

بررسی عوامل بیماری لژیونر (لژیونلاها) در تجهیزات کمک درمانی، منابع آب

آشامیدنی و محیطی اهواز

سید مجتبی موسویان* - نادر دیوان خسروشاهی**

*دانشیار گروه میکروبی شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز

** مری میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

چکیده

مقدمه: لژیونلاها به طور وسیعی در منابع آبی محیط های طبیعی و منابع آبی ساخت انسان پراکنده شده و از طریق آئروسول های آلوده ناشی از این منابع از جمله چشمه های آب گرم، رودخانه ها، وسایل تهویه کننده، برج های خنک کننده، استخرهای آبی و از این قبیل به انسان منتقل می شوند. هدف: هدف از این بررسی، جداسازی و شناسایی عوامل لژیونلوز از تجهیزاتی است که به عنوان کمک درمانی یا به عنوان منبع آب آشامیدنی مورد استفاده قرار می گرفتند.

مواد و روش ها: ۲۱۰ نمونه آب از تجهیزات کمک درمانی و منابع آبی مختلف در بیمارستان ها و سطح شهر اهواز جمع آوری و از نظر وجود لژیونلاها مورد بررسی قرار گرفتند. از جمله تجهیزات کمک درمانی و منابع نمونه گیری شده: اتکوباتورهای نوزادان، یونیت های دندانپزشکی، بن ماری های ۳۷ درجه آزمایشگاه، سیستم های خنک کننده بیمارستانی (ایرکاندیشن ها)، سیستم های لوله کشی آب، مخازن آب آشامیدنی و حوضچه های پارک ها و مبادین بودند. قسمتی از رسوب هر نمونه قبل و بعد از شست و شو با بافر اسیدی، به محیط های غیر انتخابی BCYE و محیط های انتخابی BMPA و MWY تلقیح شد. به منظور تعیین گونه های لژیونلا، کلنی های رشد یافته بر روی محیط های انتخابی، در صورت عدم رشد بر روی محیط های معمولی آزمایشگاهی، از طریق آزمایش های بیوشیمیایی مختلف، مورد شناسایی بیشتر قرار گرفتند.

نتایج: از ۲۱۰ نمونه مورد بررسی، ۱۴ سوبه لژیونلا (۶/۶ درصد) جدا شد که پس از بررسی های بیشتر، ۹ سوبه آنها (۶۴/۳ درصد) به عنوان Legionella pneumophila و ۵ سوبه آن (۳۵/۷ درصد) تحت عنوان Legionella spp شناسایی شدند. بیشترین منابع آلوده در این تحقیق، یونیت های دندانپزشکی (با ۱۹ درصد) و کمترین آنها شیرهای آب گرم و دوش های حمام (با ۲/۹ درصد) بود. از بن ماری های آزمایشگاهی، سیستم های خنک کننده و اتکوباتورهای نوزادان نیز هر کدام ۲ سوبه و از بقیه منابع هر کدام یک سوبه لژیونلا جدا شد.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق بیانگر حضور گسترده عوامل بیماری لژیونر در تجهیزات کمک درمانی و منابع آبی مختلف و از جمله مخازن آب آشامیدنی است. با انجام تحقیقات اپیدمیولوژیکی بیشتر جهت شناسایی و درمان بیماران مبتلا به این بیماری و نیز کنترل منابع آبی آلوده، می توان از انتشار عوامل لژیونلایی جلوگیری نمود.

کلیدواژه ها: بیماری لژیونلا / لژیونر / لژیونلا پنوموفیلا / وسایل و تجهیزات

مقدمه

طبیعت و در منابع آبی طبیعی مانند رودخانه ها، چشمه های آب گرم پراکنده بوده و بوسیله آئروسول های آلوده منتشر شده از این منابع یا منابع آبی ساخت انسان مانند برج های خنک کننده، ایرکاندیشن ها، کندانسورهای تبخیر آب و استخرهای شنا به انسان منتقل می گردند (۳، ۴ و ۵).

اگرچه ۵۰ سال پیش، برای اولین بار، لژیونلاها از خون یک سرباز جدا شدند، (۱) ولی اهمیت آنها به عنوان یک پاتوژن انسانی بعد از شیوع پنومونی سال ۱۹۷۶ شناخته شد. در گردهمایی شهر فیلادلفیای آمریکا شیوع پنومونی مرگ آور ناشی از لژیونلا پنوموفیلا منجر به ابتلای ۲۲۱ نفر و مرگ و میر ۳۴ نفر گردید (۲). این باکتری همراه با سایر اعضای جنس لژیونلا در سطح

نوزادان، سیستم‌های خنک‌کننده بیمارستانی (ایرکاندیشن‌ها) و منابع آب آشامیدنی داخل بیمارستان‌ها. از حوضچه‌های پارک‌ها و میادین، شیرهای آب گرم و دوش‌های حمام در خوابگاه‌های دانشجویی نیز، نمونه‌گیری به عمل آمد. نحوه نمونه‌گیری: با استفاده از ظروف شیشه‌ای درب دار

استریل شده، مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب از هرکدام از منابع فوق جمع آوری گردید. سعی بر این بود که در موقع نمونه برداری، شرایط استریلیته رعایت و حتی‌المقدور هر نمونه همراه با رسوبات آن گرفته شود. نمونه‌های جمع آوری شده به آزمایشگاه میکروبیشناسی دانشکده پزشکی منتقل و مورد بررسی قرار گرفتند.

آماده‌سازی و تلقیح به محیط‌های کشت: هر یک از نمونه‌ها قبل و بعد از شست و شو با محلول اسیدی HCL - KCL، به محیط‌های کشت ویژه لژیونلا تلقیح شدند، بدین ترتیب که ابتدا ۱/۸ میلی لیتر از رسوب هر یک از نمونه‌ها (بدون شستشو) و پس از آن ۰/۸ میلی‌لیتر از رسوب شسته شده با بافر اسیدی، از هر نمونه، به طور جداگانه به هریک از محیط‌های کشت غیرانتخابی (Buffered Charcoal Yeast BCYE Extract Agar) و دو محیط انتخابی (BMPA) محیط پایه BCYE به اضافه سه نوع آنتی‌بیوتیک (MWY و Modified Wadowsky & Yee) ساخت شرکت OXOID تلقیح گردیدند (۲۰).

تمام پلیت‌های تلقیح شده، به مدت ۶-۳ روز در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط مساعد از نظر CO₂ و رطوبت، انکوبه گردیدند. پلیت‌ها هر ۳-۲ روز یک‌بار از نظر رشد مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت عدم رشد، انکوباسیون پلیت‌ها تا دو هفته ادامه یافت (۲۰). مقایسه میزان رشد در پلیت‌هایی که نمونه‌ها

اگرچه بعضی از مطالعات نشان می‌دهند که ۷۰٪ سیستم‌های لوله‌کشی آب بیمارستان بالژیونلاها کلونیزه می‌شوند (۷ و ۶)، در موارد زیادی نیز انتشار عفونت از طریق دستگاهها و تجهیزات کمک درمانی، نظیر ساکشن‌ها، انکوباتورهای نوزادان و یونیت‌های دندانپزشکی گزارش گردیده است (۸ و ۹). در بین گونه‌های مختلف این باکتری، لژیونلا پنوموفیلا، سروگروپ ۱ عامل بیش از ۸۰٪ موارد عفونت را تشکیل می‌دهد (۱۱ و ۱۲). با این حال بقیه سروگروپ‌های ۱۵ گانه لژیونلا پنوموفیلا و نیز بعضی از گونه‌های دیگر این جنس نیز در ایجاد بیماری لژیونر (فرم پنومونیک) و یا تب پونتیاک (فرم غیر-پنومونیک) نقش داشته‌اند (۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶).

باتوجه به گستردگی حضور این باکتری‌ها در منابع آبی مختلف و شیوع اپیدمی‌ها و مرگ و میرهای ناشی از لژیونلاها در سایر نقاط دنیا، ضرورت تحقیق در مورد انتشار و شناسایی منابع طبیعی این باکتری‌ها در کشورمان آشکار می‌شود. به دلیل تعداد موارد اندک گزارشات از ایران (۱۷، ۱۸ و ۱۹) این تحقیق در پی آن است که نحوه انتشار لژیونلاها را در تعدادی از منابع آبی محیطی، به ویژه دستگاه‌ها و سیستم‌های کمک درمانی در اهواز مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

محل‌های نمونه‌گیری: تعداد ۲۱۰ نمونه آب جمع آوری شده از تجهیزات کمک درمانی و منابع آبی مختلف بیمارستان‌های گلستان، رازی و امام، وابسته به دانشگاه اهواز و نیز از سطح شهر، در یک بررسی ۹ ماهه، از نظر حضور لژیونلاها مورد آزمایش قرار گرفتند. منابع بیمارستانی مورد نمونه‌گیری عبارت بود از: یونیت‌های دندانپزشکی، بن‌ماری‌های آزمایشگاهی، انکوباتورهای

لژیونلاها بودند، از نظر میکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از رنگ آمیزی و شناسایی باسیل‌های گرم منفی، کشت های خالصی از این باسیل‌ها بر روی محیط های انتخابی تهیه شد. در مرحله بعد

شده از تجهیزات کمک درمانی و منابع آبی سه بیمارستان وابسته به دانشگاه اهواز و منابع آب آشامیدنی و محیطی در سطح شهر اهواز (جدول شماره ۱) از نظر حضور عوامل بیماری لژیونر بررسی شد. بیشترین درصد نمونه‌ها از منابع آب آشامیدنی (۸/۲۳ درصد) و سیستم‌های خنک‌کننده بیمارستانی (۱۹ درصد) و کمترین نمونه‌ها از بن‌ماری‌های ۳۷ درجه سانتیگراد آزمایشگاهی (۶/۷ درصد) جمع آوری و آزمایش شدند.

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که ۱۴ نمونه (۶/۶ درصد) از ۲۱۰ نمونه آبی جمع‌آوری شده از منابع مختلف، از نظر وجود لژیونلا مثبت بودند. توزیع فراوانی نمونه‌های مورد آزمایش و تعداد سویه‌های لژیونلا جدا شده از تجهیزات کمک درمانی و منابع آبی محیطی، در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌اند. بر اساس این یافته‌ها، بیشترین سویه لژیونلا از یونیت‌های دندانپزشکی و کمترین آنها، از منبع آب مقطر و دوش‌های حمام جدا گردیدند. منابع دیگر جدا سازی لژیونلا، بعد از یونیت های دندانپزشکی، به ترتیب شامل بن‌ماری‌های ۳۷ درجه سانتیگراد، انکوباتورهای نوزادان، منابع آب آشامیدنی و سیستم های خنک کننده بیمارستانی بودند.

مستقیماً، قبل از شست و شو با اسید، به آنها تلقیح شده بود با پلیت‌هایی که نمونه‌ها بعد از شست و شوی اسیدی به آنها تلقیح گردیده بود، حاکی از کاهش زیاد باکتری‌های غیر لژیونلا و جدا شدن بهتر لژیونلاها بودند.

شناسایی و تعیین هویت کلنی‌های جدا شده: کلنی‌های رشد یافته بر سطح پلیت‌های کشت که مشکوک به نمونه‌ای از کشت های خالص مشکوک به لژیونلا به هر یک از دو محیط معمولی Blood Agar و Eosin Methylen Blue Agar تلقیح، و بعد از ۷۲ - ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد، از نظر رشد یا عدم‌رشد روی این محیط‌ها بررسی شد. عدم‌رشد بر روی محیط‌های معمولی، حتی تا چند روز بعد از انکوباسیون، بیانگر جدا شدن لژیونلا از نمونه مورد آزمایش بود (۲۱ و ۲۰).

تست‌های بیوشیمیایی: به منظور تعیین گونه (Species) لژیونلاهای جدا شده از نمونه‌های مورد آزمایش، قسمتی از کشت خالص تازه تهیه شده بر روی محیط BCYE، جهت انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی مختلف مورد استفاده قرار گرفت. با انجام آزمایش‌هایی نظیر کاتالاز، اکسیداز، هیدرولیز هیپورات، آزمایش بتا لاکتاماز، تجزیه ژلاتین، آزمایش تعیین و ایجاد فلوتورسنس در کلنی‌های واقع شده در مجاورت نور UV و نیز مقایسه این نتایج با جدول استاندارد، گونه بعضی از ایزوله‌ها نیز مشخص گردید (۲۰ و ۲۲).

نتایج

در یک بررسی ۹ ماهه تعداد ۲۱۰ نمونه آب جمع آوری

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه های مورد آزمایش و نتایج جداسازی لژیونلا

موارد منفی		موارد مثبت لژیونلا		موارد نمونه گیری		نتایج محل های نمونه گیری
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۸۱	۱۷	۱۹	۴	۲۱	۱۰	یونیت های دندانپزشکی
۸۵/۷	۱۲	۱۴/۳	۲	۱۴	۶/۷	بن ماریهای آزمایشگاهی ۳۷ درجه
۹۲	۲۳	۸	۲	۲۵	۱۱/۹	انکوباتورهای نوزادان
۹۵	۳۸	۵	۲	۴۰	۱۹	سیستم ها خنک کننده بیمارستانی
۹۷/۱	۳۴	۲/۹	۱	۳۵	۱۶/۷	شیر های آب گرم و دوش های حمام
۱۰۰	۲۵	۰	۰	۲۵	۱۱/۹	حوضچه های پارک ها و میادین
۹۴	۴۷	۶	۳	۵۰	۲۳/۸	منابع آب آشامیدنی
۹۳/۴	۱۹۶	۶/۶	۱۴	۲۱۰	۱۰۰	جمع

بحث و نتیجه‌گیری

گزارش مکرر جداسازی گونه‌ها و سروگروپ‌های لژیونلا از منابع آبی مختلف و تجهیزات کمک درمانی (۸، ۹، ۱۰ و ۲۳) و نیز شیوع اپیدمی‌های لژیونلائی (۲۴) در سال‌های اخیر، نشان می‌دهند که علی‌رغم اعمال روش‌های کنترل روی منابع آلوده، هنوز بیماری لژیونر (Legionnaires' disease) به عنوان یک عامل مرگ‌ومیر و تهدیدکننده سلامتی انسان مطرح می‌باشد. اگر چه گونه‌های مختلف لژیونلا را از منابع آبی محیطی و نیز از بیماران مبتلا به سندرم لژیونلوز (فرم پنومونیک و غیرپنومونیک) جدا نموده‌اند، ولی بیشترین شیوع بیماری و جداسازی ارگانسیم را به سرو گروپ ۱ لژیونلا پنوموفیلا، نسبت می‌دهند (۱۲، ۲۵ و ۲۶).

در این بررسی ۲۱۰ نمونه جمع آوری شده از ۷ منبع آبی و تجهیزات کمک درمانی در سطح شهر و سه بیمارستان وابسته به دانشگاه اهواز از نظر حضور عوامل بیماری لژیونر، آزمایش شد. در این تحقیق نیز ۱۰۰ نمونه از مجموع ۲۱۰ نمونه مورد آزمایش به محیط‌های بیمارستانی اختصاص یافت.

نتایج حاصل از کشت نمونه‌ها بر روی محیط‌های غیر انتخابی و محیط‌های انتخابی لژیونلا، منتهی به جدا سازی ۱۴ سویه لژیونلا گردید، که با بررسی بیشتر ۹ سویه آنها (۳/۶۴ درصد) تحت عنوان Legionella pneumophila و ۵ سویه (۷/۳۵ درصد) به عنوان Legionella Spp گزارش گردیدند. عواملی مانند رکود آب، ایجاد رسوب، حضور میکروارگانسیم‌های کومنسال و فورا میب‌های آزاد در آب و به ویژه درجه حرارت مناسب رشد (۴۰-۳۰ درجه سانتیگراد)، مهمترین عوامل موثر در رشد و تکثیر لژیونلاها بوده و در نتیجه منجر به جداسازی باکتری مزبور از منابع آبی شده باشند (۲۰ و ۲۱). در این تحقیق، بیشترین

منابع جداسازی لژیونلا و محل‌های استقرار این منابع نشان می‌دهند که از یونیت‌های دندانپزشکی واقع در دانشکده دندانپزشکی ۴ سویه، از بن‌ماری‌ها و دستگاه‌های خنک‌کننده بیمارستان امام و انکوباتورهای نوزادان بیمارستان رازی هر کدام ۲ سویه و از بقیه منابع هر کدام یک سویه لژیونلا جدا گردیده‌است (جدول شماره ۲). نتایج شناسایی گونه‌های لژیونلا که با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیائی مختلف و ایجاد فلوتورسنس کلنی‌ها در مجاورت نور UV انجام گرفت، نشان دادند که از کل لژیونلاهای جدا شده از منابع مورد آزمایش، ۹ سویه متعلق به گونه پنوموفیلا بوده و بقیه تحت عنوان Legionella Spp (جدول ۳) گزارش گردیدند.

جدول شماره ۲: مراکز نمونه‌گیری و منابع جدا سازی لژیونلا

منبع جدا سازی	محل‌های نمونه‌گیری	تعداد ایزوله
بن ماری‌ها	آزمایشگاه بیمارستان امام	۲ سویه
یونیت دندانپزشکی	دانشکده دندانپزشکی	۴ سویه
انکوباتور نوزادان	بخش نوزادان بیمارستان رازی	۲ سویه
منبع آب خوراکی	گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی	۱ سویه
منبع آب خوراکی	سلف سرویس دانشگاه	۱ سویه
منبع آب مقطر	گروه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی	۱ سویه
دوش حمام	خوابگاه شهید رجائی	۱ سویه
دستگاه‌های خنک‌کننده	بیمارستان امام	۲ سویه
جمع سویه		۱۴

جدول شماره ۳: نتایج شناسایی گونه‌های لژیونلا، جدا شده از منابع آبی

نوع ایزوله	تعداد ایزوله	درصد
Legionella pneumophila	۹	۶۴/۳
Legionella spp	۵	۳۵/۷
جمع	۱۴	۱۰۰

موارد آلودگی، مربوط به یونیت‌های دندانپزشکی بودند (جدول ۱)، به طوریکه از ۲۱ یونیت نصب شده در دانشکده دندانپزشکی، ۴ یونیت (۱۹٪) از نظر لژیونلاها مثبت بودند که نشان‌دهنده آلودگی زیاد این منابع می‌باشد.

دندانپزشکی و تلیخ آنها به محیط‌های کشت مناسب، موفق به جدا سازی ۲۲ سویه مختلف (۲۱/۸٪) لژیونلا پنوموفیلا (سرگروپ‌های ۱ و ۳) و نیز Leg. bozemanii و Leg. dumoffii گردیدند. کیفیت آب ورودی و نیز باقی ماندن آب به مدت طولانی دریونیت‌ها (به علت عدم استفاده از آنها به مدت زیاد)، می‌تواند از دلایل آلودگی زیاد یونیت‌های دندانپزشکی مورد تحقیق باشند (۹).

از ۱۴ بن ماری آزمایشگاهی ۳۷ درجه سانتیگراد مورد بررسی، ۲ سویه (۱۴/۳٪) لژیونلا پنوموفیلا جدا گردید که هر دو سویه آن مربوط به بن ماری‌های بیمارستان امام بودند. قبلاً نیز تحقیق دیگری در تهران (۱۸)، نشان داد که تقریباً یک سوم (۳۵/۳٪) از بن ماری‌های آزمایشگاهی مورد آزمایش (۶ مورد از ۱۷ بن ماری)، آلوده به لژیونلا بودند. به دلیل استفاده مکرر از بن ماری‌های مختلف در اکثر آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و با توجه به امکان آلوده‌بودن آنها، ریسک انتقال آلودگی پرسنل آزمایشگاهی ممکن است از طریق آئروسول‌های ایجاد شده، افزایش پیدا کند.

تحقیقات مختلف بر روی انکوباتورهای نوزادان، بیانگر آلودگی و جداسازی لژیونلاها از این قبیل انکوباتورها می‌باشند، به طوری که در مواردی لژیونلا پنوموفیلا از سینی‌های ایجاد رطوبت ۵ انکوباتور از ۷ انکوباتور موجود در بخش نوزادان یک بیمارستان جدا گردید (۸). در این بررسی نیز از ۲۵ انکوباتور نوزادان موجود در بیمارستان رازی، ۲ مورد (۸٪) از نظر وجود لژیونلا

نتایج مشابهی را می‌توان در بررسی تحقیقات دیگران مشاهده نمود. Zanetti و همکارانش در یک بررسی (۲۸) بر روی ۱۰۱ نمونه آب برداشت شده از ۲۳ یونیت

مثبت بودند، که نشان دهنده در معرض بودن نوزادانی است که به طور معمول سیستم ایمنی بدن آنها نیز کامل نشده است. این در حالی است که فرم پنومونیک بیماری لژیونر و جدا سازی لژیونلا پنوموفیلا از نوزادان نیز گزارش شده است (۸ و ۲۹).

علی‌رغم انتشار گسترده لژیونلاها در منابع آبی و وجود گزارشاتی در رابطه با جدا شدن این باکتری‌ها از حوضچه‌های آبی، در این بررسی هیچ لژیونلایی از حوضچه‌های آبی واقع در پارک‌ها و میادین جدا نگردید، که ممکن است مربوط به اشکال در نمونه‌گیری از این منابع باشند. در تحقیق حاضر، همچنین گونه‌های لژیونلا از منابع آب آشامیدنی بیمارستانی و در سطح شهر (۶٪)، از برج‌ها و سیستم‌های خنک‌کننده بیمارستانی (۵٪) و از شیرهای آب گرم و دوش‌های حمام (۲/۹٪)، جدا گردیدند که نشان‌دهنده آلودگی این منابع به عوامل سندرم لژیونلوز می‌باشد.

نتیجه این بررسی نشان داد که منابع آبی محیطی و مخازن آب آشامیدنی و هم چنین تجهیزات کمک درمانی مورد استفاده در بیمارستان‌های ما می‌توانند پناهگاهی برای حضور لژیونلاها باشند و ممکن است از طریق آئروسول‌های آبی موجب انتشار این باکتری‌ها و آلودگی افرادی گردند که در تماس با این منابع (۳۰) و (۳۱) قرار می‌گیرند. در این میان افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی (نوزادان و افراد مسن) و یا بیماری‌های

باشند(۱۲).

زمینه‌ای در معرض ابتلای بیشتر به بیماری لژیونر می

منابع

1. Washington C, Winn JR. Legionella. In: Baron S. Medical Microbiology. London: Churchill Livingstone 1991: 545–554.
2. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle W R. Legionnaires' Disease Isolation of a Bacterium and Demonstration of its Role in Other Respiratory Disease. N Engl J Med 1977; 297 :1197 – 1203 .
3. Brook GF, Butel J S, Morse SA. Medical Microbiology. 21st ed. New York: Appelton and Lange, 1998: 273-278.
4. Brown CM, Muorti PJ, Breiman RF, et al. A Community Outbreak of Legionnaires' Disease Linked to Hospital Cooling Towers. Int J Epidemiol 1999; 28(2):353-9.
5. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert GM. Zinsser Microbiology. 19 th ed. USA Appleton and Lange 1988: 588 – 591.
6. Goetz A, Yu VL. Copper – Silver Ionization: Cautious Optimism for Legionella Disinfection and Implications for Environmental Culturing. Am J Infect Control 1997; 25(6) : 449 – 510.
7. Yu V. Resolving the Controversy on Environmental Cultures for Legionella: A Modest Proposal. Infection Control and Hospital Epidemiology 1998; 19: 893-70 .
8. Verissimo A, Vesey G, Rocha G M, et al. A Hot Water Supply as the Source of Legionella Pneumophila in Incubators of a Neonatology Unit. J Hosp Inf 1990; 15(3) : 255 – 263.
9. Caroline L, Pankhurst NW, Johnson London UK: Microbial Contamination of Dental Unit Waterlines. Int Dent J 1998; 48: 359 – 368.
10. Mastro TD, Fields BS, Breiman RF, Campbell J, Plikaytis BK, Spika JS. Nosocomial Legionnaires' Disease and Use of Medication Nebulizers. J Infect Dis. 1991; 163: 667 – 71.
11. Benson RF, Fields BS. Classification of the Genus Legionella. Semin Respir Infect Dis 1998; 13(2): 90 – 9.
12. Gerald L, Mandell JE, Bennett RD. Infectious Disease, 5 th ed. London: Churchill Livingstone , 2000: 2424 –2440.
13. Brenner D J, Steigerwalt A G, Gorman GW. Legionella Bozemanii SP Nov and Legionella Dumoffii SP Nov: Classification of Two Additional Species of Legionella Associated with Human Pneumonia . Curr Microbiol 1998; 4: 111 – 116.
14. Johnson KM, Huseby JS. Lung Abscess Caused by Legionella Micdadei. Chest. 1997: 111:252-253.
15. Camerson's AU, Walker C, Roden D. Epidemiological Characteristics of Legionella Infection in South Australia; Implications for Disease Control. Aust N Z Med 1991:21:65-70.
16. World Health Organization. Legionnaires' Disease, Europe, 1998. Wkly Epidemiol Rec 1999; 24: 273-277.
17. Moosavian M, Agin Kh , Fathollahzadeh B, et al. First Report on Co-Infection of Legionellosis and Tuberculosis in Iran. Med J Isl Rep Iran 1994: 3:191-193.
18. Moosavian M, Fathollahzaeh B, Amoli k, Moazzami N. Isolation of Legionella Pneumophila Serogroups 1,8,& 10 from Water Sources in Tehran, Iran. Iranian Bio- Medical Journal 1998; 2(2): 83-87.
19. Aslani M M, Pourmansour MT, Motavalian M. Isolation of Legionella pneumo-phila from Tehran Hospital water Samples. Iranian Biomedical Journal 1997; 1(1): 65 – 67.
20. Baron E J, Finegold S M. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8 th ed. New york: Mosby Company, 1990: 578-583.
21. Koneman EW, Allen SD, Janda W M, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. New york: Lippincott– Raven Publishers, 1997: 473- 489.
22. Hebert GA. Hippurate Hydrolysis by Legionella Pneumophila. J Clin Microbiol 1981; 13(1): 240-242.
23. Atlas RM, Williams JF, Huntington Mk. Legionella Contamination of Dental – Unit Waters. Appl Environ Microbiol 1995; 61(4): 1208 – 1213.
24. Mahoney FG, Hoge CW, Farley TA, et al. Community Wide Outbreak of Legionnaires' Disease Associated with a Grocery Store Mist Machine. J Infect Dis 1992; 165:739 – 9.
25. Wilkinson HW. Hospital Laboratory Diagnosis of Legionella Infections .2 nd ed. Atlanta: Center for Disease Control, 1988:1 – 35.
26. Mulazimoglu L, Yu VL. Legionella Infections. In: Fauci AS, et al. (ed) Harrison's Principles of

Internal Medicine. 14 th ed. Philadelphia: McGraw Hill, 1998: 928 –33.

27. Finegold S M. Legionnaires' Disease Still with Us. *New Engl J Med* 1988; 318(9): 571-3.

28. Zanetti F, Stampi S, De- Lucac' et al. Water Characteristics Associated with the Occurrence of Legionella Pneumophila in Dental Units. *Eur. J. Oral Sci* 2000; 108(1) : 22-8.

29. Takuhito N, Hisanori S, Mitsuji I. A Fetal Newborn Case of Legionella Pneumophila Occurring after Water Birth in a Bath tub with an all Day Circulating System. *IASR* 2000; 21:190- 191.

30. Marrie-TJ W, Johnson S, Tyler C, et al. Potable Water and Nosocomial Legionnaires' Disease, Check Water from all Room in which Patient has Stayed. *Epidemiol Infect* 1995; 114:267 – 276.

31. Goetz RM, Stout JE, Jacobs S L, et al. Nosocomial Legionnaires' Disease Discov-ered in Community Hospitals Following Cultures of the Water System. *Am J Infect Cont* 1998; 26(1): 8–11.

32. Roig J, Aguilar X, Ruiz J, et al. Comparative Study of Legionella Pneumophila and Other Nosocomial Acquired Pneumonia. *Chest* 1991; 99(2): 344–50.

Survey of Legionnaires' Disease Agents in Therapeutic Equipments and Drinking Water Sources in Ahwaz, Iran

Moosavian S. M., Divan Khosro Shahi N.

Abstract

Introduction: Legionella species are ubiquitous in both natural and man – made water systems. These organisms spread by the inhalation or aspiration of aerosolized organisms arising from water sources such as: rivers, hot springs , air conditioning systems, cooling towers and pools.

Objective: In order to isolate and identify Legionella in therapeutic equipments and the other water sources , in Ahwaz city (Iran).

Materials and Methods: 210 samples collected from different sources, such as neonatal incubators, dental units, water bathes, cooling towers, drinking water reservoirs, hot water taps or showers and little pools in parks , were examined. Sediment of water samples were inoculated onto selective and non-selective media such as BCYE , BMPA and MWY , before and after acidic treatment with Kcl- Hcl buffer. Isolated colonies which were suspicious of Legionella , were examined by different biochemical tests.

Results: This study resulted in isolation of 14 strains (6.6%) of Legionella, which 9 strains (64.3%) were identified as Legionella pneumophila and 5 strains (35.7%) as Legionella Spp by biochemical tests . The greatest contaminated sources were dental units (with 19 %) and the lowest ones(2.9%) were hot water taps and showers. 2 strains of Legionella were isolated from each of examined sources, such as water bathes, hospital cooling towers and neonatal incubators.

Conclusion: The results of this study showed that therapeutic equipments and different water sources such as drinking water reservoirs, were contaminated by Legionella and so, for recognition of the patients with

Legionnaires' disease and determination of different serogroups of Legionella , further epidemiological investigations in this regard are recommended .

Key words : Equipment and Supplies/ Legionella/ Legionella Pneumophila/ Legionnaires' Disease