



## فراوانی آلودگی آب مصرفی بیمارستان‌های تهران با لژیونلا

داود اسماعیلی\*<sup>۱</sup>، دکتر اشرف محبتی مبارز<sup>۲</sup>، دکتر سیدرضا حسینی دوست<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۲</sup> استادیار باکتری شناسی، گروه باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۳</sup> دانشیار میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

### چکیده

زمینه: لژیونلا میکروارگانیسم آبی همه جایی است که توانایی بقاء در آب با درجه حرارت‌های مختلف را دارد. از ۴۹ گونه شناسایی شده، ۲۰ گونه باعث عفونت در انسان می‌شوند. آلودگی با لژیونلا در سیستم‌های توزیع آب بیمارستان‌ها دارای اهمیت می‌باشد. سیستم‌های تولید کننده آئروسل مانند لوله کشی آب، سردوش‌های حمام، برج‌های خنک کننده و نبولایزرها در انتقال این باکتری به بیماران بستری و دارای ضعف ایمنی نقش دارند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۱۱۳ نمونه از آب‌های ۳۲ بیمارستان در نواحی جغرافیایی مختلف سطح شهر تهران از واحدها و بخش‌های مختلف جمع‌آوری گردید. آب‌ها با استفاده از فیلتراسیون تغلیظ و بعد از تیمار اسیدی و حرارتی روی محیط کشت BCYE ایزوله گردیدند.

یافته‌ها: از ۳۲ بیمارستان مورد مطالعه، ۲۲ بیمارستان (۶۸٪ درصد) آلودگی به لژیونلا داشتند و در مجموع ۳۰ نمونه (۲۶/۵ درصد) از کل نمونه‌ها برای این ارگانیسم مثبت شناسایی شدند. میزان محدوده کلر نمونه‌های آب ۲/۲ - ۰/۱۸ میلی‌گرم در لیتر و pH آنها ۷/۶ - ۶/۶ بودند.

نتیجه‌گیری: میزان بالای آلودگی آب‌های مصرفی در بیمارستان‌های شهر تهران با لژیونلا نشانگر مقاومت این باکتری به کلر و سایر ضد عفونی کننده‌ها، یا ضد عفونی ناقص و یا عدم کفایت روش‌های رایج تصفیه و گندزدایی برای پاک‌سازی شبکه آب با این میکروارگانیسم می‌باشد. لذا شناسایی باکتری و کنترل آن در آب‌های بیمارستانی می‌بایست مدنظر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: لژیونلا، سیستم‌های توزیع آب، عفونت بیمارستانی، کلر

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱۱/۲۴ - پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۱/۲۴

\* تهران - تقاطع بزرگراه جلال آل احمد و شهید چمران - دانشگاه تربیت مدرس - دانشکده علوم پزشکی - گروه باکتری شناسی

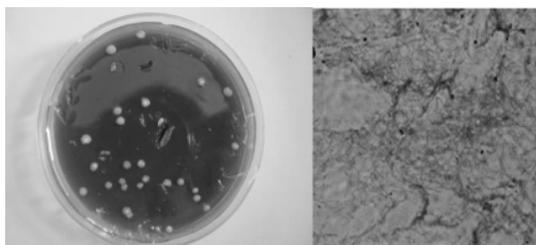
Email : Esmacili14@Yahoo.com

## مقدمه

به نقص سیستم ایمنی و نیز بیماران دریافت کننده اعضاء بیش از سایرین مورد تهدید جدی عفونت‌های لژیونلوز هستند. با توجه به اینکه انتقال مستقیم انسان به انسان تاکنون گزارش نشده است، بنابراین قطع زنجیره انتقال این عفونت اغلب بر اساس شناسایی کانون‌های اپیدمیولوژیک و نابودی آنها متمرکز شده است. از طرفی، شناسایی کانون‌های عفونت بیماری مستلزم شناسایی گونه‌های مختلف لژیونلا در نمونه‌های محیطی است (۵ و ۶). بیماران بستری در بیمارستان در ریسک بالای لژیونلوزیس هستند. یکی از منابع معمولی لژیونلا در بیماران بستری شده در بیمارستان از طریق دوش حمام، سیستم‌های خنک کننده، تهویه مطبوع و آب آشامیدنی می‌باشد. از سایر منابع آلوده کننده می‌توان به سوندهای بینی، مرطوب کننده‌ها، وسایل درمانی تنفسی (نبولایزر و ماسک‌ها) نیز اشاره نمود (۳-۱). کلونیزاسیون سیستم‌های آبی توسط گونه‌های لژیونلا در بیمارستان‌های سراسر جهان وجود دارد. در بیمارستان‌هایی که بیماران ایمونوساپرس معالجه می‌شوند سیستم‌های آب گرم باید عاری از لژیونلا باشند (۴). در یک جمعیت بیمارستانی همیشه بیمارانی وجود دارند که به عفونت حساس بوده و این بیماران همیشه در ریسک بالای لژیونلوزیس هستند (۹-۷). تشخیص اولیه لژیونلوزیس و حالات اپیدمیک در داخل بیمارستان‌ها نه تنها برای درمان صحیح و مؤثر بلکه برای کنترل و ممانعت از بروز بیماری ضروری می‌باشد (۱۲-۱۰). به واسطه نسبت بالای مرگ و میر بیماری لژیونر و میزان شیوع مقاومت به ضد عفونی‌کننده‌های گوناگون جهت جلوگیری از انتشار گونه‌های لژیونلایی در محیط بیمارستان باید اقدامات مؤثری صورت گیرد. هدف

لژیونلا یک باکتری هتروتروفیک شایع در شبکه آب‌رسانی می‌باشد که به طور طبیعی در آب‌های تازه یافت می‌شود. این باکتری به طور پلانکتونی در آب یا بیوفیلم‌ها زنده می‌ماند و از طریق تشکیل آئروسول در سیستم‌های آبی وارد ریه انسان شده و پنومونی ایجاد می‌نماید. سیستم‌های آب گرم محیط ایده‌آلی برای رشد زیاد باکتری است. سروتپ ۱ لژیونلا پنوموفیلا مسئول تقریباً ۷۰ درصد از تمامی عفونت‌ها و سروگروپ ۶ در مقام دوم قرار دارد (۱ و ۲). نود درصد از پنومونی‌های لژیونلایی توسط لژیونلا پنوموفیلا و ۱۰ درصد باقی‌مانده تنها توسط دو گونه لژیونلا میکدادی و لژیونلا بوزمانی ایجاد می‌شود (۱). لژیونلوزیس به شکل تک‌گیر یا همه‌گیر انتشار جهانی دارد. فاکتورهای خطر ساز در بیماری لژیونلوز مرتبط با بیمار و محیط می‌باشند. لژیونلا یک ارگانسیم آبی است که از طریق آب آلوده به صورت آئروسول در هوا منتشر می‌شود. دستگاه تهویه مطبوع بیش از همه سبب ایجاد بیماری می‌شود. لژیونلا در خاک، آب‌های شیرین دریاچه‌ها و رودخانه‌ها، به مقدار فراوان در سیستم‌های تهویه هوا و مخازن آب سرد و دوش آب گرم حمام گزارش شده است (۳). دوش حمام گاهاً موجب اپیدمی پنومونی لژیونلایی در بیمارستان‌ها می‌شود. دستگاه‌های بخور (حاوی آب آشامیدنی) و مخازن چرخشی آب نیز ممکن است منشاء انتشار ارگانسیم توسط ذرات آلوده در هوا باشد (۴). عفونت‌های بیمارستانی را با استفاده از آب شیر، نبولایزر، دوش حمام، دستگاه بخور آب، آب بن ماری و استفاده از خرده‌های یخ توسط بیماران تحت عمل قلبی برای بهبودی تشنگی نشان داده‌اند. افراد پیر و سالخورده، معتادان به الکل و مواد مخدر، بیماران مبتلا

با کشت تشخیص داده شد (تصویر ۱ و ۲).



تصویر ۱: لژیونلا ایزوله شده از نمونه آب بیمارستانی در روی محیط BCYE (سمت چپ)

تصویر ۲: اسمیر تهیه شده از لژیونلا روی محیط کشت کهنه با رنگ آمیزی گرم تغییر یافته در کشت کهنه لژیونلا به صورت فیلامنتوس دیده می شود (سمت راست).

میزان کلر شامل مقادیر ۰/۱۸، ۰/۲، ۰/۲۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۲/۲ بر حسب میلی گرم در لیتر اندازه گیری شد و میزان pH نیز مقادیر ۶/۶، ۶/۸، ۷/۲، ۷/۴ و ۷/۶ اندازه گیری شد. در این تحقیق از ۳۲ بیمارستان سطح شهر تهران ۲۲ بیمارستان (۶۸/۷ درصد) از نظر حضور لژیونلا مثبت بودند.

## بحث

در این بررسی ۲۶/۵ درصد نمونه های جمع آوری شده آب مصرفی بیمارستان ها به لژیونلا آلوده بودند. کلیه بیمارستان های مورد مطالعه از آب لوله کشی تصفیه شده استفاده می کردند. لذا روش های رایج تصفیه و گندزدایی آب برای پاک سازی شبکه آب از این میکروارگانیسم ممکن است کافی نباشد. کلر آزاد به میزان ۰/۴ میلی گرم در لیتر برای از بین بردن لژیونلا در مخازن آب کافی بوده (۱۳)؛ ولی تحت شرایطی باکتری توانسته حتی در برابر ۵ میلی گرم در لیتر کلر آزاد نیز به خوبی مقاومت کرده و زنده بماند (۱۴). این امکان وجود دارد که لژیونلا قبل از تشکیل کیست آمیب در آن پناه بگیرد و از آن به مثابه یک سنگر

این مطالعه بررسی فراوانی آلودگی آب های بیمارستانی نواحی جغرافیایی مختلف شهر تهران با لژیونلا می باشد.

## مواد و روش کار

نمونه ای از آب های ۳۲ بیمارستان در نواحی جغرافیایی مختلف تهران از واحدها و بخش های مختلف جمع آوری گردید. نمونه های آب سرد و گرم در ظروف تمیز ۵ لیتری عاری از آلودگی جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. هر نمونه بلافاصله با استفاده از سیستم فیلتراسیون غشایی (Nylon-membrane filters, Milipore, 0.45µm) تغلیظ شدند. پس از تغلیظ هر نمونه، غشاء مورد استفاده در ۵۰ میلی لیتر آب استریل قرار گرفت و تا زمان استفاده در یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محیط کشت BCYE آگار مطابق پروتکل های موجود ساخته شد (۵). از هر نمونه تغلیظ شده ۱۰ میلی لیتری برداشته شد و با بافر اسیدی (HCL/KCL, pH=2.2) در حرارت ۵۶ درجه سانتی گراد تیمار شدند (۵). از هر نمونه آب تیمار شده دو پلیت کشت داده و در ۳۷ درجه سانتی گراد در جار شمع دار انکوبه شدند. رشد لژیونلا در روزهای سوم تا چهارم کنترل و ثبت شد. کلنی های لژیونلا به کمک اندازه، رنگ، نوع و خصوصیات ویژه، اکسیداز، کاتالاز، هیپورات سدیم تشخیص داده شدند. علاوه بر این کلنی های رشد کرده مجدداً روی محیط اختصاصی BCYE غنی نشده کشت داده و پس از اطمینان از عدم رشد لژیونلا مورد تأیید قرار گرفت.

## یافته ها

در مجموع ۱۱۳ نمونه از واحدها و بخش های مختلف بیمارستان های تهران جمع آوری گردید. در بین نمونه های آب آزمایش شده مجموعاً ۳۰ مورد مثبت لژیونلا (۲۶/۵)

بیولوژیک برای تحمل شرایط کشنده محیط استفاده نماید (۱۳). این باکتری با داشتن سیستم ترشحی عمومی Tat سبب تشکیل بیوفیلم، رشد در شرایط فقر آهن و تکثیر داخل سلولی می‌شود. به واسطه ترشح RTXA از طریق سیستم ترشحی تیپ یک در ورود به پروتوزوا نقش دارد. همچنین به علت داشتن سیستم ترشحی تیپ دو توانایی رشد و تکثیر در درجه حرارت زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد را دارد. این باکتری به سبب داشتن لکوس ژنی helABC که افلوکس پمپ‌های میکروبی را در این باکتری کد می‌کند و همچنین ژن rcp مقاومت دارویی و ضد عفونی زیادی کسب نموده و دارای انتقالات ژنتیکی فوق‌العاده زیادی خصوصاً در محیط بیوفیلم هتروژنی می‌باشد (۷-۹). ویژگی‌های خاص این میکروارگانیسم سبب شده توجه خاصی به این باکتری مبذول گردد. روش‌های کنترل لژیونلا شامل ضد عفونی حرارتی، سیستم حرارتی فوری، هیپر کلریناسیون، مونوکلرامین، دی‌اکسیدکلرین، یونیزاسیون مس-نقره، استریلیزاسیون با اشعه اولتراویوله، فیلتراسیون، ماسک‌های بیمارستانی و ضد عفونی نبولایزرها می‌باشد. فیلتراسیون درست در کانال‌های هواساز و کارگزاری لامپ‌های UVC در داخل کانال‌های هواساز، جلوی فیلترها و کویلینگ کویل‌ها روش مناسب است (۱۵ و ۱۶). استفاده از کلر به میزان ۲-۱ میلی‌گرم در لیتر پیشنهاد می‌شود ولی با وجود این استفاده از کلر به میزان ۳-۵ میلی‌گرم در لیتر مؤثرتر است (۱۷). هیپر کلریناسیون مداوم با بیش از ۲ میلی‌گرم در لیتر باعث فرسایش لوله‌ها، خرابی سیستم‌های پمپاژ و وسایل آن و تشکیل تری‌هالومتان‌ها به عنوان فرآورده جانبی و هزینه زیاد می‌شود. غلظت کلر باقیمانده بین ۰/۶-۱ میلی‌گرم در لیتر مشکلاتی در ارتباط با مقبولیت آب ایجاد خواهد کرد (۱۴ و ۱۸).

کلر فرار بوده و سریع در درون لوله‌ها از بین می‌رود بنابراین باید به میزان بیشتری تزریق شود و همچنین لژیونلا نسبت به کلر در حال مقاوم شدن بوده و کلر بیشتر اثر مهاری دارد. مونوکلرامین نسبت به کلر پایداری طولانی‌تری داشته و کمتر باعث فرسایش لوله‌ها می‌شود. همچنین مؤثرتر از کلرین در نابودی لژیونلا در بیوفیلم بوده و بهتر در داخل بیوفیلم نفوذ می‌کند و تشکیل فرآورده‌های جانبی تری‌هالومتان‌ها و اسیدهای هالواستیک را کاهش می‌دهد (۱۴، ۱۹ و ۲۰). دی‌اکسید کلرین یک ماده شیمیایی گازی بوده دارای قدرت نفوذ در بیوفیلم، فرسایش کمتر و با کاهش تولید فرآورده‌های جانبی سمی بوده و بوی خاصی نداشته و در طیف وسیعی از pH مؤثر است (۱۵). این ماده به میزان ۰/۵-۰/۸ میلی‌گرم در لیتر نیاز بوده و سبب نابودی طولانی مدت این باکتری می‌شود. فرآورده‌های جانبی دی‌اکسیدکلرین شامل کلریت و کلرات از طریق اکسیداسیون به خون آسیب می‌رساند و علاوه بر این مصرف آب آشامیدنی تیمار شده با این ماده در دوران بارداری سبب یکسری ناراحتی‌ها و نارسائی‌ها در خانم‌های باردار می‌شود (۲۱). استفاده از فیلترهای باکتریولوژیک در سیستم‌های آب در بخش‌های بیمارستانی با خطر بالا مناسب می‌باشد. این فیلترها جهت حذف آلودگی آب شیر، لوله کشی‌ها و دوش حمام استفاده و باید به مدت یک هفته استفاده گردند (۲۲). pH در کارایی ضد عفونی کنندگی مهم می‌باشد و در محدوده ۵ تا ۸/۵ قابل قبول است. pH خیلی اسیدی یا خیلی بازی سبب نقص در هیپرکلریناسیون، یونیزاسیون مس-نقره و تأثیر بیوسایدها می‌گردد (۲۳). توجه دقیق به pH در کلیه مراحل تصفیه آب ضروری است تا از تصفیه و گندزدایی رضایت بخش آب اطمینان حاصل شود.

سیستم‌های تهویه آلوده به علت آلودگی آب یا سیستم‌های توزیع می‌باشد. جلبک‌ها، تک‌یاخته‌ها، سدیمان‌ها، درجه حرارت مطلوب در این سیستم‌ها سبب رشد و حفاظت این باکتری در شرایط استرسی می‌شوند. با توجه به اینکه سیستم‌های تهویه دارای کانال‌های ارتباطی به بخش‌های مختلف می‌باشند، لذا هر گونه آلودگی بیماران بستری در بیمارستان‌ها را با تهدیدی جدی مواجه می‌کند.

میزان بالای آلودگی با لژیونلا در بیمارستان‌های مورد مطالعه، نشانگر نوعی مقاومت یا ضد عفونی ناقص می‌باشد. برای کنترل این باکتری، روش‌های ضد عفونی کنندگی حرارتی، سیستم حرارتی فوری، هیپرکلریناسیون، مونوکلرآمین، دی‌اکسید کلرآین، یونیزاسیون مس-نقره، استرالیزاسیون با اشعه اولتراویوله و فیلتراسیون توصیه می‌شود.

کوتاهی در انجام این امر می‌تواند منجر به آلودگی آب و اثرات سوء بر روی بو، طعم و ظاهر آب شود. مقادیر خیلی زیاد pH می‌تواند ناشی از ریزش اتفاقی آلاینده‌ها، از کار افتادن سیستم تصفیه و اندودکاری داخل لوله‌ها با روکش‌های ملات سیمانی که به خوبی عمل‌آوری نشده‌اند باشد (۲۴). استفاده از آب شیر، سدیمان‌ها، رکود آب، ایجاد رسوب و حضور میکروارگانیسم‌های همسفره سبب افزایش رشد لژیونلا و تهدید جدی بیماران می‌گردد. بعضی از مواد مانند لوله پلاستیکی سیاه درواش‌های شیر آب سرد و سردوش‌های پلاستیکی و حضور آمیب‌ها در سردوش‌ها رشد لژیونلاها را افزایش می‌دهند. لژیونلا هیدروفوبیک بوده و تمایل به تغلیظ در کف داشته و به آسانی می‌تواند به عنوان منبع آئروسول تا شعاع یک کیلومتری پخش شود. اپیدمی‌های لژیونلوزیس توسط

## References:

1. Bondero TJ. An out breaks of legionnaires disease associated with a contaminated cooling tower. *New Eng J Med* 1980: 302; 365-70.
2. England AC, Fraser DW. Sporadic and epidemic nosocomial legionellosis in the United State, epidemiology features. *Am J Med* 1981:70; 707-11.
3. Pruckler MY. Comparison of Legionella pneumophila isolates by arbitrarily primed PCR and pulsed field gel electrophoresis analysis, analysis from seven epidemic investigation. *J Clin Microbiol* 1995: 33; 2872-5.
4. Janson DB. Antimicrobial and infectious disease new sletter. *Clin Microbiol Lab* 1997: 16; 73-7.
5. Kreig RN, Holt GJ. *Bergey Manual of Systematic Bacteriology*. 20th ed. London: Williams and wilkins, 1984, 279-88.
6. Friedman S, Spitanly K, Barbaree J.M, Faur Y, Kinney RM. Pontiac fever outbreak associated with a cooling tower. *Am J Publ Health* 1987: 77; 568-72.
7. Bachman MA, Michele S. The Let E protein enhance expression of multiple LetA/S-dependent transmission trials by Legionella pneumophila. *Infect Immun* 2004: 72; 3284-93.
8. Viswanathan VK. The Legionella pneumophila iraAB locus is required for iron assimilation, intracellular infection and virulence. *Infect Immun* 2000: 68; 1069-79.
9. Soderberg MA, Rossier O, Cianciotto NP. The Type II Protein Secretion System of Legionella pneumophila Promotes Growth at Low Temperatures. *J Bacteriol* 2004: 186; 3712-20.
10. Maiwald M. Comparison of polymerase chain reaction and convertional culture for the detection of Legionella in hospital water samples. *J Appl Bacteriol* 1994: 76; 216-25.
11. Kilvington S. and Price J. Survival of Legionella pneumophila within cysts of Acanthamoeba following chlorine exposure. *J Appl Bacteriol* 1990: 68; 519-25.
12. Markin T, Hart CA. The efficacy of control measures for eradicating Legionella in showers. *J Hosp Infect* 1990: 16;1-7.
13. Muraca PW, Yu VL, Goetz A. Disinfection of water distribution system for Legionella: A review of application procedures and

- methodologies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990; 11; 79-88.
14. Alary M, Joly J.R. Risk factors for contamination of domestic hot water systems by Legionellae. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57(10): 2360-7.
  15. Mooney J, Donaghy M. Legionella in hospital water systems - prevention and control measures. Conference Report - SCIEH Seminar Day 17th March 2004. SCIEH Weekly Report 2004; 38(40 supp.) (at: <http://www.documents.hps.scot.nhs.uk/ewr/supp/conference-report.pdf>).
  16. Zeming L, Janet JE, Tedesco L, et al. Efficacy of ultraviolet light in preventing Legionella colonization of a hospital water distribution system. *Water Res* 1995; 29: 2276-80.
  17. Helms CM, Massanari RM, Wenzel RP, et al. Legionnaires Disease associated with a hospital water system: A five year progress report on continuous hyper-chlorination. *JAMA* 1998; 279: 2423-7.
  18. Sabria M, Yu VL. Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. *Lancet Infect Dis* 2002;2:368-73.
  19. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:506-26.
  20. Kool JL, Carpenter JC, Fields BS. Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' disease. *Lancet* 1999;353:272-7.
  21. Sidari FP, Stout JE, VanBriesen JM, et al. Keeping Legionella out of water systems. *J Am Water Works Assoc* 2004;96: 111-9.
  22. Vonberg RP, Eckmanns T. Use of terminal tap water filter systems for prevention of nosocomial legionellosis. *J Hosp Infect* 2005; 60:159-62.
  23. Lin YS, Vidic RD, Stout JE, et al. Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling Legionella pneumophila. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:2711-5.
  24. Salvato JA. *Environmental Engineering and Sanitation*. 4th ed. US: John Wiley & Sons, 1992, 238-71.