Archive of SID

مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
سال یازدهم ، ضمیمه شماره اول بهار ۱۳۸۲ص ۳۸

مقایسه ی اثر کشندگی سه نوع ماده ضدعفونی کننده بر قارچهای فرصت طلب عفونت زای بیمارستانی

دکتر علی اصغر نجف پور [۱] ، دکتر محمد حسن احرام پوش [۲]

چکیده

عفونتهای بیمارستانی یا عفونت هایی که بیماران طی اقامت در بیمارستان گرفتار می شوند ، همواره به عنوان یکی از مشکلات و معضلات درمانی مطرح است . چنین عفونت هایی نسبت به درمان نیز مقاوم بوده و گاهی منجر به مرگ بیماران می شوند .میزان شیوع این عفونت ها رابطه مستقیمی با بهداشت بیمارستانها داشته و با توجه به اینکه بهترین شیوه ی مقابله با چنین عفونتهایی ، پیشگیری از آنها می باشد ، کاربرد روشهای صحیح ضدعفونی و گندزدایی مناسب ترین راه کنترل اینگونه عفونت ها محسوب می شود .در این تحقیق به منظور تعیین غلظت مناسب قارچ کشی ، سه ترکیب ساولون ، بتادین و دتول از سه گروه ترکیب شیمیایی آمونیوم کواترنر ، آلی ید دار و فنلی مورد ارزیابی قرار گرفتند .در آزمایشات از قارچ های آسپرژیلوس نایجر ، کاندیدا آلبیکنس و موکور که از بخشهای مختلف بیمارستان‌های دکتر علی شریعتی و بیمارستان سوانح و سوختگی شهید مطهری جداسازی شده بودند و از عوامل عفونتهای فرصت طلب قارچی محسوب میشوند ، استفاده گردید .به منظور انجام آزمایشا ت از روش رقیق سازی ارائه شده در نشریه استاندارد فرانسه به شماره NFT67-1500 و روش پیشنهادی AOAC مربوط به ارزیابی فعالیت قارچ کشی گندزدا ها و ضدعفونی کننده ها استفاده شد.به همین منظور غلظت های ۱/۵ تا ۷/۵ درصد ساولون ،۲/۵ تا ۷/۵ درصد دتول ،و ۱۰ درصد بتادین مورد بررسی قرار گرفت.پس از پایان مراحل تحقیق و با توجه به آزمون همبستگی پیرسون ارتباط معنی داری بین غلظت ضدعفونی کننده های مورد آزمایش و تعداد کلنی های باقی مانده پس از آزمون مشاهده گردید و بهترین غلظت قارچ کشی که با اطمینان بتواند هر سه نوع قارچ مورد آزمایش را از بین ببرد برای سه ترکیب ساولون ۷/۵٪ ، دتول ٤/۵٪ و بتادین ۱۰٪ انتخاب گردید .

واژه های کلیدی : ضدعفونی کننده ، گندزدا ،عفونت های بیمارستانی ، قارچ های فرصت طلب، آسپرژیلوس نایجر،کاندیدا آلبیکنس، موکور

مقدمه

عفونت های بیمارستانی در قرن نوزدهم و قبل از معرفی روشهای ضدعفونی و گندزدایی توسط لیستروسملوایس باعث مرگ و میر فراوانی شده و بیمارستان ها را به قربانگاه تبدیل کرده بود[۳] . پس از سالها تحقیق به همت پاستور بالاخره پزشکان به وجود عوامل میکربی پی برده و با رعایت اصول بهداشتی به تدریج از عفونت های بیمارستانی کاسته شد . با کشف پنی سیلین و سایر آنتی بیوتیک ها و مشاهده اثرات درخشان اولیه آنان بر روی میکروب ها ، توجه بیشتر به درمان معطوف گشت و اصول بهداشتی اهمیت کمتری یافت و همزمان سویه های میکروبی مقاوم به آنتی بیوتیک ها افزایش یافته و بدینگونه عفونت های بیمارستانی بصورت آندمیک در بیمارستانها ادامه پیدا کرد .

عفونتهای بیمارستانی از علل مهم بیماری ، مرگ و میر ، اتلاف هزینه ها و افزایش مدت اقامت بیماران در بیمارستانها میباشند . مطالعات انجام شده نشان می دهند که شیوع این عفونت ها حدود ٦

۱ـ استادیار گروه بهداشت محیط، دانشکده ابوریحان
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درما نی تهران
۲ـ استادیار گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درما نی شهید صدوقی یزد

www.SID.ir

Archive of SID

تا ۱۰ درصد است[٤]. اینگونه عفونت ها به سختی به درمان پاسخ داده و گاهی منجر به مرگ بیمار نیز می گردد و از طرفی با افزایش طول درمان باعث افزایش هزینه ها نیز خواهد شد . این در حالی است که با صرف هزینه های بسیار کمتر و با ارایه روشهای صحیح ضدعفونی و گندزدایی و رعایت اصول بهداشتی در داخل و اطراف بیمارستان می توان بسیاری از این عفونت ها را کاهش داد[۱۰] .

بخش عمده ای از عفونت های بیمارستانی را عفونت های قارچی تشکیل می دهند که از حدود ۲۰۰ سال قبل نیز شناخته شده اند[۵] . علاوه بر عفونتهای ناشی از قارچهای بیماریزا ، بسیاری از عفونت های قارچی بعلت عوامل فرصت طلب و ساپروفیت ایجاد می شوند که می تواند خود را با بافت های میزبان تطبیق داده و سلامتی بیمار را به مخاطره اندازند و یا ساکن طبیعی بدن بوده و در شرایطی که دفاع طبیعی میزبان مختل شده یا از بین برود قادر به ایجاد بیماری بوده به همین دلیل به آنها عوامل قارچی فرصت طلب گفته می‌شود[٦] .

با استفاده صحیح از گندزداها و ضدعفونی کننده ها و کاربرد غلظت مناسب آنها میتوان علاوه بر پیشگیری از مقاومت تدریجی اینگونه عوامل و کاهش هزینه ها ، از نابودی این عوامل اطمینان کافی داشت .

روش بررسی

این مطالعه طی یکسال و به صورت تحلیلی،کاربردی و در دو مرحله در بیمارستانهای دکتر شریعتی و سوانح سوختگی شهید مطهری تهران انجام شد . در مرحله اول از اتاقهای عمل ،آی سی یو و سی سی یو نمونه برداری انجام گرفت . نمونه ها از هوای اتاقها و از وسایل مختلف موجود در اتاقها شامل دستگاهها و وسایلی که بطور مستقیم با بیمار ارتباط پیدا می کنند و وسایلی که بطور غیر مستقیم در هنگام جراحی و بستری با فرد ارتباط پیدا میکنند و سایر وسایل موجود در اتاقها برداشت شدند .محیطهای کشت S , SC , BHI ساخت شرکت مرک و دیفکو جهت رشد اسپورهای قارچی مورد استفاده قرار گرفتند . پلیت های کشت داده شده سپس به آزمایشگاه منتقل ودر درجه حرارت ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد وبه مدت ٦-۲ روز نگهداری گردیدند .نمونه برداری از هوای اتاقها به این صورت انجام گرفت که پلیتهای حاوی محیط استریل در ارتفاع تخت بیماران قرار داده شده وبه مدت ۱۵ دقیقه درب آن باز میگردید .این زمان برای رسوب اسپورهاکافی است . سپس درب پلیت بطور کامل مسدود می شد .به منظور برداشت و کشت نمونه مربوط به وسایل ، دیوارها ، کف اتاقها ، لبه تخت و غیره توسط سواپ مرطوب روی این سطوح کشیده شده و سپس در پلیت حاوی محیط استریل کشت داده می شد و مشا به مرحله قبل به آزمایشگاه منتقل و نگهداری می گردید .

در مرحله دوم طرح با استفاده از نتایج مرحله قبل ، سه قارچ آسپرژیلوس نایجر و موکور ازانواع رشته ای و یک قارچ مخمری بنام کاندیدا آلبیکنس انتخاب گردیدند تا اثر سه ترکیب گندزدا ی ساولون از گروه ترکیبات آمونیوم کواترنر ، دتول از گروه ترکیبات فنلی و بتادین از گروه ترکیبات هالوژنه که در دو بیمارستان بطور مشترک استفاده می شدند، روی آنها مورد ارزیابی قرار گرفته و مؤثرترین غلظت این ترکیبات روی عوامل قارچی مشخص گردید . بر اساس روش استاندارد فرانسه[۷] و (AOAC8) امریکا غلظت مناسب هر گندزدا غلظتی است که بتواند در مدت ۵ دقیقه جمعیت قارچی را حداقل ۱۰۵ مرتبه کاهش دهد . به این منظور ابتدا غلظتهای کافی از اسپورها و سلولهای مخمری با استفاده از نمونه های اولیه و کشت در محیطهای در نظر گرفته شده بدست آمد . شمارش سلولهای قارچی با استفاده از لام هموسیتومتر توما درمورد سوسپانسیونهای قارچی تهیه شده از کشت خالص انجام گرفت که توسط آن سوسپانسیون مناسبی از کونیدی های آسپرژیلوس با غلظت ۱۰۷×۳ ، اسپورهای موکور با غلظت ۱۰۷×۲ و سلولهای مخمری با غلظت ۱۰۷×۸ عدد در میلی لیتر بدست آمد . سپس به منظور تعیین غلظت مناسب مواد گندزدا و ضدعفونی کننده ، غلظتهای مختلف این ترکیبات به سوسپانسیونهای قارچی افزوده شد. برای هر غلظت ۵تکرارانجام شد. با توجه به اینکه طبق روش استاندارد باید پس از مدت زمان ۵ دقیقه تاثیر ماده گندزدا روی

www.SID.ir

Archive of SID

عوامل قارچی قطع گردد[۷] ، به این منظورمواد خنثی کننده مناسب باید بعد از زمان ذکر شده به لوله های مورد آزمایش افزوده گردد. در آزمایشات ابتدا ۵ میلی لیتر از هر غلظت گندزدا به یک میلی لیتر از سوسپانسیون قارچی افزوده شده و بعد از ۵ دقیقه،جهت قطع تاثیرگندزدا مقدار ٤ میلی لیتر خنثی کننده مناسب به لوله آزمایش اضافه می گردید.

در پایان آزمایش بعد از کشت هر نمونه و پس از شمارش کلنی ها ، غلظتی از گندزدا که باعث کاهش 10^{5} مرتبه ویا بیشتر در کلنی های قارچی می گردید بعنوان غلظت مؤثر تعیین گردید .

نتایج

در مرحله اول این تحقیق در دو بیمارستان مورد مطالعه و از بخش های ذکر شده دو نوع نمونه برداری جهت تعیین قارچها از وسایل و هوای اتاقها انجام شد . در دو بیمارستان ٤٤٨ نمونه برداشت شد و با توجه به آنالیزهای آماری و آزمون مجذورکای اختلاف معنی داری بین فراوانی قارچهای یافت شده دو نوع بیمارستان وجود نداشت ، یعنی نوع بیمارستان تاثیری در شیوع قارچها نداشت . مقایسه بخشهای مورد مطالعه از نظر میزان شیوع قارچها در (جدول ۱)ارایه شده است .در مرحله دوم تحقیق، به منظور تعیین غلظت مناسب گندزداها سوسپانسیونهایی از سلولهای قارچی با غلظت ۳×۱۰۷ کونیدی آسپرژیلوس نایجر ، ۲×۱۰۷ اسپور موکور و ۸×۱۰۷ سلول مخمری کاندیدا آلبیکتس در میلی لیتر با استفاده از محیط کشت خالص شده بدست آمد .

با انجام آزمون استاندارد[۷] خنثی کننده مناسب برای ساولون مخلوط لسیتین و پلی اتیلن گلیکول،برای دتول مخلوط زرده تخم مرغ و توئین و برای بتادین تیوسولفات سدیم تعیین گردید.نتایج مربوط به این قسمت در (جدول ۲)نشان داده شده است.

بعنوان نتیجه گیری می توان گفت که حساس ترین عامل قارچی در برا بر عوامل گندزدا ،کاندیدا آلبیکتس می باشد و مناسب ترین گندزدا نیز جهت مصارف بیمارستانی بین گندزداهای مورد بررسی بتادین با غلظت ۱۰٪ می باشد .از طرفی غلظتهای توصیه شده ساولون(۳/۵درصد) و دتول (۲/۵)جهت مصارف بیمارستانی توانایی نابودی عوامل قارچی مورد بررسی را نداشته و باید از غلظت های بالاتر یعنی ساولون ۷/۵٪ و یا دتول ٤/۵٪ در موارد مورد نیاز استفاده کرد . نتایج مربوط به این قسمت در (جدول ۲)نشان داده شده است.

جدول ۱ - نتایج مربوط به نمونه های برداشت شده از بخش های مختلف بیمارستانهای مورد مطالعه

بخش / میکروارگانیسم	اتاق عمل		آی سی یو		سی سی یو		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
قارچها	۹٤	٤٦	٦۰	٤۳	٦۵	٦۱	۲۱۹
باکتری	۱٤	۷	۷	۵	۲	۲	۲۳
منفی	۹۵	٤۷	۷۲	۵۲	۳۹	۳۷	۲۰٦
جمع	۲۰۳	۱۰۰	۱۳۹	۱۰۰	۱۰۹	۱۰۰	٤٤۸

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ - نتایج مربوط به انتخاب بهترین خنثی کننده * افزوده شده برای سه گندزدای مورد آزمایش پس از ۵ دقیقه زمان تماس گندزداها

گندزداها / نمونه قارچی	ساولون		دتول		بتادین	
	خنثی کننده مناسب	میانگین تعداد کوئیدی فعال در میلی لیتر	خنثی کننده مناسب	میانگین تعداد اسپور فعال در میلی لیتر	خنثی کننده مناسب	میانگین تعدادسلول فعال در میلی لیتر
آسپرژیلوس نایجر	مخلوط لسیتین ۲٪ و پلی اتیلن گلیکول ۳٪	$۱/۷\times۱۰^{۷}$	مخلوط زرده تخم مرغ ۵٪ و تولین ٤٪	$۲/۱\times۱۰^{۷}$	تیوسولفات سدیم ۵٪	$۱/۹\times۱۰^{۷}$
موکور	مخلوط لسیتین ۲٪ و پلی اتیلن گلیکول ۳٪	$۱/۲\times۱۰^{۷}$	مخلوط زرده تخم مرغ ۵٪ و تولین ٤٪	$۱/٦\times۱۰^{۷}$	تیوسولفات سدیم ۵٪	$۱/٤\times۱۰^{۷}$
کاندیداآلبیکنس	مخلوط لسیتین ۲٪ و پلی اتیلن گلیکول ۳٪	$٤/۸\times۱۰^{۷}$	مخلوط زرده تخم مرغ ۵٪ و تولین ٤٪	$٤/۳\times۱۰^{۷}$	تیوسولفات سدیم ۵٪	$٦/٤\times۱۰^{۷}$

*خنثی کننده مناسب ترکیبی است که پس از ۵ دقیقه تماس گندزدا با سلولهای قارچی ، بیش از ۵۰ درصد سلولهای اولیه را از اثر کشندگی گندزدا محافظت کند.

جدول ۳ - بررسی غلظت های مختلف گندزداها روی قارچهای مورد آزمایش و میانگین کلنی های شمارش شده بعد از کشت به منظور تعیین غلظت موثر*

قارچ مورد آزمایش / گندزدای مورد آزمایش (غلظت بر حسب درصد)		آسپرژیلوس نایجر (تعداد کلنی در میلی لیتر)	موکور (تعداد کلنی در میلی لیتر)	کاندیدا البیکنس (تعداد کلنی در میلی لیتر)
ساولون	۱/۵	$۲/۷\times۱۰^{۷}$	$۱/۷\times۱۰^{۷}$	$*٦\times۱۰^{۵}$
	۳/۵	$۲/۲\times۱۰^{۷}$	$۱/۵\times۱۰^{۷}$	$٤/٦\times۱۰^{٤}$
	۵/۵	$۸/۸\times۱۰^{٦}$	$٤/۳\times۱۰^{٦}$	$۳/۳\times۱۰^{۲}$
	٦/۵	$۲/٤\times۱۰^{٦}$	$۳/۱\times۱۰^{٦}$	صفر
	۷/۵	$*۵/۵\times۱۰^{۵}$	$*۱/۲\times۱۰^{٦}$	صفر
دتول	۲/۵	$۲/۸۵\times۱۰^{۷}$	$۱/۸۱\times۱۰^{۷}$	$*۱/۱\times۱۰^{٦}$
	۳/۵	$۱/٦۸\times۱۰^{۵}$	$۱/۷٤\times۱۰^{۷}$	$۲/۸\times۱۰^{٤}$
	٤/۵	$*۹/۲\times۱۰^{۵}$	$*۱/۱\times۱۰^{٦}$	صفر
	۵/۵	$۲/۸۲\times۱۰^{۵}$	$۳/۸۳\times۱۰^{۵}$	صفر
بتادین	۱۰	$۳/۹\times۱۰^{٦}$	$۳/٤\times۱۰^{٦}$	$۱/۲\times۱۰^{۷}$

* **غلظت مؤثر :غلظتی از گندزدا که توانایی نابودی بیش از ۹۰٪ سلولهای قارچی اولیه را داشته است .**

بحث

بطور کلی بررسی آلودگی و درصد عوامل آلوده کننده در بخشهای مختلف بیمارستانها حایز اهمیت است که در این ارتباط توجه به بخشهایی نظیر I.C.U , C.C.U و اتاقهای عمل جایگاه ویژه ای دارد . براساس نتایج حاصله (جدول ۱) از ٤٤۸ نمونه مورد بررسی مربوط به وسایل و هوای اتاقها در بخشهای مورد بررسی شایعترین ارگانیسمهای جدا شده متعلق به قارچها می باشند که در بین آنها قارچهای رشته ای فراوانی بیشتری داشته اند . قارچهای رشته ای نظیر پنی سیلیوم ، کلاسپودیوم و آسپرژیلوس بطور گسترده ای در ایجاد عفونتهای فرصت طلب نقش دارند[۹] و از طرفی قارچهای مخمری نظیر کاندیدا ها و رودوتورولا نیز به عنوان عوامل فرصت طلب بیماران را مورد تهاجم قرار می دهند[۱۱] . در این مطالعه مشخص شد قبل از استریلاسیون بخشها ٤۹٪ رشد قارچی مثبت

www.SID.ir

Archive of SID

دیده می شود . به منظور تعیین غلظت مناسب گندزداها برای هر ترکیب خنثی کننده ای که بتواند ۵۰٪ عوامل قارچی را از گندزدا محافظت نماید انتخاب گردید[۷] . با توجه به اینکه طبق روش استاندارد ، بهترین غلظت گندزدا ، غلظتی است که بتواند در پایان آزمایش بیش از ۹۰٪ عوامل میکروبی را از بین ببرد ، برای گندزداهای مورد بررسی غلظتهای زیر مورد بررسی قرار گرفتند :غلظت ۳/۵٪ و ۵/۵٪ ساولون باعث کاهش تعداد کلنی های آسپرژیلوس نایجر و موکور به مقدار زیاد می شدند ولی چون این کاهش قابل قبول نبود ، بنابراین غلظتهای ٦/۵٪ و ۷/۵٪ نیز مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص گردید که غلظت ۷/۵٪ توانایی نابودی بیش از ۹۰٪ عوامل قارچی رشته ای را خواهد داشت.در مورد کاندیدا آلبیکتس غلظت ۱/۵٪ که از غلظت توصیه شده نیزکمتر است، توانایی کاهش بیش از ۹۰٪ عوامل را دارد.(P0.001)در مورد دتول غلظت ۲/۵٪ و ۳/۵٪ باعث کاهش تعداد کلنی های قارچهای رشته ای در حد قابل قبول نشده ولی غلظت ٤/۵٪ باعث نابودی بیش از ۹۰٪ این عوامل گردید. در مورد کاندیدا غلظت ۲/۵٪ توانایی کاهش بیش از ۹۰٪ سلولهای مخمری را دارد . (P(0.001).

در مورد بتادین غلظت ۱۰٪ موجود در بازار مورد بررسی قرار گرفت ولی با توجه به اینکه در آزمون اختلاط ۵ میلی لیتر گندزدا با ٤ میلی لیتر خنثی کننده و یک میلی لیتر سوسپانسیون قارچی ، غلظت اولیه گندزدا را به نصف کاهش می دهد ، بنابراین نتیجه آزمایش مربوط به غلظت ۵٪ می باشد . در این غلظت بتادین روی قارچهای رشته ای مورد آزمایش با توجه به عدم نابودی بیش از ۹۰٪ عوامل قارچی مناسب نیست ولی چون تعداد کلنی های تشکیل شده آسپرژیلوس حدود ۸۰٪ و موکور نیز ۸۵٪ کاهش یافته اند . میتوان قضاوت نمود که غلظت ۱۰٪ بتادین توانایی نابودی قارچهای رشته ای را خواهد داشت . درمورد کاندیدا غلظت مورد آزمایش کاهش بیش از ۹۰٪ سلولهای مخمری را باعث گردید . (P0.02)

www.SID.ir

References

1- H. Ruth Ashbee, Astrid K. ***Leck Skin Colonization by Malassezia in Neonates and Infants Skin Colonization by Malassezia in Neonates and Infants*** , Infection Control and Hospital Epidemiology, January 2001, Vol 23, Number 2, PP:32-38.

2- Dale R. Burwen ,Brent A.Lasker, ***Invasive Aspergillosis Outbreak on a Hematology*** - Oncology Ward,April 2000 , Volume 22, Number 1,PP:43-49.

3- Polly F. Harrison, Chapter 5,cost of antimicrobial resistance, Joshua Lederberg, Antimicrobial Resistance, USA, Institute of Medicine (IOM), 1998,pp:9-15

4-G. A. J. AYLIFFE, J. R. BABB, and Lynda j. Taylor , Infection control , Lynda J. Taylor, Hospital-Acquired Infection (Principles and Prevention) , USA, An Arnold Publication (previously Butterworth-Heinemann) ,1999 , Third Edition , PP:542- 680.

5- Larone DH. Medically Important Fungi. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 1995:274.

6-Kaplan JE, Masur H, Holmes KK, et al. USPHS/IDSA
Guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons infected with human immunodeficiency virus: Introduction. Clin Infect Dis 1995;21(suppl 1):1-11.

7- Daryl S. Paulson, ***Techniques for testing antibacterial compounds, Topical Antimicrobial Testing and Evaluation, Texas, Culinary and Hospitality*** Industry Publications Services, 1999 , pp: 65 101.

8- William Horwitz , chapter 3,1st Revision of the Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, Maryland ,AOAC International , 2000 ,150-180

9- Kustimur S, ***Nosocomial fungemia due to Trichosporon asteroides***: firstly described bloodstream infection, Diagn Microbiol Infect Dis. 2001Jun;43(2):167-70.

10- Gugnani HC, ***Ecology and taxonomy of pathogonic aspergilli***, frount Biosci, 2000 May,1;8:S 346-57.

11- Helmi M,Love RB, ***Aspergillus infection in long transplant recipients with cyslic Fibrosis***: risk factors and ***outcomes comparison to other typcs of transplant recipient\ls*** , Chest , 2003 Mar ; 123(3):800-8.

Archive of SID

www.SID.ir