

Review article

Effect of Biological and Environmental Factors on Legionella Growth in the Water Distribution Networks of Hospitals

Yahya Ehteshaminia¹Hamid Mohammadi¹Behzad Javadian^{2*}

- 1- BSc in Laboratory Sciences, Student Research Committee, Amol School of Paramedical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
- 2- MSc in Microbiology, Faculty Member, Amol School of Paramedical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

***Corresponding author:** Behzad Javadian, Amol School of Paramedical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Email: B_J1347@yahoo.com

Received: 18 October 2020

Accepted: 23 November 2020

ABSTRACT

Introduction and purpose: Legionella is a Gram-negative bacterium that is present worldwide in natural and man-made water sources, such as hospital water distribution networks. This bacterium causes two types of Legionnaires and Pontiac fever. This study aimed to review the effect of biological and environmental factors on legionella growth in the water distribution networks of hospitals.

Methods: The databases of PubMed, Scopus, SID, Magiran, Web of Science, IranDoc, and google scholar were searched in this study, and the related articles were reviewed from 2001 to 2020.

Results: The symbiosis of Legionella with other bacteria in the biofilm and the presence of amoebae increase the Legionella growth in the water distribution networks of hospitals. For each increase in iron and manganese concentration, the chance of Legionella presence increases 1.22 and 3.3 times, respectively. Moreover, an increase in the concentration of zinc by 1 mg/L increases the density of Legionella by 17%. Furthermore, the concentrations of zinc greater than 200 g/L and less than 100 g/L are considered inhibitory. Following that, an increase in the concentration of copper by 1 mg/L reduces the density of Legionella by 7%. The temperature for growing Legionella is from 29°C to 40°C with an optimum temperature of 35°C.

Conclusion: Amoebae, biofilm structure, metal ions, temperature, and pH affect the persistence and growth of Legionella. Sufficient knowledge of these factors can be useful in future studies to better design and construct hospital water distribution networks to provide a suitable solution to control this beneficial bacterium.

Keywords: Hospital, Legionella pneumophila, Trace elements of water, Water-soluble ions

► **Citation:** Ehteshaminia Y, Mohammadi H, Javadian B. Effect of Biological and Environmental Factors on Legionella Growth in the Water Distribution Networks of Hospitals. Journal of Health Research in Community. Autumn 2020;6(3): 73-82.

مقاله مروری

مروری بر تأثیر عوامل زیستی و محیطی بر رشد لژیونلا در شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها

چکیده

یحیی احتشامی نیا^۱
حمید محمدی^۱
بهزاد جوادیان^{۲*}

مقدمه و هدف: لژیونلا نوعی باکتری گرم منفی است که به طور طبیعی در منابع آب طبیعی و انسان ساخت نظیر شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها یافت می‌شود و دو نوع بیماری لژیونر و تب پونتیاک را ایجاد می‌کند. هدف این مطالعه، مروری بر تأثیر عوامل زیستی و محیطی بر رشد لژیونلا در شبکه توزیع آب بیمارستان‌هاست.

روش کار: در این مطالعه در پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed، Scopus، SID، Magiran، Web of Science، IranDoc و Google Scholar جست‌وجو شد و مقالات مرتبط با عنوان از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۲۰ بررسی شدند.

یافته‌ها: همزیستی لژیونلا با سایر باکتری‌ها در بیوفیلم و حضور آمیب موجب افزایش رشد لژیونلا در شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها می‌شود. به‌ازای هر واحد افزایش در غلظت آهن و منگنز، شانس حضور لژیونلا به ترتیب ۱/۲۲ و ۳/۳ برابر افزایش می‌یابد. با افزایش ۱ میلی گرم در لیتر غلظت روی، ۱۷ درصد به دانسیته لژیونلا افزوده می‌شود و غلظت‌های روی بیش از ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر و کمتر از ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر بازدارنده هستند. با افزایش ۱ میلی گرم در لیتر غلظت مس، ۷ درصد از دانسیته لژیونلا کاسته می‌شود. دمای مناسب برای رشد لژیونلا ۲۹ تا ۴۰ درجه سانتی گراد با اپتیمم ۳۵ درجه سانتی گراد است. **نتیجه گیری:** آمیب‌ها و ساختار بیوفیلم، یون‌های فلزی، دما و pH بر ماندگاری و رشد لژیونلا مؤثر هستند و پی‌بردن به اطلاعات کامل این عوامل می‌تواند در مطالعات بعدی، طراحی و ساخت بهتر شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها و ارائه راهکاری مناسب برای کنترل این باکتری سودمند باشد.

کلمات کلیدی: بیمارستان، عناصر جزئی آب، لژیونلا پنوموفیلا، یون‌های محلول در آب

۱. کارشناس علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پیرایشکی آمل، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، هیئت علمی، دانشکده پیرایشکی آمل، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

* نویسنده مسئول: بهزاد جوادیان، دانشکده پیرایشکی آمل، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

Email: B_J1347@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۳

◀ **استناد:** احتشامی نیا، یحیی؛ محمدی، حمید؛ جوادیان، بهزاد. مروری بر تأثیر عوامل زیستی و محیطی بر رشد لژیونلا در شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها. مجله تحقیقات سلامت در جامعه، پاییز ۱۳۹۹؛ ۶(۳): ۷۳-۸۲.

مقدمه

لژیونلاها باکتری‌های باسیل گرم منفی، هتروتروف، بدون اسپور و کپسول، هوازی، متحرک با فلاژل منوتریش هستند که

می‌تواند قطبی، تحت قطبی یا جانبی باشند. این باکتری‌ها سخت رشد (Fastidious) هستند و برای رشد به سیستمین نیاز دارند. قطر آن‌ها ۰/۳ تا ۰/۹ میکرون و طولشان ۲ تا ۲۰ میکرون است و متابولیسم تنفسی غیر تخمیری بر پایه کاتابولیسم آمینواسیدها دارند [۴-۱]. لژیونلا هیدروفوییک است و به تغلیظ در کف روی آب تمایل دارد و به آسانی می‌تواند به عنوان منبع آئروسل تا شعاع یک کیلومتری پخش شود [۱]. لژیونلا نوعی باکتری آبی همه‌جایی است و در سراسر جهان به‌طور طبیعی در منابع آب طبیعی و انسان‌ساخت شامل دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، نهرها، چشمه‌های آب گرم، استخرهای شنا، مخازن، شبکه‌های لوله‌کشی آب، برج‌های خنک‌کننده، سیستم‌های تهویه، منابع آب بیمارستان‌ها، هتل‌ها، مؤسسات بهداشتی، اقامتگاه‌های موقتی، منازل مسکونی، محل کار (اداره‌ها و کارخانه‌ها) می‌تواند حضور داشته باشد [۵، ۶، ۳].

تاکنون ۵۲ گونه و ۷۱ سرگروپ از خانواده لژیونلاسیه شناسایی شده است که منابع آب را آلوده می‌کنند. حداقل ۲۰ گونه آن برای انسان بیماری‌زاست. سرگروپ ۱ یا لژیونلا پنوموفیلا عامل ۸۵ درصد از عفونت‌های لژیونلایی است [۷، ۸]. زمانی که میزبان حساس ذرات ریز آب آلوده به لژیونلا را آسپیره و استنشاق می‌کند، موجب عفونت تنفسی می‌شود [۹-۱۱]. تاکنون انتقال مستقیم انسان به انسان این بیماری گزارش نشده است. با تنفس قطره‌های آلوده به لژیونلا پنوموفیلا، باکتری وارد ریه می‌شود و ماکروفاژ آن را می‌بلعد. طی این عمل، لژیونلا پنوموفیلا از اتصال لیزوزوم به فاگوزوم‌های آلوده جلوگیری می‌کند و در داخل واکوئل‌ها تکثیر می‌یابد و منجر به ادم ریه و پنومونی می‌شود که می‌تواند کشنده باشد [۱۳، ۱۲، ۱].

این باکتری موجب پنومونی به شکل اسپورادیک و اپیدمیک اکسپای از جامعه (CAP: Community Acquired Pneumonia) و بیمارستان (NAP: Nosocomial Acquired Pneumonia) یا (HAP: Hospital Acquired pneumonia) در افراد سالم و افراد دارای نقص در سیستم ایمنی می‌شود [۱۴، ۱۱]. گونه‌های لژیونلا

دو نوع بیماری مستقل کلینیکی را ایجاد می‌کنند که شامل بیماری لژیونر که شکل شدیدی از پنومونی است و دیگری تب پونتیاک که نوعی بیماری خود محدودشونده شبیه آنفلوآنزا است [۱۵، ۳]. محیط‌های بیمارستانی از حیث زمینه رشد، انتقال آئروسل و افراد در معرض خطر، مکانی با پتانسیل زیاد برای رشد و شیوع این عامل هستند [۱]. اختلاف درصد و بار آلودگی در بخش‌های مختلف یک بیمارستان می‌تواند به چرخش یا سکون آب، عمر و جنس تأسیسات آب‌رسانی موجود در این بخش‌ها مرتبط باشد [۱۶]. بر اساس گزارش مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (Centers for Disease Control and Prevention) شیوع بیماری لژیونلوزیس در بیمارستان‌ها بین ۲۵ تا ۴۵ درصد و نرخ مرگ‌ومیر برای این بیماری در بیمارستان ۳۰ درصد گزارش شده است [۱۷]. بر اساس مطالعات انجام‌شده در ایالات متحده، از سال ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۵ هر ساله به‌طور متوسط ۲ هزار نفر از طریق آب آلوده به این بیماری مبتلا شده‌اند [۱۶، ۱۴].

به نظر می‌رسد لژیونلا به کم یا زیاد بودن یون‌های فلزی حساس است. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند یون‌های فلزی خاصی برای ساختار DNA و غشای سلولی حیاتی هستند. پیش‌بینی می‌شود تقریباً نیمی از پروتئین‌های شناخته‌شده برای ساختار و عملکرد مناسب در فرایندهای سلولی نظیر انتقال الکترونی و کاتالیز، به یون‌های فلزی وابسته‌اند. باین‌حال، این یون‌های فلزی ضروری به مقدار بیش‌ازحد برای تمامی سلول‌ها کشنده هستند. علاوه‌براین، برخی یون‌های فلزی غیرضروری مانند نقره (Ag)، جیوه (Hg) و تلوریوم (Te) حتی در غلظت‌های کم نیز اثرات سمی شدیدی روی بیشتر باکتری‌ها نظیر لژیونلا دارند. به همین دلیل از این یون‌ها به‌عنوان عوامل ضد میکروبی استفاده می‌شود. در طول دهه اخیر، میکروب‌شناسان روش‌های زیادی را برای مشخص کردن مکانیسم‌های اثر سمیت یون‌های فلزی بر باکتری‌ها به کار برده‌اند که برخی از آن‌ها به‌صورت *in vivo* اثبات شده‌اند که می‌توان به اختلال در عملکرد پروتئین‌ها، تولید گونه‌های فعال

لژیونلا پنوموفیلا، بیمارستان، عناصر جزئی و ترکیبی از آنها از پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed، Scopus، SID، Magiran، Web of Science، IranDoc و موتور جست‌وجوگر Google Scholar جمع‌آوری شدند. در این پژوهش مطالعات مرتبط با عنوان مقاله و منتشر شده از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۲۰ بررسی شدند.

یافته‌ها

عوامل زیستی مؤثر بر رشد لژیونلا

لژیونلا با بودن به‌عنوان عضوی از گونه‌های مختلف درون بیوفیل‌ها و هم‌زیستی با آمیب‌ها موجب تقویت رشد خود می‌شود. مطالعات نیز نشان داده‌اند لژیونلا در سیستم توزیع آب شهری و بیمارستان‌ها در ساختار بیوفیل حضور دارد. بیوفیل به باکتری‌ها اجازه اتصال قوی به سطح و ارتباطات زیستی مؤثر در رشد بیشتر اعضای بیوفیل را می‌دهد که به دلیل تشکیل ماتریکس خارج سلولی است که ترکیبات آن شامل آب، اگزوپلی‌ساکاریدها (Exopolysaccharides)، پروتئین‌ها، لیپیدها، DNA، RNA و ترکیبات معدنی است. بعضی گونه‌های باکتریایی موجب تقویت ماندگاری و رشد لژیونلا می‌شوند و بعضی از گونه‌های باکتریایی دیگر اثر منفی بر رشد لژیونلا دارند. *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas*، *Empedobacter breve*، *Flavobacterium* sp و *putida* موجب ماندگاری و رشد بیشتر لژیونلا در بیوفیل می‌شوند. این گونه‌ها مواد کپسول و ماتریکس خارج سلولی بیوفیل را می‌سازند و موجب تقویت چسبندگی بیوفیل می‌شوند یا با فراهم کردن فاکتورهای رشد، بر رشد لژیونلا تأثیر می‌گذارند. بعضی گونه‌های دیگر نظیر *Aeromonas hydrophila*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Sphingomonas* sp. و *Acidovorax* sp، *Burkholderia cepacia* اثر مهاری بر رشد لژیونلا دارند. این مهار می‌تواند به دلیل ادراک حد نصاب (Quorum Sensing) ناشی از مولکول هموسرین لاکتون

اکسیژن (ROS: Reactive Oxygen Species) و حذف مواد آنتی‌اکسیدان، اختلال در عملکرد غشا، اختلال در جذب مواد مغذی و آسیب به ماده ژنتیک اشاره کرد [۱۸].

با توجه به مطالعه مطهری‌نیا و همکاران، آلودگی به لژیونلا پنوموفیلا در نمونه‌هایی بیشتر بوده است که آلودگی زیادی با سایر باکتری‌ها داشتند که نشان‌دهنده رابطه تکثیر و رشد لژیونلا پنوموفیلا با بیوفیل یا دیگر جمعیت‌های میکروبی همچون آمیب‌هاست [۱۹]. هم‌زیستی گونه‌های لژیونلا با سایر باکتری‌ها در لایه بیوفیل و توانایی تکثیر لژیونلاها در آمیب‌ها، منابع غذایی لازم را برای ادامه حیات باکتری فراهم و شرایطی را برای لژیونلا آماده می‌کند که می‌تواند به راحتی در شرایط نامساعد محیطی از جمله ضد عفونی‌کننده‌ها مقاومت کند. آمیب‌ها نقشی اساسی در تقویت و گسترش جمعیت لژیونلاها در محیط‌های آبی دارند. منابع آبی با تراکم زیاد تک‌یاختگان ممکن است مخزن عفونی لژیونلایی باشند. از طرفی، وقتی لژیونلا درون سلول آمیب قرار می‌گیرد، آمیب به‌مثابه پناهگاه آن را در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله خشکی، حرارت زیاد، pH، Osmolarity، کلرنی و ترکیبات بیوسایدی حفظ می‌کند [۲۰-۲۴، ۱۷، ۱۲، ۱].

هدف از این مطالعه درک بهتر محیط زندگی لژیونلا در سیستم توزیع آب بیمارستان‌ها و توجه به عوامل محیطی و زیستی تأثیرگذار بر رشد لژیونلاست. با داشتن اطلاعات کامل از شرایط و عوامل تأثیرگذار بر رشد لژیونلا می‌توان در مطالعات بعدی راهکاری مناسب برای کنترل این باکتری در سیستم‌های توزیع آب بیمارستان‌ها ارائه کرد.

روش کار

در مطالعه حاضر که به روش مروری غیرنظام‌مند انجام شد، داده‌ها با استفاده از کلمات کلیدی *Legionella*، *Legionella*، *hospital*، *pneumophila*، *microelements*، *disinfectants*،

(Homoserine Lactone) و تولید باکتریوسین‌ها (Bacteriocins)

باشد. لژیونلا با گذراندن سه فاز مختلف چرخه تشکیل بیوفیلم شامل اتصال باکتریایی به سطح زیر، بلوغ بیوفیلم و جدا شدن لژیونلا از بیوفیلم و سطح زیر از مزایای ارتباطات زیستی استفاده و خود را در محیط پخش می‌کند. آمیب‌ها نیز از عوامل زیستی تأثیرگذار بر رشد لژیونلا هستند. آمیب‌ها محیطی برای زیستن و تکثیر لژیونلا فراهم و همچنین از لژیونلا در برابر عوامل ضد عفونی کننده محافظت می‌کنند. علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند تکثیر درون آمیب‌ها، قابلیت لژیونلا برای تولید پلی ساکاریدها و توانایی ساخت بیوفیلم را افزایش می‌دهند. حتی بقایای آمیب‌های مرده نیز موجب رشد بیشتر لژیونلا می‌شوند [۲۵، ۲۶].

یون‌های فلزی مؤثر بر رشد لژیونلا آهن

مطالعات بیوشیمیایی نشان داده است باکتری لژیونلا برای رشد در محیط آزمایشگاهی به آهن نیاز دارد و این یون نقش مهمی در شدت بیماری‌زایی (Virulence) باکتری لژیونلا دارد [۲۷]. همچنین توانایی لژیونلا پنوموفیلا برای تکثیر در بدن میزبان به مقدار آهن وابسته است، به‌طوری‌که دسترسی به آهن نقشی کلیدی در بیماری‌زایی باکتری دارد. باکتری لژیونلا نوعی باکتری آهن دوست است و برای رشد به آهن نیاز دارد؛ بنابراین، در غلظت‌های کم آهن، رشد آن محدودتر می‌شود. هرچند مقدار آهن در نمونه‌های آب با استانداردهای توصیه شده برای غلظت آهن در آب شرب کشور (حداکثر مطلوب ۰/۳ میلی گرم در لیتر) مطابقت دارد، نتایج مطالعات نشان می‌دهند غلظت‌های کمتر از مقادیر استاندارد آهن نیز شرایط را برای رشد و تکثیر این باکتری در سیستم‌های آب‌رسانی مهیا می‌کند [۲۰]. هرچه میزان یون آهن در آب بیشتر باشد، شانس حضور لژیونلا افزایش می‌یابد. همچنین مقادیر زیاد آهن موجب از بین بردن ساختار بیوفیلم می‌شود [۲۵].

روی

متالوپروتئاز روی نوعی پروتئین ترشحی است که لژیونلا پنوموفیلا آن را می‌سازد و با بیماری‌زایی لژیونلوزیس در ارتباط است [۲۸]. به‌طور کلی با افزایش میزان یون روی در آب شانس حضور لژیونلا افزایش می‌یابد. در مطالعه میرمحمملو و همکاران در سال ۲۰۱۶ هیچ گونه رشدی در غلظت‌های روی کمتر از ۱۰ میکروگرم بر لیتر مشاهده نشد [۲۰]. این یون به‌صورت مستقیم در تخریب پروتئین‌های آهن-گوگرد (Iron-Sulfur Proteins) نقش دارد [۱۸].

مس و نقره

ارتباط معکوس میان غلظت مس و نقره با تراکم باکتری لژیونلا در مطالعات مختلف به اثبات رسیده و این ارتباط معکوس به ماهیت گندزدایی فلز مس مرتبط است، به‌طوری‌که گندزدایی با روش یونیزاسیون مس و نقره از جمله روش‌های مهم و مؤثر در کنترل لژیونلاست [۳۰، ۲۹، ۱۵، ۳]. این دو یون به‌طور مستقیم در تخریب پروتئین‌های آهن-گوگرد نقش دارند. اگرچه هر دو فلز مس و نقره در محدودسازی کلونیزاسیون باکتری لژیونلا تأثیر دارند، به نظر می‌رسد مس نسبت به نقره تأثیر بیشتری دارد و با توجه به ویژگی‌های شیمیایی، به‌طور مؤثرتر و بهتری به لایه بیوفیلم نفوذ می‌کند. همچنین مس به‌صورت مستقیم موجب تخریب غشای لژیونلا می‌شود [۱۸].

منگنز

نتایج مطالعه Arirachakaran و همکاران در سال ۲۰۰۷ با هدف بررسی تأثیر منگنز در رشد بیوفیلم و پلانکتون نشان داد منگنز نقشی اساسی در تشکیل بیوفیلم دارد و با حذف منگنز از محیط کشت با شرایط هوازی، جمعیت بسیار کمی از باکتری‌ها رشد می‌کنند. از طرفی دیگر، نقش محافظت کننده منگنز در فعالیت‌های آنزیمی و مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو قویاً

تأیید شده است. مطالعات نشان داده است منگنز برای سمیت‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن واکنش‌پذیر در بیشتر باکتری‌ها نقش حیاتی دارد؛ بنابراین، منگنز نه تنها با مهار شرایط نامساعد محیطی در رشد و بقای باکتری لژیونلا نقش دارد، بلکه می‌تواند از طریق تأثیر بر رشد بیوفیلم و پلانکتون‌ها به عنوان عامل محافظت‌کننده و در حضور این باکتری نقش داشته باشد [۳۱]. مطالعات نشان می‌دهد منگنز بیشترین تأثیر را در رشد لژیونلا دارد. منگنز شاخص مناسبی برای تشخیص و پیش‌بینی حضور لژیونلا در محیط‌های آبی است [۲۸].

pH

از ۵۵ درجه سانتی‌گراد موجب کاهش رشد لژیونلا می‌شود [۳]. ۱۳، ۱۷، ۳۲. درجه و شدت چسبندگی ساختار بیوفیلم در ارتباط با میزان دمای محیط است. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، بیوفیلم لژیونلا ساختاری شبه‌قارچی پیدا می‌کند که کانال‌های آبی دارد و به نفوذ مواد مغذی مورد نیاز کمک می‌کند. در دمای ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد، بیوفیلم لژیونلا ضخیم‌تر و بدون کانال‌های آبی است و ساختار رشته‌ای و حصیرمانند دارد. این ساختار موجب پایداری بیشتر لژیونلا در شرایط سخت محیطی می‌شود [۳۳، ۲۵].

دما

وجود دیواره سلولی و لایه‌های مختلف چربی باکتری موجب تحمل دامنه وسیعی از دما برای زنده ماندن و رشد باکتری می‌شود. توجه به نوع و تراکم لایه‌های چربی موجود در دیواره سلولی باکتری لژیونلا و ارتباط آن با تحمل دامنه وسیعی از دما می‌تواند به انتخاب دامنه مناسب درجه حرارت برای حذف این باکتری از محیط‌های آبی بیمارستان‌ها موجب شود [۱۶]. افزایش دما به بیش

Ohno و همکاران در سال ۲۰۰۳ pH بهینه برای رشد باکتری لژیونلا را در محدوده ۶ تا ۸ گزارش کرده‌اند [۳۴]. با توجه به اینکه pH در سیستم توزیع آب شهری در محدوده ۶ تا ۸ است، با توجه به یافته‌های Ohno و همکاران می‌توان نتیجه گرفت که این فاکتور در محدوده شرایط حاکم در آب شهر عامل مؤثری برای بازدارندگی محسوب نمی‌شود. همچنین لژیونلا می‌تواند ۳۰ دقیقه در pH برابر ۲ زنده بماند (جدول ۱) [۱۶].

جدول ۱: بررسی تأثیر برخی یون‌های فلزی، دما و pH بر رشد لژیونلا

عوامل مؤثر بر رشد	تأثیر بر رشد لژیونلا	توضیحات	منبع
آهن	↑	به‌ازای هر واحد افزایش در غلظت آهن، شانس حضور لژیونلا ۱/۲۲ برابر افزایش می‌یابد.	[۲۰، ۴۲]
روی	↑ ۲۰۰× غلظت روی ↓	با افزایش ۱ میلی‌گرم در لیتر غلظت روی در آب، ۱۷ درصد به دانسیته آلودگی آب به باکتری لژیونلا افزوده می‌شود و غلظت‌های روی بیش از ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر و کمتر از ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر عامل بازدارنده محسوب می‌شوند.	[۲۰]
مس	↓	با افزایش ۱ میلی‌گرم در لیتر غلظت مس در آب، ۷ درصد از دانسیته آلودگی آب به باکتری لژیونلا کاسته می‌شود.	[۲۰، ۲۸، ۴۳]
منگنز	↑	به‌ازای هر واحد افزایش در غلظت منگنز در آب، شانس حضور باکتری لژیونلا ۳/۳ برابر افزایش می‌یابد که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار است.	[۲۰]
دما	بهینه ۵۳ درجه سانتی‌گراد ۵۵× ↓	دمای مناسب برای رشد و تکثیر گونه‌های لژیونلا ۲۹ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد با ایتیمم ۳۵ درجه سانتی‌گراد است، ولی توانایی بقا در سیستم‌های آبی در دمای ۰ تا ۶۳ درجه سانتی‌گراد را دارند. مطالعات نشان می‌دهند افزایش دما (بیش از ۵۵ درجه سانتی‌گراد) نقش مؤثری در کنترل رشد باکتری داشته است.	[۳، ۱۳، ۱۷، ۳۲]
pH	بهینه ۸-۶ درجه سانتی‌گراد	pH بهینه برای رشد باکتری لژیونلا در محدوده ۶ تا ۸ است.	[۱۶، ۳۴]

بحث و نتیجه‌گیری

توجه به غلظت یون‌های فلزی، حضور آمیب‌ها و باکتری‌های گونه مختلف، دما و همچنین pH برای کنترل لژیونلا لازم است. با زیر نظر گرفتن این عوامل می‌توان حضور لژیونلا را در محیط پیش‌بینی کرد و قبل از پخش و تکثیر این باکتری، راهکارهایی برای کنترل و حذف آن ارائه کرد. همچنین می‌توان با کنترل این عوامل محیطی مانع رشد لژیونلا در شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها شد. هرچند آب آشامیدنی تأمین شده توسط سازمان‌های مسئول در نقطه تولید با استانداردهای تعیین شده از نظر کیفیت فیزیکی، شیمیایی و میکروبی مطابقت دارند، تغییرات شیمیایی و کلونیزاسیون میکروبی در فرایند توزیع باعث کاهش کیفیت آب در نقطه مصرف می‌شود [۲۸]. بیوفیلمی که به مرور زمان در شبکه توزیع آب تشکیل می‌شود، بیشتر در سطوح داخلی لوله‌های آب یا محیط‌هایی که جریان آب کم است و حالت راکد دارد موجب حفظ ماندگاری و رشد باکتری می‌شود [۳۵، ۱۵]؛

بنابراین، انتخاب نوع و جنس لوله‌ها و اتصالات و همچنین شست‌وشوی سیستم آب‌رسانی با آب گرم با دما و فشار زیاد به همراه کلرآسیون با غلظت زیاد برای پیشگیری از تشکیل بیوفilm و کلونیزاسیون لژیونلا می‌تواند مؤثر باشد. استفاده از فیلترهای باکتریولوژیک ۰/۲ نانومتری در سیستم توزیع آب بیمارستان‌ها می‌تواند برای کنترل لژیونلوزیس در محیط‌های بیمارستانی بسیار مؤثر و سودمند باشد. به کارگیری این فیلترها در مدت زمان حداقل یک هفته موجب حذف و کنترل آلودگی از سیستم توزیع آب می‌شود [۳۶]. pH در کارایی ضد عفونی‌کنندگی مهم است و در محدوده ۵ تا ۸/۵ قابل قبول است. pH خیلی اسیدی یا خیلی بازی سبب اختلال در تکنیک‌های کنترل لژیونلا شامل هیپرکلریناسیون و یونیزاسیون مس و نقره می‌شود [۳۷، ۳۸]. توجه دقیق به pH در تمام مراحل تصفیه آب ضروری است تا از تصفیه و گندزدایی

رضایت‌بخش آب اطمینان حاصل شود. کوتاهی در انجام این کار می‌تواند به آلودگی آب و اثرات سوء روی بو، طعم و ظاهر آب منجر شود. مقادیر خیلی زیاد pH می‌تواند ناشی از ریزش اتفاقی آلاینده‌ها، از کار افتادن سیستم تصفیه و آلودودکاری داخل لوله‌ها با روکش‌های ملات سیمانی باشد که به خوبی عمل‌آوری نشده‌اند [۳۹]. بیوفilm‌های تشکیل شده در شبکه‌های آب با میزان جریان کم و راکد از عوامل مهم در حفظ و زنده ماندن لژیونلا در غلظت‌های متعارف کلر است و ممکن است یکی از علل افزایش تراکم و تکثیر لژیونلا در سامانه آب بیمارستان‌ها، داشتن حالت راکد در برخی از ساعات شبانه‌روز باشد که به تشکیل بیوفilm و افزایش تراکم لژیونلا منجر می‌شود [۴۰، ۱۶، ۱۵].

ازجمله عوامل مؤثر در افزایش آلودگی منابع آبی به لژیونلا، عمر تأسیسات آب‌رسانی است. نتایج بررسی Oberdorfer و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی سیستم‌های آب بیمارستان نشان می‌دهد سیستم‌های آب بیمارستان‌های قدیمی نسبت به بیمارستان‌های جدید آلودگی بیشتری به گونه‌های لژیونلا دارند و به نظر می‌رسد حضور ژنوتیپ‌های مختلف لژیونلا در بیمارستان‌های قدیمی نسبت به بیمارستان‌های جدید به عمر تأسیسات آب‌رسانی آن‌ها مرتبط باشد [۴۱]. همچنین Bargellini و همکاران نشان دادند سکون آب و پدیده خوردگی در سیستم آب‌رسانی به افزایش غلظت فلزات ازجمله آهن و افزایش رشد لژیونلا منجر می‌شود. افزایش غلظت یون‌های آهن و روی 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 [۲۸]. آمیب‌ها و ساختار بیوفilm، یون‌های فلزی، دما و pH بر ماندگاری و رشد لژیونلا مؤثر هستند و پی‌بردن به اطلاعات کاملی از این عوامل می‌تواند در مطالعات بعدی، طراحی و ساخت بهتر شبکه توزیع آب بیمارستان‌ها و ارائه راهکاری مناسب در کنترل این باکتری سودمند باشد.

قدردانی

مازندران تصویب شده است. نویسندگان مقاله مراتب سپاس خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر حمایت از این طرح اعلام می‌دارند.

مطالعه حاضر با شماره IR.MAZUMS.REC.1399.8279 در

کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی

References

1. Eslami A, Momayyezi MH, Esmaili D, Joshani GH. Presence of *Legionella pneumophila* and environmental factors affecting its growth, in the water distribution system in Taleghani hospital, Tehran. *Pajoohandeh J* 2012; 17(1):32-7 (Persian).
2. Presti FL, Riffard S, Meugnier H, Reyrolle M, Lasne Y, Grimont P, et al. *Legionella gresilensis* sp. nov. and *Legionella beliardensis* sp. nov. isolated from water in France. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51(Pt 6):1949-57.
3. Carlson KM, Boczek LA, Chae S, Ryu H. Legionellosis and recent advances in technologies for legionella control in premise plumbing systems: a review. *Water* 2020; 12(3):1-676.
4. Alexander TY, Kamali A, Vugia DJ. Legionella epidemiologic and environmental risks. *Curr Epidemiol Rep* 2019; 6(3):310-20.
5. Ghanizadeh G, Mirmohammadlou A, Esmaeili D. Survey of legionella water resources contamination in Iran and foreign countries: a systematic review. *Iran J Med Microbiol* 2016; 9(4):1-15.
6. Fuchslin HP, Kötzsch S, Keserue HA, Egli T. Rapid and quantitative detection of *Legionella pneumophila* applying immunomagnetic separation and flow cytometry. *Cytometry* 2010; 77(3):264-74.
7. 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):4805-11.
8. Merault N, Rusniok C, Jarraud S, Gomez-Valero L, Cazalet C, Marin M, et al. Specific real-time PCR for simultaneous detection and identification of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in water and clinical samples. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77(5):1708-17.
9. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(3):506-26.
10. Cheng VC, Wong SS, Chen JH, Chan JF, To KK, Poon RW, et al. An unprecedented outbreak investigation for nosocomial and community-acquired legionellosis in Hong Kong. *Chin Med J* 2012; 125(23):4283-90.
11. Khaledi A, Esmaeili SA, Vazini H, Karami P, Bahrami A, Sahebkar A. Evaluation of the prevalence of *Legionella pneumophila* in Iranian clinical samples: a systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog* 2019; 129:93-8.
12. Hayatimehr S, Amirmozafari N, Masjedian F. Investigation of virulence genes and biofilm formation among legionella pneumophila isolated from hospital water sources. *Res Square* 2020; In Press.
13. Rasheduzzaman M, Singh R, Haas CN, Gurian PL. Required water temperature in hotel plumbing to control *Legionella* growth. *Water Res* 2020; 182:115943.
14. Carratala J, Garcia-Vidal C. An update on Legionella. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23(2):152-7.
15. Kim BR, Anderson JE, Mueller SA, Gaines WA, Kendall AM. Literature review- efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Res* 2002; 36(18):4433-44.
16. Mirmohammadlo A, Ghanizadeh G, Esmaeili D, Sepandi M, Avakh P. Legionelle pneumophila water contamination in three military hospitals of Tehran in 2013. *J Kermanshah Univ Med Sci* 2014; 18(7):398-408 (Persian).
17. Jalila T, Bencheikroun MN, Ennaji MM, Mekour M, Cohen N. Nosocomial Legionnaires' disease: risque and prevention. *Int J Environ Sci Res* 2012; 2(4):62-75.
18. Lemire JA, Harrison JJ, Turner RJ. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11(6):371-84.
19. Motaharinia Y, Shapuri R, Rahnama M, Aliramaie MR, Rahmani MR, Rezaie MA. Isolation of

- legionella pneumophila from environment and water system samples and evaluation of immuno-protective efficiency of its whole killed cell in mice model. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2010; 15(2):70-8 (Persian).
20. Mirmohamadlou A, Ghanizadeh G, Esmaeili D. Correlation between legionella water contamination and microelements in water lines of selected hospitals in Tehran. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 25(133):245-54 (Persian).
 21. Declerck P, Behets J, Margineanu A, van Hoef V, De Keersmaecker B, Ollevier F. Replication of *Legionella pneumophila* in biofilms of water distribution pipes. *Microbiol Res* 2009; 164(6):593-603.
 22. Lau H, Ashbolt N. The role of biofilms and protozoa in *Legionella* pathogenesis: implications for drinking water. *J Appl Microbiol* 2009; 107(2):368-78.
 23. Bartie C, Venter S, Nel L. Identification methods for *Legionella* from environmental samples. *Water Res* 2003; 37(6):1362-70.
 24. Nisar MA, Ross KE, Brown MH, Bentham R, Whiley H. *Legionella pneumophila* and protozoan hosts: implications for the control of hospital and potable water systems. *Pathogens* 2020; 9(4):286.
 25. Abu Khweek A, Amer AO. Factors mediating environmental biofilm formation by *Legionella pneumophila*. *Front Cell Infect Microbiol* 2018; 8:38.
 26. June SG, Dziewulski DM. Copper and silver biocidal mechanisms, resistance strategies, and efficacy for legionella control. *J Am Water Works Assoc* 2018; 110(12):E13-35.
 27. Strickhouser A. *Legionella pneumophila* in domestic hot water systems: evaluation of detection methods and environmental factors affecting survival. [Doctoral Dissertation]. Blacksburg, Virginia: Virginia Polytechnic Institute and State University; 2007.
 28. 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):2315-21.
 29. 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.
 30. Baron J, Morris L, Stout J. Control of *Legionella* in hospital potable water systems. Decontamination in hospitals and healthcare. Cambridge: Woodhead Publishing; 2020. P. 71-100.
 31. Arirachakaran P, Luengpailin S, Banas J, Mazurkiewicz J, Benjavongkulchai E. Effects of manganese on *Streptococcus mutans* planktonic and biofilm growth. *Caries Res* 2007; 41(6):497-502.
 32. Darelid J, Löfgren S, Malmvall BE. Control of nosocomial *Legionnaires'* disease by keeping the circulating hot water temperature above 55 °C: experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital. *J Hosp Infect* 2002; 50(3):213-9.
 33. Piao Z, Sze CC, Barysheva O, Iida KI, Yoshida SI. Temperature-regulated formation of mycelial mat-like biofilms by *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(2):1613-22.
 34. Ohno A, Kato N, Yamada K, Yamaguchi K. Factors influencing survival of *Legionella pneumophila* serotype 1 in hot spring water and tap water. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69(5):2540-7.
 35. Borella P, Guerrieri E, Marchesi I, Bondi M, Messi P. Water ecology of *Legionella* and protozoan: environmental and public health perspectives. *Biotechnol Annu Rev* 2005; 11:355-80.
 36. Vonberg RP, Eckmanns T, Bruderek J, Rüden H, Gastmeier P. Use of terminal tap water filter systems for prevention of nosocomial legionellosis. *J Hosp Infect* 2005; 60(2):159-62.
 37. Lin YS, Vidic RD, Stout JE, Yu VL. Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68(6):2711-5.
 38. Martin RL, Harrison K, Proctor CR, Martin A, Williams K, Pruden A, et al. Chlorine disinfection of *Legionella* spp., *L. pneumophila*, and *Acanthamoeba* under warm water premise plumbing conditions. *Microorganisms* 2020; 8(9):1452.
 39. Esmaeili D, Mohebaty-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.
 40. Liu Z, Lin Y, Stout J, Hwang C, Vidic R, Yu V. Effect of flow regimes on the presence of *Legionella* within the biofilm of a model plumbing system. *J Appl Microbiol* 2006; 101(2):437-42.
 41. Oberdorfer K, Müssigbrodt G, Wendt C. Genetic diversity of *Legionella pneumophila* in hospital water systems. *Int J Hyg Environ Health* 2008; 211(1-2):172-8.

42. 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):431-6.
43. van der Kooij D, Veenendaal HR, Italiaander R.

Corroding copper and steel exposed to intermittently flowing tap water promote biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila*. *Water Res* 2020; 183:115951.