Archive of SID

ORIGINAL ARTICLE

Correlation between Legionella Water Contamination and Microelements in Water Lines of Selected Hospitals in Tehran

Ali Mirmohamadlou[1],
Ghader Ghanizadeh[2],
Davoud Esmaeili[3]

[1] MSc in Environmental Health, Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran,Iran
[2] Associate Professor, Department of Environmental Health, Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Associate Professor, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received August 29, 2015 Accepted October 26, 2015)

Abstract

Background and purpose: Water microelements can influence the growth and colonization of *Legionella* and infections associated with these bacteria. This research investigated *Legionella* contamination of water regarding microelements, alkalinity and hardness in selected hospitals of Tehran.

Materials and methods: Hundred-fifty samples with 4 L volume were collected from cold and warm water system in three selected hospitals in Tehran. After determining the residual chlorine, pH and temperature, the samples were transferred to laboratory for filtration. *Legionella* culture was performed in supplemented $BCYE_a$ (approved as a gold standard technique for environmental samples). *Legionella* colonies were identified using biochemical and morphological tests. Microelements (Fe, Mn, Zn, Cu, Alk, and hardness) were determined by photometric method. Data was analyzed applying Kolmogorov-Smirnov, Mann-withny, Spearman's rank correlations, univariate and multiple logistic regression tests in SPSS V.15.

Results: Significant differences were seen in mean concentrations of all the microelements in positive and negative test of *Legionella* ($P<0.05$) except Cu ($P>0.05$). Spearman correlation implied a significant positive correlation between Fe, Mn, Zn, Alk, and hardness concentrations and *Legionella* density ($P<0.05$). Logistic regressions revealed that Mn concentration had the highest influence on *Legionella* occurrence (OR: 3.3).

Conclusion: Chemical quality of water influences its rate of *Legionella* contamination. Due to high densities of contamination, routine examination for *Legionella* detection and specific internal disinfection system in hospitals are advised to eradicate these bacteria.

Keywords: *Legionella*, microelements, water contamination, hospital

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(133): 245- (Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۳۳ بهمن سال ۱۳۹۴ (۲۵۴-۲۴۵)

ارتباط آلودگی آب به لژیونلا با عناصر جزئی در سامانه آب بیمارستان‌های منتخب تهران

علی میرمحمدلو[۱]
قادر غنی زاده[۲]
داود اسماعیلی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: عناصر جزئی آب می‌توانند در رشد و کلونیزاسیون لژیونلا و عفونت‌های مرتبط موثر باشند. هدف این مطالعه بررسی ارتباط آلودگی آب به لژیونلا با عناصر جزئی، قلیائیت و سختی کل در آب مصرفی بیمارستان‌های منتخب تهران بود.

مواد و روش‌ها: ۱۵۰ نمونه آب سرد و گرم با حجم ۴ لیتر از سه بیمارستان منتخب شهر تهران جمع‌آوری شد. نمونه‌ها بعد از اندازه‌گیری کلر باقیمانده و دما به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از فیلتر ۰/۴۵-۰/۲۲ میکرون تغلیظ شدند. کشت لژیونلا در محیط کشت غنی‌شده BCYE به عنوان روش استاندارد طلایی برای نمونه‌های محیطی انجام شد. کلنی‌های لژیونلا بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی و آزمایش‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. عناصر جزئی (آهن، منگنز، مس، روی، قلیائیت و سختی کل) به روش نورسنجی اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۵ نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های کولموگروف اسمیرنوف، من‌ویتنی، همبستگی اسپیرمن و رگرسیون لجستیک آنالیز شدند.

یافته‌ها: اختلاف میانگین غلظت آهن، منگنز، روی، قلیائیت و سختی در موارد رشد و عدم رشد لژیونلا از لحاظ آماری معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و با عنصر مس معنی‌دار نبود($p>۰/۰۵$). همبستگی اسپیرمن نشان داد که غلظت آهن، منگنز، روی، قلیائیت و سختی با تراکم لژیونلا همبستگی معنی‌دار و مثبت دارد($p<۰/۰۵$). هم چنین رگرسیون لجستیک نشان داد که غلظت منگنز بالاترین تاثیر را بر حضور لژیونلا دارد(OR: ۳/۳).

استنتاج: کیفیت شیمیایی آب بر میزان آلودگی لژیونلا مؤثر است. با توجه به تراکم بالای آلودگی، انجام آزمایشات روتین و استفاده از سامانه گندزدایی اختصاصی در بیمارستان برای شناسایی و حذف لژیونلا توصیه می‌شود.

واژه های کلیدی: لژیونلا، عناصر جزئی، آلودگی آب، بیمارستان

مقدمه

هر چند آب آشامیدنی تامین شده توسط سازمان‌های مسئول در نقطه تولید با استانداردهای تعیین شده از نظر کیفیت فیزیکی، شیمیایی و میکروبی مطابقت دارند اما تغییرات شیمیایی و کلونیزاسیون میکروبی در فرآیند توزیع باعث کاهش کیفیت آب در نقطه مصرف می‌شود(۱). افت کیفیت میکروبی اغلب به دلیل رشد

مولف مسئول: قادر غنی زاده– تهران: خیابان شیخ بهایی جنوبی، بن بست شهید نصرتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) E-mail: qanizadeh@yahoo.com
۱. کارشناسی ارشد مهندسی بهد اشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۲. دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران، ایران
۳. دانشیار، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۶/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۶/۱۴ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۸/۳

www.SID.ir

Archive of SID

میکروبی در لایه بیوفیلمی و در جداره داخلی لوله‌ها رخ داده و محل رشد و تکثیر پاتوژن‌های فرصت طلبی نظیر لژیونلا می‌باشد(۲). لژیونلا باکتری گرم منفی است که در منابع آبی طبیعی و مصنوعی مثل رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، استخرهای شنا، برج‌های خنک‌کننده و سیستم توزیع آب حضور دارد(۳). باکتری لژیونلا در بیماران بستری در بیمارستان از طریق سیستم‌های خنک‌کننده، تهویه مطبوع، دوش حمام و آب آشامیدنی باعث عفونت می‌گردد(۴،۳). گونه‌های لژیونلا به دلیل قرار گرفتن در لایه بیوفیلم و توانایی تکثیر در تک یاختگان پتانسیل مقاومت بالایی در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله عوامل گندزدا را دارند(۶،۵). گونه‌های لژیونلا عامل دو نوع بیماری مستقل کلینیکی شامل لژیونلوزیس (فرم شدیدی از پنومونی) و تب پونتیاک (نوعی بیماری خودمحدود شونده شبیه آنفولانزا) هستند. *لژیونلا پنوموفیلا* عامل بیماری لژیونلوزیس است که شیوع آن در محیط‌های بیمارستانی بین ۲۵ تا ۴۵ درصد و میزان مرگ و میر ناشی از ابتلا به این بیماری در موارد بیمارستانی ۳۰ درصد و در برخی منابع این میزان بیش از ۴۰ درصد گزارش شده است(۷). در مطالعات انجام گرفته دما و جریان آب، راکد بودن، جنس لوله‌ها و میزان خورندگی، تنش برشی آب و فلاشینگ در رشد لژیونلا بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند(۱). خصوصیات آب مانند غلظت عناصر جزئی کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته و تنها در چند مطالعه به آن‌ها پرداخته شده است که در این مطالعات نیز عدم بررسی اثرات هم زمان یا تاثیر تعدیل شده عناصر از مهم‌ترین محدودیت‌های این مطالعات بوده است(۹،۸،۳،۱). افزایش غلظت یون‌های آهن و روی در آب در نقطه مصرف نسبت به مقدار آن‌ها در نقطه ورود به شبکه توزیع ممکن است نشانگر پدیده خوردگی در سامانه آبرسانی از جنس آهن- روی باشد(۱). مطالعات بیوشیمیایی نشان داده است که باکتری لژیونلا برای رشد در محیط آزمایشگاهی به آهن نیاز دارد و این یون نقش مهمی در ویرولانسی باکتری لژیونلا دارد(۱۰). هم‌چنین توانایی *لژیونلا پنوموفیلا* برای تکثیر در داخل بدن میزبان به مقدار آهن وابسته است به طوری که دسترسی به آهن نقش کلیدی در بیماری زایی باکتری دارد(۱۱). متالوپروتئاز روی یک پروتئین ترشحی عمده توسط *لژیونلا پنوموفیلا* است و با پاتوژنسیتی لژیونلوزیس در ارتباط می‌باشد(۱). مس به عنوان یک عنصر گندزدا شناخته شده است و یونیزاسیون مس- نقره از جمله روش‌های موفق برای کنترل آلودگی آب به لژیونلا به شمار می‌آید(۱۲). اگرچه مستنداتی مبنی بر تاثیر منگنز در تشکیل بیوفیلم در شبکه توزیع وجود داشته و این عنصر برای رشد و بیماری زایی باکتری ضروری است اما اطلاعات کافی در خصوص نقش منگنز در رشد و بیماری زایی لژیونلا در دسترس نمی‌باشد(۱۳). با توجه به نقش لژیونلا در بیماری زایی و مرگ و میر به ویژه در بیماران با نقص ایمنی و این‌که مطالعات انجام شده در کشور تنها به شناسایی باکتری لژیونلا در آب مصرفی بیمارستان پرداخته‌اند و ارتباط آلودگی با کیفیت آب را بررسی نکرده‌اند، این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی منابع آب بیمارستان‌های منتخب شهر تهران به لژیونلا و ارتباط آن با عناصر جزئی (آهن، روی، منگنز، مس، قلیائیت و سختی کل) انجام گرفت تا با شناسایی وضعیت آلودگی و عوامل مؤثر بر آن بتوان برنامه‌های مناسبی برای کنترل این باکتری ارائه کرده و گام مؤثری در کاهش عفونت‌های ناشی از آن جهت حفظ و ارتقای سلامت بیماران برداشت.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی- تحلیلی در فصول زمستان و بهار ۱۳۹۳- ۱۳۹۲ انجام گرفت. تعداد ۱۵۰ نمونه شامل ۷۹ نمونه آب سرد (۲۹-۹ $^{\circ}C$) و ۷۱ نمونه آب گرم (۶۰-۳۰ $^{\circ}C$) از سه بیمارستان شهر تهران در ظروف استریل از جنس پلی‌اتیلن با حجم ۴ لیتر از قسمت‌های مختلف شامل بخش‌های داخلی، جراحی، زنان، اعصاب

www.SID.ir

Archive of SID

و روان، دیالیز، اطفال، دندانپزشکی، انکولوژی، ICU، CCU و کولرهای آبی، چیلرها، برج‌های خنک‌کننده، هواسازها و ورودی آب شهر جمع‌آوری شد. کلر باقیمانده نمونه‌های آب با تیوسولفات سدیم ۳ درصد حذف گردید. سنجش کلر باقی‌مانده و دما در محل نمونه‌برداری و بر اساس روش‌های استاندارد انجام شد(۱۴). نمونه‌ها بلافاصله در مجاورت جعبه‌های یخ به آزمایشگاه منتقل و حداکثر در فاصله زمانی ۸ ساعت با استفاده از فیلتراسیون غشایی و پمپ خلأ (مدل VE115N) و فیلتر میکرون پلی‌کربناته (Uflow Membrane Filters, pore size: 0.22-0.45µm) صاف‌سازی و تغلیظ شدند. اجزاء سیستم فیلتراسیون با اتوکلاو (دمای ۱۲۱°C، فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع و زمان ۱۵ دقیقه) استریل شدند(۱۵). پس از فیلتراسیون، فیلتر جداسازی و در ۵۰ میلی‌لیتر از آب فیلتر شده و داخل ظروف شیشه‌ای استریل خرد و به حالت سوسپانسیون درآمد. جدا سازی باکتری‌ها از فیلتر با اختلاط ذرات فیلتر به‌مدت ۲۴ ساعت با استفاده از شیکر اربیتالی (GFL-3017) با سرعت ۲۳۰ دور در دقیقه انجام شد(۲۳،۲۲). محیط کشت BCYE آگار(ساخت شرکت Biomark) حاوی مکمل‌های L-Cystein (ساخت شرکت مرک آلمان)، پیروفسفات فریک (ساخت شرکت Sigma Aldrich) و GVPC (Glycine, Vancomycin, Polymyxin B, Cycloheximide) (ساخت شرکت Biomark) طبق استاندارد (ISO 11731-2, 2004) تهیه و جهت کشت لژیونلا استفاده گردید. کنترل باکتری‌های مزاحم قبل از کشت نمونه با تیمار حرارتی در حمام آبی (بن‌ماری) با دمای ۵۶°C به‌مدت ۱۲ دقیقه انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه در کنار شعله روی محیط کشت تلقیح و پلیت‌ها در اتمسفر محتوی ۲/۵ درصد دی‌اکسیدکربن به مدت ۷ تا ۱۴ روز در دمای ۳۷°C و در محیط مرطوب گرم‌خانه‌گذاری شدند(۱۶،۷). کلنی‌های لژیونلا بر اساس اندازه، رنگ و خصوصیات بیوشیمیایی (تست‌های کاتالاز، اکسیداز، هیدرولیزهیپورات و رنگ‌آمیزی گرم) تشخیص داده شدند. جهت اطمینان، کلنی‌های رشد کرده مجدداً روی محیط آگار خوندار (ماده پایه آن ساخت شرکت مرک آلمان و خون دفیبرینه گوسفند شرکت بهار افشان ایران) تلقیح و در دمای ۳۵°C گرمخانه‌گذاری و پس از اطمینان از عدم رشد، انتصابشان به لژیونلا مورد تأیید قرار گرفت(۱۷،۱۶). غلظت فلزات آهن، منگنز، روی، مس و قلیائیت کل و سختی کل در نمونه‌های آب بر اساس نورسنجی و با استفاده از دستگاه فتومتر (مدل ۷۵۰۰ ساخت شرکت پالین تست کشور انگلیس) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۵ نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کولموگروف اسمیرنوف، من‌ویتنی، همبستگی اسپیرمن، رگرسیون لجستیک تک متغیره و چند متغیره آنالیز شدند. سطح معنی‌داری برای تاثیر عناصر مورد بررسی کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

مقدار حداکثر، حداقل، میانگین و انحراف معیار آهن، منگنز، روی، مس، قلیائیت و سختی کل نمونه‌های آب در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. با توجه به نرمال نبودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه میانگین عناصر جزئی آهن، منگنز، روی، مس، قلیائیت و سختی کل نمونه‌های آب در موارد رشد یا عدم رشد باکتری لژیونلا از آزمون ناپارامتری من‌ویتنی‌استفاده گردید (جدول شماره ۲). نتایج نشان داد که اختلاف میانگین غلظت یون مس در موارد رشد یا عدم رشد باکتری در نمونه‌های مورد بررسی از لحاظ آماری معنی‌دار نیست ($p>0/05$) اما این اختلاف میانگین در مورد آهن، منگنز، روی، قلیائیت کل و سختی کل معنی‌دار است ($p<0/05$).

برای بررسی ارتباط بین متغیرهای مورد مطالعه با تراکم باکتری لژیونلا از آزمون ناپارامتری همبستگی اسپیرمن استفاده گردید (جدول شماره ۳). همان طوری که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است تراکم باکتری‌های لژیونلا (دانسیته آلودگی) با غلظت آهن،

www.SID.ir

Archive of SID

منگنز، روی، قلیائیت کل و سختی کل آب همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد (p<۰/۰۵) اما با غلظت مس همبستگی معکوسی دارد که این همبستگی از لحاظ آماری معنی‌دار نیست (p=۰/۳۷).

جدول شماره ۱: غلظت عناصر جزئی، قلیائیت و سختی کل نمونه‌های آب مورد مطالعه (میلی گرم در لیتر)

فاکتورهای مورد آنالیز	حداقل	حداکثر	میانگین و انحراف معیار	**مقادیر استاندارد
آهن	۰	۰/۰۶	۰/۰۱ ± ۰/۰۱۳	۰/۳
منگنز	۰	۰/۰۱	۰/۰۰۲ ± ۰/۰۰۱۵	۰/۴
روی	۰	۰/۱۲	۰/۰۳ ± ۰/۰۲۳	۳
مس	۰/۰۲	۳/۴	۰/۲۸ ± ۰/۴۵	۲
قلیائیت کل *	۱۰۵	۱۷۰	۱۲۸/۵۳±۱۷/۲۵	----
سختی کل *	۱۲۰	۲۴۰	۱۵۱/۲۶ ± ۲۲/۷۹	۵۰***

* میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم

** مقادیر استاندارد ذکر شده در این جدول بر اساس استاندارد ۱۰۵۳ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران است.

*** سازمان جهانی بهداشت از دیدگاه بهداشتی حدی برای سختی تعیین نکرده است و حد مورد اشاره در این جدول ازدیدگاه فنی- مهندسی و اقتصادی است

جدول شماره ۲: مقایسه اختلاف میانگین غلظت عناصر جزئی، قلیائیت و سختی کل در موارد رشد/عدم رشد لژیونلا (Mann-Whitney U test)

متغیر مورد بررسی	میانگین در موارد رشد باکتری	میانگین در موارد عدم رشد باکتری	سطح معنی داری
آهن	۰/۰۲۵	۰/۰۱۱	<۰/۰۰۱*
منگنز	۰/۰۰۲۹	۰/۰۰۱۵	<۰/۰۰۱*
روی	۰/۰۳۵	۰/۰۲۶	۰/۰۲*
مس	۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۵۶
قلیائیت کل**	۱۴۰/۲۰	۱۲۱/۴۶	<۰/۰۰۱*
سختی کل**	۱۶۰/۷۴	۱۴۵/۵۱	<۰/۰۰۱*

* مقدار ۰/۰۵ > p معنی دار است

**: میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم، سایر موارد بر حسب میلی گرم در لیتر

جدول شماره۳: ارتباط متغیرهای مورد مطالعه با متغیر تراکم باکتری لژیونلا (Spearman correlation)

متغیرمورد بررسی	دامنه	ضریب همبستگی (r)	سطح معنی داری
آهن	۰-۰/۰۶	۰/۶۰	<۰/۰۰۱*
منگنز	۰-۰/۰۱	۰/۴۳	<۰/۰۰۱*
روی	۰-۰/۱۲	۰/۱۷	۰/۰۴*
مس	۰/۰۲-۳/۴۰	-۰/۰۷	۰/۳۷
قلیائیت کل	۱۰۵-۱۷۰	۰/۵۲	<۰/۰۰۱*
سختی کل	۱۲۰-۲۴۰	۰/۳	<۰/۰۰۱*

* مقدار ۰/۰۵> p معنی‌دار است

** میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم، سایر موارد بر حسب میلی گرم در لیتر

به منظور تعیین تاثیر تک به تک و تاثیر همزمان/ اصلاح شده متغیرهای اندازه‌گیری شده و هم‌چنین یافتن مهم‌ترین عامل برای حضور باکتری لژیونلا در نمونه‌های آب مورد بررسی از رگرسیون لجستیک تک متغیره و چند متغیره استفاده گردید. نتایج نشان داد که تاثیر غلظت آهن و منگنز از سایر اجزاء بیش تر است به طوی که به ازای هر واحد افزایش در غلظت آهن و منگنز در آب، شانس حضور/ رشد باکتری لژیونلا به ترتیب ۱/۲۲ و ۳/۳ برابر افزایش می‌یابد که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۴: تاثیر متغیرهای مورد بررسی بر حضور لژیونلا (Univariate and Multiple logistic regressions)

متغیر مورد بررسی	رگرسیون لجستیک تک متغیره		رگرسیون لجستیک چند متغیره	
	OR (95% CI)	سطح معنی داری	OR (% 95CI)	سطح معنی‌داری
آهن	۱/۱۴(۱/۰۹-۱/۹۷)	۰/۰۰۰	۱/۲۲(۱/۱۱-۱/۳۴)	۰/۰۰۱*
منگنز	۲/۰۸(۱/۵-۲/۸۹)	۰/۰۰۰	۳/۳(۱/۶۷-۶/۴۵)	۰/۰۰۱*
روی	۱/۰۲(۱/۰۰-۱/۰۳)	۰/۰۳	۱/۰۲(۰/۹۹-۱/۰۵)	۰/۲
مس	۱/۰۰(۰/۹۹-۱/۰۰)	۰/۸۳	-----	-----
قلیائیت کل**	۱/۰۸(۱/۰۵-۱/۱۱)	۰/۰۰	۱/۰۶ (۱/۰۲-۱/۰۹)	۰/۰۰۱
سختی کل**	۱/۰۳(۱/۰۱-۱/۰۵)	۰/۰۰	۰/۹۹۱(۰/۹۸-۰/۹۹)	۰/۰۰۱

*مقدار ۰/۰۵> p معنی‌دار است

**: میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم، سایر موارد بر حسب میکروگرم در لیتر

بحث

بر اساس مطالعه انجام شده در تایوان آلودگی آب مصرفی بیمارستان‌ها عامل مهم بیماری *لژیونلوزیس* در این مراکز می‌باشد(۱۸). طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه ۳۷/۳۳ درصد نمونه‌های آب مورد بررسی به لژیونلا آلوده بودند. مقایسه نتایج این مطالعه با یافته‌های اسماعیلی و همکاران (۱۳۸۷) و اسلامی و همکاران (۱۳۹۱) در بیمارستان‌های سطح شهر تهران که آلودگی آب بیمارستان‌ها به لژیونلا را به ترتیب ۲۶/۵ و ۳۴ درصد گزارش کرده‌اند نشان می‌دهد که آلودگی به این باکتری در بیمارستان‌های شهر تهران رو به افزایش می‌باشد(۱۹،۱۶). از آن‌جایی‌که تمام بیمارستان‌های شهر تهران آب مصرفی خود را از آب شرب شهری تامین می‌کنند حضور باکتری لژیونلا در سیستم آب بیمارستان‌ها نشان‌دهنده مقاومت باکتری لژیونلا در برابر شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

نامساعد محیطی، عملیات تصفیه و گندزدایی با کلر است که بایستی برای حذف آن از روش‌های مدرن‌تر نظیر ازن‌زنی یا روش‌های گندزدایی تلفیقی (منوکلرآمین به همراه پرتو UV) به صورت هم‌زمان و در محل استفاده گردد(۲۰).

در این مطالعه تراکم آلودگی به لژیونلا نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد که نمونه‌های مربوط به سیستم‌های خنک‌کننده (برج‌های خنک کننده و هواسازها) و بخش‌های حساسی نظیر ICU، CCU، NICU و داخلی دانسیته آلودگی بالایی (۱۲۲۰۰۰–۲۰۰۰۰ CFU/L) دارند. مقایسه تراکم آلودگی مشاهده شده در این مطالعه با مقادیر رهنمودی ارائه شده توسط برخی کشورها نظیر فرانسه که برای کاهش خطر ناشی از عفونت لژیونلا مقدار رهنمودی دانسیته آلودگی آب به *لژیونلا پنوموفیلا* را کم‌تر از ۱۰۰۰ CFU/L پیشنهاد کرده است نشان می‌دهد که تراکم آلودگی آب به لژیونلا در بیمارستان‌های مطالعه شده از حدود تعیین شده فوق بسیار بالاتر است. این مساله نشان دهنده ضرورت توجه جدی به کنترل کیفیت آب از نظر آلودگی به لژیونلا می‌باشد(۴). اداره بهداشت عمومی کشور ایتالیا نیز مقدار رهنمودی یا نقطه عطف (Cut-off) را برای آلودگی *لژیونلا* ۱۰۰۰۰ CFU/l تعیین کرده است و تاکید دارد که اگر بار آلودگی به باکتری لژیونلا به این حد برسد حتی بدون گزارش بیماری لژیونلوزیس بایستی اقدامات فوری و اساسی جهت کاهش دانسیته آلودگی در آب اجرا شود(۲۱). مقایسه مقدار تراکم آلودگی در بیمارستان‌های مطالعه شده با مقادیر رهنمودی کشور ایتالیا نیز نشانگر ضرورت توجه جدی به آلودگی آب مصرفی بیمارستان‌ها بوده و ضرورت انجام اقدامات کنترلی موثرتر را نشان می‌دهد.

عناصر جزئی(آهن، منگنز، روی و مس)

طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه (جدول شماره ۲)، اختلاف میانگین غلظت آهن، منگنز و روی در موارد رشد و عدم رشد باکتری از لحاظ آماری معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$) به طوری که بین غلظت این عوامل با تراکم باکتری لژیونلا (دانسیته آلودگی) همبستگی مثبتی وجود دارد که این همبستگی از لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد($p<۰/۰۵$). همچنین آزمون رگرسیون لجستیک(تک متغیره و چند متغیره) نشان داد که منگنز بیش‌ترین تاثیر را در رشد لژیونلا داشته که به نظر می‌رسد شاخص مناسبی برای تشخیص و پیش‌بینی حضور لژیونلا در محیط‌های آبی باشد که با نتایج به دست آمده در مطالعه Bargellini و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد(۱). باکتری لژیونلا یک باکتری آهن دوست است و برای رشد به آهن نیاز دارد بنابراین در غلظت‌های پایین آهن رشد آن محدودتر می‌گردد. تاثیر آهن در میزان آلودگی آب به لژیونلا از یک طرف به نقش آهن در بیوشیمی رشد و تکثیر باکتری لژیونلا(۹) و از طرفی به وجود ترکیبات آهن در جنس لوله‌های به کار رفته در سیستم لوله‌کشی کشور که غالباً دارای ترکیبات آهنی است ارتباط دارد. هرچند مقدار آهن در نمونه‌های آب با استانداردهای توصیه شده برای غلظت آهن در آب شرب کشور (حداکثر مطلوب ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) مطابقت دارد اما نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت‌های کم‌تر از مقادیر استاندارد آهن نیز شرایط را برای رشد و تکثیر این باکتری در سیستم‌های آبرسانی تقویت می‌کنند. این امر با توجه به تاثیر آهن در افزایش آلودگی آب به لژیونلا و اهمیت این باکتری در تهدید بهداشت عمومی به ویژه بیماران با سطح ایمنی پایین در بیمارستان‌ها ضرورت بازنگری در تدوین استانداردهای جدیدتری را برای آهن به طور عمومی یا حداقل برای مصارف بیمارستانی نشان می‌دهد. مطالعات نیز سکون آب و پدیده خوردگی در سیستم آبرسانی و تاثیر آن بر غلظت فلزات موجود در آب از جمله آهن را تایید می‌نمایند(۱).

در نتایج مطالعه Rakic و همکاران (۲۰۱۲) نیز اختلاف میانگین آهن در موارد رشد و عدم رشد

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری از لحاظ آماری معنی‌دار بوده که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد(۸). نتایج نشان داد که منگنز در رشد و تکثیر لژیونلا تاثیر بالایی دارد که علت آن می‌تواند به تاثیر منگنز در رشد بیوفیلم مرتبط باشد. نتایج مطالعه Arirachakaran و همکاران (۲۰۰۷) با هدف بررسی تاثیر منگنز در رشد بیوفیلم و پلانکتون نشان می‌دهد که منگنز نقش اساسی در تشکیل بیوفیلم دارد و با حذف منگنز از محیط کشت با شرایط هوازی جمعیت بسیار کمی از باکتری رشد می‌کند. از طرفی نقش محافظت کننده منگنز در فعالیت‌های آنزیمی و مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو قویاً تایید شده است. مطالعات نشان داده است که منگنز برای سمیت‌زدایی گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر در بیش‌تر باکتری‌ها نقش حیاتی دارد(۱۳). بنابراین، منگنز نه تنها با مهار شرایط نامساعد محیطی در رشد و بقاء باکتری لژیونلا نقش دارد بلکه می‌تواند از طریق تاثیر بر رشد بیوفیلم و پلانکتون‌ها به عنوان عامل محافظت کننده لژیونلا در بقاء و حضور این باکتری نقش داشته باشد. در مطالعه حاضر هیچ گونه رشدی در غلظت‌های روی کم‌تر از ۱۰µg/L مشاهده نشد. در مطالعه Borella و همکاران (۲۰۰۴) نیز شانس رشد باکتری *لژیونلا* در غلظت‌های کم‌تر از ۱۰۰µg/L فلز روی به مقدار ۶۷ درصد کاهش داشت که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد(۲۲). نتایج این مطالعه نشان داد که بین غلظت روی با تراکم باکتری‌های لژیونلا (دانسیته آلودگی) همبستگی مثبتی وجود دارد که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد(p=۰/۰۴; r=۰/۱۷). به عبارتی، با افزایش یک میلی‌گرم در لیتر غلظت روی در آب ۱۷ درصد به دانسیته آلودگی آب به باکتری لژیونلا افزوده می‌شود که با نتایج سایر مطالعات مطابقت دارد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که غلظتی از روی برای رشد و کلونیزه شدن باکتری لژیونلا مناسب بوده و غلظت‌های روی بیش از ۲۰۰µg/L و کم‌تر از ۱۰۰µg/L عامل بازدارنده محسوب می‌شوند(۲۲). این حد از دامنه غلظت روی در رشد و مقاومت لژیونلا می‌تواند به نقش این عنصر در فرآیندهای آنزیمی که اغلب در غلظت‌های کم‌تری از عناصر جزئی رخ می‌دهد مرتبط باشد.

در این مطالعه اختلاف میانگین غلظت یون مس در موارد رشد و عدم رشد باکتری از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده (p=۰/۵۶) و بین غلظت مس با تراکم باکتری‌های لژیونلا (دانسیته آلودگی) همبستگی معکوسی مشاهده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود(r= −۰/۰۷ ، p=۰/۳۷). به عبارتی، با افزایش یک میلی‌گرم در لیتر غلظت مس در آب ۷ درصد از دانسیته آلودگی آب به باکتری لژیونلا کاسته می‌شود. یافته‌های سایر محققین نیز موید ارتباط معکوس بین غلظت یون مس با کلونیزاسیون باکتری لژیونلا می‌باشد(۲۴،۱-۲۲). این پدیده و رابطه همبستگی معکوس میان غلظت مس و تراکم باکتری لژیونلا به ماهیت گندزدایی فلز مس مرتبط می‌باشد به‌طوری‌که گندزدایی با روش یونیزاسیون مس و نقره از جمله روش‌های مهم و موثر در کنترل لژیونلا به شمار می‌رود(۲۵). اگر چه هر دو فلز (مس و نقره) در محدودسازی کلونیزاسیون باکتری لژیونلا تاثیر دارند اما به نظر می‌رسد که مس نسبت به نقره تاثیر بیش‌تری داشته و با توجه به ویژگی‌های شیمیایی به طور موثرتر و بهتر به لایه بیوفیلم نفوذ و در کنترل لژیونلا ایفای نقش می‌کند(۲۶).

قلیائیت و سختی کل

در مطالعه حاضر اختلاف میانگین غلظت قلیائیت کل در موارد رشد و عدم رشد باکتری لژیونلا از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱) و قلیائیت اندازه‌گیری شده در محدوده ۱۷۰ mg/l–۱۰۵ و میانگین ۱۲۸/۵۳±۱۷/۲۵ mg/l بر حسب کربنات کلسیم بود. هم‌چنین بین قلیائیت کل با تراکم باکتری‌های *لژیونلا* (دانسیته آلودگی) همبستگی متوسط و مثبتی وجود دارد که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد(r=۰/۵۲ ; p<۰/۰۰۱). هم‌چنین با انجام آنالیز تک متغیره و چند

www.SID.ir

Archive of SID

متغیره با آزمون رگرسیون لجستیک به منظور تاثیر قلیائیت در آلودگی آب به باکتری لژیونلا اثر قابل توجهی مشاهده نگردید (به ترتیب OR =۱/۰۸ و OR =۱/۰۶). اختلاف میانگین غلظت سختی کل در موارد رشد و عدم رشد باکتری از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱) و سختی اندازه‌گیری شده در محدوده ۱۲۰-۲۴۰ mg/l و میانگین ۲۲/۷۹ mg/l ± ۱۵۱/۲۶ بر حسب کربنات کلسیم بود و بین سختی کل با تراکم باکتری‌های *لژیونلا* (دانسیته آلودگی) همبستگی ضعیف و مثبتی وجود دارد که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد(r=۰/۳، p<۰/۰۰۱). به عبارتی، با افزایش سختی کل آب، دانسیته آلودگی آب به باکتری *لژیونلا* افزوده می‌شود. هم‌چنین با انجام آنالیز تک متغیره و چند متغیره با آزمون رگرسیون لجستیک به منظور تاثیر سختی کل در آلودگی آب به باکتری لژیونلا اثر قابل توجهی مشاهده نگردید (به ترتیب OR =۱/۰۳ و OR =۰/۹۹). بررسی مطالعه Lasheras و همکاران (۲۰۰۶) نشان می‌دهد که اختلاف میانگین سختی کل در موارد رشد و عدم رشد باکتری از لحاظ آماری معنی‌دار و میانگین غلظت سختی در موارد رشد باکتری ۳۷۸ و در موارد عدم رشد باکتری ۲۹۶ میلی‌گرم در لیتر بر حسب کربنات کلسیم بوده است(۲۷).

در مطالعه Bonetta و همکاران (۲۰۱۰) اختلاف معنی‌داری بین رشد *لژیونلا پنوموفیلا* و سختی کل بیش‌تر از ۱۵۰ و کم تر از ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد ولی درصد آلودگی در غلظت‌های پایین سختی کل (کم‌تر از ۱۵۰mg/l) نسبت به مقادیر بالاتر سختی کل (بیش از ۱۵۰mg/l) بیش‌تر بود(۲۸). نتایج بررسی Bargellini و همکاران نیز نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌دار بین مقادیر میانگین سختی کل در موارد رشد و عدم رشد وجود نداشت و میانگین سختی کل ۲۴۲ mg/l بود و در غلظت ۲۵۰-۳۵۰ mg/l رشد لژیونلا به نسبت کم‌تر بود(۱). بر اساس نتایج مطالعات با توجه به این که در غلظت‌های مختلف سختی آب حضور لژیونلا تأیید و گزارش شده است می‌توان چنین نتیجه گرفت که عامل سختی کل فاکتور مؤثری در رشد یا عدم رشد باکتری نبوده و اختلاف در نتایج آماری به دست آمده به محل نمونه‌برداری، نوع سیستم آب (سرد و گرم)، کیفیت اولیه منابع آب و استانداردهای آب هر کشور مرتبط می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که حتی غلظت عناصر جزئی (آهن، منگنز، روی و مس)، سختی و قلیائیت در آب بیمارستان‌های مطالعه شده در حد استانداردهای توصیه شده بر میزان حضور لژیونلا و تراکم آن موثر است. این نتایج نشان می‌دهد که برای حذف لژیونلا از آب بیمارستان‌ها و کاهش مخاطرات ناشی از عفونت‌های آن بایستی سیاستگذاری‌های مناسب از طریق کاربرد سامانه گندزدایی اختصاصی انجام گیرد و دستورالعمل‌های مناسب بهره‌برداری از تاسیسات آبرسانی و تجهیزات بهداشتی تبیین گردد. مطالعه انجام شده توسط احمدی جلالی مقدم و همکاران در سال ۱۳۹۱ در بیمارستان‌های استان گیلان نشان می‌دهد که *لژیونلا پنوموفیلا* به عنوان یک گونه خطرناک از لژیونلا حتی در آب مقطر استفاده شده در انکوباتور نوزادان نیز حضور دارد و عواملی نظیر زمان ماند طولانی آب و تشکیل بیوفیلم را علت حضور *لژیونلا پنوموفیلا* اعلام نمودند(۲۹). نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری لژیونلا حتی در مقادیر استاندارد پارامترهای شیمیایی کیفی آب قابلیت رشد و تکثیر دارد. از میان پارامترهای کیفی آب منگنز نقش بسیار مهمی در رشد و کلونیزاسیون لژیونلا دارد. بر این اساس پیشنهاد می‌گردد که برای پیشگیری از رشد و تکثیر لژیونلا و پیامدهای ناشی از آن در آب بیمارستان ها، سیستم گندزدایی اختصاصی مناسب در بیمارستان‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط می‌باشد. بدین‌وسیله از مرکز

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیقات بهداشت نظامی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، بیمارستان های بقیه الله الاعظم(عج)، نجمیه و قلب جماران به لحاظ حمایت‌هایشان تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Bargellini A, Marchesi I, Righi E, Ferrari A, Cencetti S, Borella P, et al. Parameters predictive of *Legionella* contamination in hot water systems: association with trace elements and heterotrophic plate counts. Water Res 2011; 45(6): 2315-2321.
2. Lau HY, Ashbolt NJ. The role of biofilms and protozoa in *Legionella* pathogenesis: implications for drinking water. J Appl Microb 2009; 107(2): 368-378.
3. Huang SW, Hsu BM, Wu SF, Fan CW, Shih FC, Lin YC, et al. Water quality parameters associated with prevalence of *Legionella* in hot spring facility water bodies. Water Res 2010; 44(16): 4805-4811.
4. Allegra S, Grattard F, Girardot F, Riffard S, Pozzetto B, Berthelot P. Longitudinal evaluation of the efficacy of heat treatment procedures against *Legionella* spp. in hospital water systems by using a flow cytometric assay. Appl Environ Microbiol 2011; 77(4): 1268-1275.
5. Declerck P, Behets J, Margineanu A, van Hoef V, De Keersmaecker B, Ollevier F, et al. Replication of *Legionella pneumophila* in biofilms of water distribution pipes. Microbiol Res 2009; 164(6): 593-603.
6. Jalila T, Benchekroun MN, Ennaji MM, Mekkour M, Cohen N. Nosocomial Legionnaires' disease: Risque and prevention. Int J Environ Sci Res 2012; 2(4): 62-75.
7. Mirmohammadlo A, Ghanizadeh G, Esmaeili D, Sepandi M, Avakh P. *Legionelle pneumophila* water contamination in selected hospitals of Tehran. J Kermanshah Univ Med Sci 2014; 18(7): 398-408 (Persian).
8. Rakic A, Peric J, Foglar L. Influence of temperature, chlorine residual and heavy metals on the presence of *Legionella pneumophila* in hot water distribution systems. Ann Agric Environ Med 2012; 19(3): 431-436.
9. Serrano-Suárez A, Dellundé J, Salvadó H, Cervero-Aragó S, Méndez J, Canals O, et al. Microbial and physicochemical parameters associated with *Legionella* contamination in hot water recirculation systems. Environ Sci Pollut Res Int 2013; 20(8): 5534-5544.
10. Strickhouser AE. *Legionella pneumophila* in Domestic Hot Water Systems: Evaluation of Detection Methods and Environmental Factors Affecting Survival, Master of Science Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University; 2007.
11. Friedman H, Yamamoto Y, Klein TW. *Legionella pneumophila*: Pathogenesis and Immunity. Semin Pediatr Infect Dis 2002; 13(4): 273-279.
12. Lin YE, Stout JE, Yu VL. Controlling *Legionella* in hospital drinking water: an evidence-based review of disinfection methods. Infect Control Hosp Epidemiol 2011; 32(2):166-73.
13. Arirachakaran P, Luengpailin S, Banas JA, Mazurkiewicz JE, Benjavongkulchai E. Effects of manganese on Streptococcus mutans planktonic and biofilm growth. Caries Res 2007; 41(6): 497-502.
14. American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of

www.SID.ir

Archive of SID

water and wastewater. Water Environment Federation, Secaucus, NJ.22nd ed. USA. 2012.

15. Centers for Diseas Control and Prevention (CDC). Procedures for the Recovery of *Legionella* from the Environment Manual. Atlanta, Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2005: 1-13.
16. Eslami A, Momayyezi MH, Esmaili D, Joshani GhH. Presence of *Legionella Pneumophila* and environmental factors affecting its growth, in the water distribution system in Taleghani hospital, Tehran. Pejouhandeh 2012; 17(1): 32-7 (Persian).
17. Ghotaslou R, Yeganeh Sefidan F, Akhi MT, Soroush MH, Hejazi MS. Detection of *legionella* contamination in Tabriz hospitals by PCR assay. Adv Pharm Bull 2013; 3(1): 131-134.
18. Yu PY, Lin YE, Lin WR, Shih HY, Chuang YC, Ben RJ, et al. The high prevalence of *Legionella pneumophila* contamination in hospital potable water systems in Taiwan: implications for hospital infection control in Asia. Int J Infect Dis 2008; 12(4): 416-420.
19. Esmaieli D, Mohebati-mobarez A, Hosaini Dust SR. Frequency of *legionella* contamination in conditional & water distribution systems of Tehran hospitals. Iran South Med J 2008; 11(1): 55-60 (Persian).
20. Berry D, Xi C, Raskin L. Microbial ecology of drinking water distribution systems. Curr Opin Biotechnol 2006; 17(3): 297-302.
21. Napoli C, Iatta R, Fasano F, Marsico T, Montagna MT. Variable bacterial load of *Legionella spp*. in a hospital water system. Sci Total Environ 2009; 408(2): 242-244.
22. Borella P, Montagna MT, Stampi S, Stancanelli G, Romano-Spica V, Triassi M, et al. *Legionella* infection risk from domestic hot water. Emerg Infect Dis 2004; 71(10): 457-464.
23. Borella P, Montagna MT, Stampi S, Stancanelli G, Romano-Spica V, Triassi M, et al. *Legionella* contamination in hot water of Italian hotels. Appl Environ Microb 2005; 71(10): 5805-5813.
24. Leoni E, De Luca G, Legnani PP, Sacchetti R, Stampi S, Zanetti F. *Legionella* waterline colonization: detection of *Legionella* species in domestic, hotel and hospital hot water systems. J Appl Microb 2005; 98(2): 373-379.
25. Zanetti F, Stampi S, De Luca G, Fateh-Moghadam P, Antonietta M, Sabattini B, et al. Water characteristics associated with the occurrence of *Legionella pneumophila* in dental units. Eur J Oral Sci 2000; 108(1): 22-28.
26. Rohr U, Weber S, Selenka F, Wilhelm M. Impact of silver and copper on the survival of amoebae and ciliated protozoa in vitro. Int J Hyg Environ Health 2000; 203(1): 87-89.
27. Lasheras A, Boulestreau H, Rogues AM, Ohayon-Courtes C, Labadie JC, Gachie JP. Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of *Legionella* species in hospital water systems. Am J Infect Control 2006; 34(8): 520-525.
28. Bonetta SA, Bonetta SI, Ferretti E, Balocco F, Carraro E. Evaluation of *Legionella pneumophila* contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. J Appl Microbiol 2010; 108(5): 1576-1583.
29. Ahmadi Jalali Moghadam M, Honarmand H, Asfaram Meshginshahr S, Soltani Tehrani B, Nojavan M. Frequency of *Legionella Pneumophila* in Tap Water and Water of Infant Incubators in Guilan Hospitals, Iran. J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(98): 312-321 (Persian).

www.SID.ir