقدار لژیونلا در 35- 30 در جه سانتی گراد بوده است (12).

در تحقیقی مقاومت کلنی های لژیونلا پنوموفیلا در سیستم آبرسانی بیمارستان و کارایی روشهای کنترل مورد بررسی قرار گرفت. در طی این مطالعه پس از شیوع لژیونلا پنوموفیلا (سرگروپ5 و 6) که در شبکه توزیع آب آشامیدنی رخ داد، مشخص گردید که این شیوع با کلونیزه شدن باکتریهای لژیونلا در شبکه مرتبط بوده است. این مشکل به وسیله نصب واحد گرمایی شوک دهنده در سیستم چرخش آب گرم و ایجاد حرارت زیاد(80 درجه سانتی گراد) و استفاده از روش Flush (شستشوی با فشار شبکه) مهار شد (13).

استفاده از آب شیر، سدیمانتها، رکود آب، ایجاد رسوب و حضور میکروارگانیسمهای همسفره آب سبب افزایش رشد لژیونلا و تهدید جدی بیماران می گردد. جایگاه دوش حمام گاهی موجب پنومونی به ویژه در بیمارستانها می شود. بعضی از مواد مانند لوله پلاستیکی سیاه در واشرهای شیر آب سرد و سر دوشهای پلاستیکی و حضور آمیب ها در سردوشها رشد لژیونلا ها را افزایش می دهند. لژیونلا هیدروفیلیک بوده و تمایل به تغلیظ در کف داشته و به آسانی می تواند بعنوان منبع آئروسل تا شعاع یک کیلومتر پخش شود. هرگونه اقدامی برای کنترل لژیونلا بایستی ایرادها و ضعف های فنی سیستم را هم در نظر بگیرد. رشد لژیونلا اغلب در جاهایی که آب ساکن است رخ می دهد، بعلاوه گندزداها نمی توانند خوب به این مناطق نفوذ کنند. لازمه موفقیت در کنترل لژیونلا این است که "پاهای مرده" (قسمت هایی از سستم توزیع آب که برای مدت های طولانی بدون استفاده می مانند) و عوامل ساختاری دیگری که باعث سکون آب می شود را از بین ببریم.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی لرستان می باشد، لذا از حمایتهای معاونت محترم پژوهشی آن دانشگاه و پرسنل محترم بیمارستانهای شهر خرم آباد کمال تشکر و قدردانی را داریم.

Downloaded from yafte.lums.ac.ir at 10:52 +0430 on Thursday May 24th 2018

References

1. Joklik WK Willet HP, Amos DB. Zinseer Microbiology. 20 th ed. Appleton-centery-croft. 1990
2. Leoni E, Legnani PP. Compartion of selective Procedures for isolation and enumeration of legionella species fro hot water systems. Journal of Applied Microbiology 2001; 90: 27-33
3. Finegold SM, Baron EJO. Bailey and Scott Diagnostic Microbiology. 11th ed..The C.V.Mosby company. 2002
4. Uzel A, Uçar F. Prevalence of Legionella pneumophila serogroup1 in water distribution systems in Izmir province of Turkey. APMIS, 2005; 113: 664–669
5. Miamoto H. Development of a New Seminested PCR Method for Detection of Legionella Species and Its Application to Surveillance of Legionellae in Hospital Cooling Tower Water. Applied and Environmental Microbiology, 1997: 2489-2494
6. Sameti H, Hosseini Doust R, Seal LD. Isolation of Legionnaires' Disease Bacterium from Hospital Water Supplies (Transplant Units) Kowsar med j; 1999; (3): 145-50 (In Persian)
7. Kreig RN, Holt GJ. Bergey Manual of systemathic Bacteriology 20 th edition, Williams and wikins, London. 1984: 4279-4288
8. Muraca PW, Yu VK. The Legionella pneumophila promotes growth at low tempreture. J Bacteriol. 2004: 186(12): 3712-3720
9. Moosavian SM. Divan Khosro Shahi N. Survey of Legionnaires' disease Agents in Therapeutic Equipments and Drinking Water Sources in Ahwaz, Iran; 2004; 12 (51): 38-43 (In Persian)
10. Mohabbati Mobarez A, Hosseini Doust SR. Influence of Intracellular Condition on Outer Membrane Proteins and Lipopolysacharide of L. pneumophila, Yakhte Med J; 2001; 10(2): 71-79 (In Persian)
11. Kim BR, Anderson JE. Literature review efficacy of various disinfectants again Legionella in water systems, Water Research. 2002; 36: 4433–4444
12. O'Neil E, Humphreys H. Surveillance of hospital water and primary prevention of nosocomial legionellosis: what is the evidence, Journal of Hospital Infection. 2005; 59: 273–279
13. Bing-Mu Hsu, Chien-Hsien Chen. Legionella prevalence in hot spring recreation areas of Taiwan, Water Recerch. 2006; 40: 3267–3273
14. Perola O, Kauppinen J, Kusnetsov J. Persistent Legionella pneumophila colonization of a hospital water supply:efficacy of control methods and Amolecular epidemiological analysis, APMIS 2005; 113: 45–53