Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

مقاله پژوهشی

شناسایی جنس‌های باکتریایی قابل کشت موجود در آب خروجی از سیستم‌های تصفیه آب مراکز همودیالیز

سیده معصومه ابراهیمی[1]، محمدرضا فرشچیان[2]، رضا دهقانزاده ریحانی*[3]، زهره شیری[4]، سیده مریم سیدموسوی[5]

تاریخ دریافت 1394/04/11 تاریخ پذیرش 1394/06/26

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: کیفیت میکروبی آب مورداستفاده در مراکز دیالیز خون ازنظر پزشکی دارای اهمیت ویژه‌ای است. این مطالعه باهدف شناسایی باکتری‌های قابل‌کشت در آب خروجی از سیستم‌های تصفیه آب مراکز همودیالیز وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد.

مواد و روش کار: این مطالعه توصیفی - مقطعی در سه مرکز همودیالیز بیمارستانی در سال 1393 انجام گرفت. تعداد 24 نمونه از ورودی و خروجی سیستم تصفیه آب برداشت گردید. کیفیت باکتریایی نمونه‌ها به‌وسیله آزمایش باکتری‌های کلیفرم کل و مدفوعی، شمارش بشقابی باکتری‌های هتروتروفیک به روش فیلتراسیون غشایی با محیط کشت بلاد آگار و باکتری‌های گرم منفی به روش فیلتراسیون غشایی با محیط کشت EMB آگار تعیین شد. کلنی‌های جداشده با آزمایشات بیوشیمیایی استاندارد تشخیص داده شدند.

یافته‌ها: میانگین pH، درجه حرارت و کلر باقیمانده در نمونه‌های خروجی به‌ترتیب برابر 6/9، 14/5 درجه سانتی‌گراد و صفر میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. باکتری‌های کلیفرم کل و مدفوعی در نمونه‌های ورودی منفی، ولی در نمونه‌های خروجی در یکی از مراکز مثبت بود. تعداد باکتری‌های هتروتروف در نمونه‌های خروجی در دو مرکز بیش از استاندارد انجمن توسعه تجهیزات پزشکی بود. باکتری‌های گرم منفی بیشترین فراوانی را در تمامی نمونه‌ها داشتند. سودوموناس‌ها و انتروباکترها از بیشتر نمونه‌ها ایزوله شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان می‌دهد که سیستم‌های تصفیه آب موجود در بخش‌های دیالیز بیمارستان‌ها کارآیی لازم برای تأمین آب مطابق با استاندارد میکروبی را ندارند.

کلیدواژه‌ها: بیمارستان، همودیالیز، کیفیت باکتریایی آب، دستگاه تصفیه آب، نقطه مصرف

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره هشتم، ص 680-672، آبان 1394

آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده بهداشت، گروه مهندسی بهداشت محیط تلفن: 09144184167

Email: dehghanzadehr@tbzmed.ac.ir

مقدمه

بیماران با نارسایی مزمن کلیوی از اختلالات سیستم ایمنی رنج می‌برند، و تأثیر مستقیم وضعیت اورمی و پیامدهای متابولیکی ناشی از آن، این افراد را بیشتر مستعد مبتلا به عفونت می‌سازد. این اختلالات شامل اختلال در عمل نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌های B و T و مونوسیت‌ها، فرآوری آنتی‌ژن‌های ناقص، تولید آنتی‌بادی‌ها و پاسخ ایمنی سلولی و بنابراین افزایش بروز عفونت‌های میکروبی می‌باشد (1). همچنین با افزایش خطر عوارض نامطلوب مثل: مرحله انتهایی بیماری کلیوی با کاهش قابل‌توجه امید به زندگی در بیماران با نارسایی مزمن کلیوی همراه است. یکی از روش‌های درمانی برای این بیماران، همودیالیز است که نیاز به استفاده از آب تصفیه‌شده و بدون هرگونه آلودگی می‌باشد (2). بیماران همودیالیزی، سه بار در هفته و هر بار به مدت چهار ساعت تحت درمان دیالیز قرار می‌گیرند و با 400 لیتر آب که برای تهیه مایع دیالیز استفاده می‌شود مواجهه هستند (5). آب از خون بیماران با عبور از غشاهای نازک، آلاینده‌ها را بر اساس سایز جداسازی می‌کند. در طول همودیالیز حرکت آب از خون به مایع دیالیز است اما حرکت آب از مایع دیالیز به خون نیز می‌تواند به‌صورت معکوس

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[2] کارشناس ارشد پارازیتولوژی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[3] دانشیار،گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

[4] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[5] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

نیز رخ دهد و می‌تواند به آلودگی میکروبی خون بیماران منجر شده و باعث بروز واکنش‌های تب‌زا، به‌تبع آن افت شدید فشارخون و شوک می‌شود که شرایط بیمار را وخیم‌تر می‌کند (2). به‌بیان‌دیگر مواجهه بیماران تحت دیالیزی با باکتری‌ها و اندوتوکسین‌ها با عوارض کوتاه‌مدت از قبیل تب و لرز، درد عضلانی، تهوع، خمیازه کشیدن و عوارض بلندمدت مانند میگرن و آمیلوئیدوز می‌باشد (3، 4). بنابراین اگر آب مورداستفاده برای تهیه مایع دیالیز از کیفیت و تصفیه مناسبی برخوردار نباشد انواع آلاینده‌های باکتریایی، شیمیایی و سمی می‌توانند به بیماران منتقل شود (1). ازاین‌رو کیفیت میکروبیولوژیکی آب دیالیز و مایع دیالیز برای پیشگیری از التهاب مزمن مرتبط با همودیالیز برای کاهش آمیلوئیدوز ثانویه ناشی از دیالیز، جلوگیری از واکنش‌های تب‌زا و برای بهبود کنترل کم‌خونی پس از نارسایی مزمن کلیه بسیار مهم است. این مشکلات عمدتاً به علت وجود باکتری‌ها، اندوتوکسین‌ها و فرآورده‌های باکتری‌ها هستند. درنتیجه واحدهای همودیالیز نیازمند آب باکیفیت بالا با استانداردهای بسیار دقیق‌تر هستند (6). به‌طور مثال در مطالعه‌ای که توسط Kantor و همکاران در سال 1976 باهدف بررسی شیوع واکنش‌های پیروژنیک در مراکز دیالیز انجام گرفت، نتایج نشان داد که 14 درصد از 726 مرکز دیالیز واکنش‌های پیروژنیک در بیماران گزارش کردند (7). استانداردهای متفاوتی در رابطه باکیفیت آب مورداستفاده برای تهیه مایع دیالیز در کشورهای مختلف مطرح‌شده است. ولی گسترده‌ترین استانداردهای قابل‌قبول برای کیفیت آب مورداستفاده برای تهیه مایع دیالیز، توسط انجمن توسعه تجهیزات پزشکی آمریکا (AAMI)[1] و فارماکوپه اروپا (EP)[2] تعیین‌شده است (5). استاندارد AAMI توصیه می‌کند که میزان مجاز باکتری در آبی که برای تهیه مایع دیالیز استفاده می‌کنند کم‌تر از 200 cfu/ml و میزان مجاز باکتری برای مایع دیالیز کم‌تر از 2000 cfu/ml باشد (8). بر اساس استاندارد فارماکوپه اروپا، میزان سطح آلودگی در آب مورداستفاده برای تهیه مایع دیالیز کم‌تر از 100cfu/ml می‌باشد (9). طی بررسی‌های انجام‌گرفته در کشورهای مختلف، نتایج نشان داد که میزان آلودگی میکروبی در نمونه‌های مایع دیالیز و آب تصفیه‌شده بیش از استاندارد انجمن توسعه تجهیزات پزشکی می‌باشد (10). به‌طور مثال در یک مطالعه توصیفی- مقطعی توسط Klein و همکاران باهدف بررسی کیفیت باکتریایی آب تصفیه‌شده ورودی به دستگاه و خروجی دیالیز 51 مرکز همودیالیز حاد و مزمن در ایالات‌متحده در سال 1990 انجام گرفت. نتایج نشان داد که در 53 درصد مراکز موردبررسی، آب ورودی به دیالیز دارای شمارش باکتریایی بیش از 200 cfu/ml بود (11). در تحقیق دیگری نیز توسط مخدومی و همکاران در شهر ارومیه با عنوان بررسی وضعیت آلودگی اندوتوکسینی آب مرکز همودیالیز طالقانی انجام و با استانداردهای بین‌المللی مقایسه شد. نشان داده شده است که بیش از 90 درصد از دستگاه‌ها دارای آلودگی زیادی بودند و آلودگی در روزهای آخر هفته بیش از روزهای اول هفته است (12). با توجه به اینکه بیماران تحت دیالیز دارای سیستم ایمنی ضعیفی هستند و این بیماران در برابر بیماری‌های عفونی حساس می‌باشند و مستلزم بستری شدن در بیمارستان یا نیاز به جراحی‌های مکرر دارند بنابراین این عوامل احتمال ابتلا به عفونت‌های بیمارستانی را افزایش می‌دهد (13). ازاین‌رو این مطالعه باهدف شناسایی باکتری‌های قابل‌کشت در آب خروجی از سیستم‌های تصفیه آب مراکز همودیالیز وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری:

مطالعه حاضر توصیفی-مقطعی به‌منظور بررسی کیفیت آب ورودی و خروجی سیستم‌های تصفیه آب مستقر در بخش دیالیز انجام گرفت. در شهر تبریز هفت مرکز دیالیز وجود دارد که فقط سه مرکز متعلق به دانشگاه علوم پزشکی تبریز بود که امکان هماهنگی برای نمونه‌برداری فقط در این مراکز فراهم بود. نمونه‌برداری در دو مرحله و در هر مرحله، دو نمونه همزمان از ورودی و خروجی و درمجموع 24 نمونه (12 نمونه آب ورودی و 12 نمونه آب خروجی) برداشت گردید. نمونه‌برداری در ظروف استریل انجام شد. نمونه‌ها بعد از نمونه‌برداری در ظروف شیشه‌ای استریل به حجم 1000 سی‌سی و حاوی تیوسولفات سدیم 10 درصد، در شرایط کاملاً استریل و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه دانشکده بهداشت تبریز انتقال گردید. پارامترهای pH، کلر باقیمانده توسط کیت کلرسنج و کیت pH سنج (Merck, Germany) و درجه حرارت آب توسط دماسنج در محل نمونه‌برداری مشخص شدند. فرآیند سیستم تصفیه آب در بیمارستان‌های مذکور در جدول 1 آورده شده است.

آزمایشات میکروبی:

برای تعیین بار میکروبی نمونه‌ها آزمایشات باکتری‌های کلیفرم کل و مدفوعی، شمارش بشقابی باکتری‌های هتروتروفیک (HPC)[3] و همچنین از نظر تعیین نوع باکتری‌های گرم منفی (تخمیری و غیرتخمیری) انجام شد.

[1] Association for the Advancement of Medical Instrumentation
[2] European Pharmacopeia
[3] - Heterotrophic plate count

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

روش تخمیر چند لوله‌ای (MPN):

برای بررسی کلیفرم‌های کل و مدفوعی متداول‌ترین روش استاندارد تخمیر چند لوله‌ای (MPN)[1] مورد استفاده قرار گرفت. هر نمونه بلافاصله پس از رسیدن به آزمایشگاه میکروبیولوژی محیط با روش 15 لوله‌ای و بر اساس استاندارد 4207 آئین کار آزمون‌های میکروبیولوژی آب، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مورد آزمایش قرار گرفت. ابتدا با استفاده از محیط کشت لاکتوز براث (HIMEDIA, Co.) تعداد باکتری‌های تخمیرکننده لاکتوز موجود در نمونه به روش محاسبه با فرمول توماس و تحت عنوان مرحله احتمالی تعیین گردید. سپس با کشت مجدد از لوله‌های مثبت مرحله احتمالی در محیط کشت به ریلیانت گرین به ایل لاکتوز براث (Merck, Germany)، تعداد کل کلیفرم‌های موجود در نمونه محاسبه شد(مرحله تأییدی) و در مرحله سوم از لوله‌های مثبت مرحله تأئیدی در محیط کشت E.C Broth (Merck, Germany)، کشت داده شد و تعداد کلیفرم‌های مدفوعی محاسبه شد (مرحله تکمیلی). نتیجه هر مرحله به‌صورت تعداد باکتری در هر 100 میلی‌لیتر نمونه گزارش شد (14).

روش فیلتراسیون غشایی:

تعیین و شمارش HPC و باکتری‌های گرم منفی به روش فیلتراسیون غشایی اجرا گردید. به همین منظور نمونه را با تکان دادن ظرف نمونه (به‌منظور توزیع یکنواخت میکروارگانیسم‌ها)، کاملاً یکنواخت کرده و حجم معینی از نمونه در شرایط استریل از دو عدد فیلتر غشایی (فیلتر غشایی با قطر 0/45 میکرون از نوع Cellulose Nitrate، ساخت آلمان) عبور داده شد. سپس با استفاده از پنس استریل، یکی از فیلترها را بر روی سطح پلیت حاوی محیط کشت بلاد آگار[2](Merck, Germany) جهت شمارش باکتری‌های HPC و فیلتر دیگر را بر روی محیط کشت ائوزین متیلن بلوآگار (EMB)[3] (Liolichem, Co.) برای بررسی باکتری‌های گرم منفی (تعیین نوع باکتری‌های گرم منفی تخمیری و غیرتخمیری) قرار داده و به مدت 48 – 24 ساعت در دمای 37±0/5 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از طی این مدت‌زمان، کلنی‌های رشد کرده، شمارش و نتایج را به‌صورت تعداد کلنی‌های شمارش‌شده بر روی صافی با در نظر گرفتن حجم معین صاف شده محاسبه و بیان گردید (15).

آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد:

کلنی‌های رشد کرده در محیط کشت EMB آگار و بلاد آگار ازنظر حالت و شکل کلنی، رنگ و اندازه بررسی و سپس جهت کشت انبوه و خالص‌سازی باکتری‌ها بر روی محیط کشت نوترینت آگار به مدت 24 ساعت در دمای 37±0/5 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. کلنی‌های خالص رشد کرده به کمک تست‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی استاندارد شامل رنگ‌آمیزی گرم، مشاهده لام‌های رنگ‌آمیزی با عدسی 100 چشمی میکروسکوپ، آزمایش اکسیداز و کاتالاز، تخمیر قندهای گلوکز، لاکتوز و ساکاروز و تولید گاز H_2S و CO_2 در محیط کشت TSI[4]، اکسیداسیون و تخمیر گلوکز در محیط کشت OF[5]، بررسی هوازی- بی‌هوازی بودن باکتری در تیوگلیکولات براث، بررسی تحرک و اندول در محیط کشت SIM [6] شناسایی شدند. سپس بر اساس نتایج اولیه آزمون‌های فوق، آزمون‌های افتراقی دیگری مثل رشد بر روی محیط کشت مک کانگی آگار، فنیل آلانین دآمیناز، رشد در دمای 42 درجه سانتی‌گراد، اوره آز، ONPG، احیای نیترات، لیزین دکربوکسیلاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، آرژنین دهیدرولاز، تولید پیگمان، مانیتول سالت آگار، رشد هالوفیلیک، ذوب ژلاتین، DNASE، ووگس – پروسکوئر(MR – VP)، تست سیمون سیترات و کشت بر روی ستریمید آگار انجام شد. درنتیجه با توجه به نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی باکتری‌های ایزوله شده بر اساس جداول استاندارد کتاب برگی شناسایی شدند. برای آنالیز آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS20 و از روش‌های آمار توصیفی مانند شاخص‌های مرکزی (میانگین) و پراکندگی (انحراف معیار، حداقل و حداکثر) و از آزمون تی زوجی برای تجزیه‌وتحلیل نتایج استفاده شد.

جدول (۱): فرآیند سیستم تصفیه آب در بخش‌های همودیالیز بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تبریز

بیمارستان / مراحل تصفیه	الف	ب	ج
مخزن ذخیره	+	+	+
پیش‌تصفیه	+	-	-
فیلتر کاتریجی	-	-	+
سختی‌گیری	+	+	+
کربن فعال	+	+	+
اسمز معکوس	+	+	+
مخزن ذخیره	-	+	+
کشور سازنده	ایتالیا	آمریکا	آمریکا
سال نصب سیستم تصفیه	1387	1382	1382

[1] Most probable number
[2] Blood Agar
[3] Eosin Methylene Blue Agar
[4] Triple Sugar Iron Agar
[5] Oxidative Fermentative
[6] Sulfide Indol Motility

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

یافته‌ها

در جدول 2 نتایج مربوط به میانگین، انحراف معیار، حداکثر و حداقل پارامترهای فیزیکوشیمیایی در نمونه‌های آب ورودی و خروجی از سیستم تصفیه آب مستقر در بخش همودیالیز بیمارستان‌ها آورده شده است. بر اساس نتایج حاصل، محدوده شاخص pH در نمونه‌های آب تصفیه‌شده و نمونه‌های آب ورودی به سیستم به‌ترتیب در محدوده 7/40 – 6/50 و 7/90 – 7/40 می‌باشد. شاخص درجه حرارت در آب تصفیه‌شده حدود یک تا دو درجه سانتی‌گراد بیشتر از آب ورودی به سیستم تصفیه بود (P=0/833). متوسط کلر باقیمانده در آب ورودی 0/25 ± 0/25 میلی‌گرم لیتر و در آب خروجی در تمامی نمونه‌ها صفر بود. نتایج آنالیز پارامترهای میکروبی نشان می‌دهد که تعداد باکتری‌های HPC در نمونه‌های آب تصفیه‌شده در بیمارستان ب در مقایسه با استاندارد بین‌المللی AAMI در محدود استاندارد، ولی در بیمارستان‌های الف و ج خارج از محدوده استاندارد می‌باشند (جدول 3). باکتری‌های کلیفرم کل و مدفوعی در بیمارستان‌های الف و ج در نمونه‌های آب ورودی و تصفیه‌شده وجود نداشت ولی در بیمارستان ج در نمونه‌های آب تصفیه‌شده مثبت و در آب ورودی منفی بود. توزیع فراوانی میکروارگانیسم‌های جداشده از نمونه‌های آب ورودی و خروجی دستگاه تصفیه آب در نمودار شماره 1 نشان داده شده است. به‌طورکلی در نتایج حاصل از این مطالعه، از 59 ایزوله باکتریایی جداشده از نمونه‌ها به‌ترتیب 38 ایزوله باکتری‌های گرم منفی(21 ایزوله مربوط به نمونه‌های آب تصفیه‌شده و 17 ایزوله مربوطه به نمونه‌های آب ورودی) و 21 ایزوله باکتری‌های گرم مثبت (12 ایزوله مربوط به نمونه‌های آب تصفیه‌شده و نه ایزوله مربوط به نمونه‌های آب ورودی) بود.

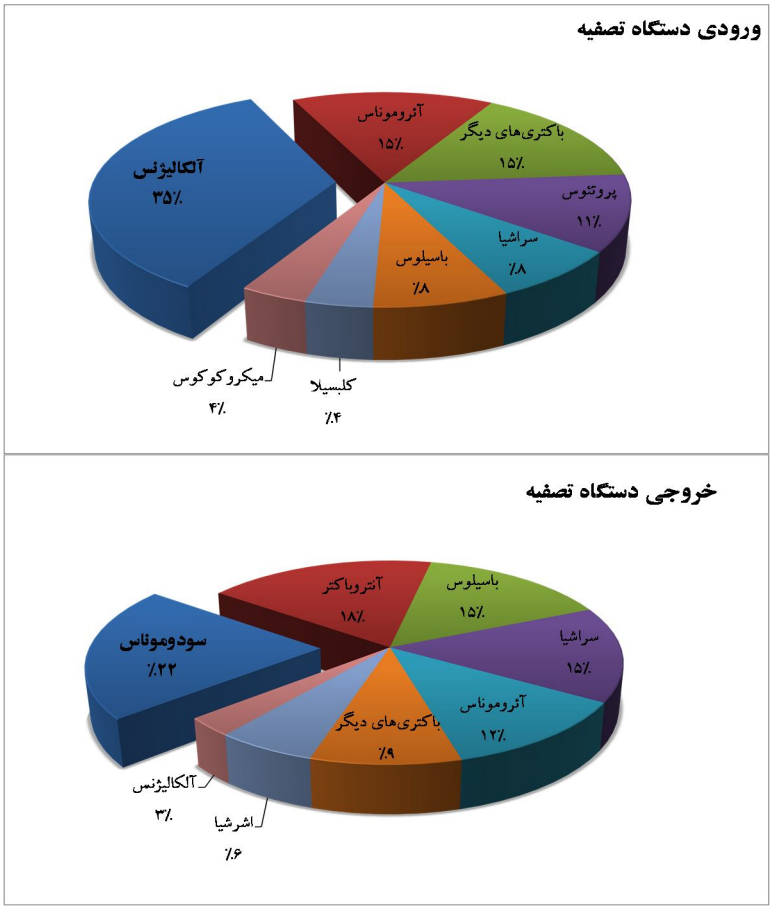
جدول (۲): آنالیز میانگین، انحراف معیار، حداکثر و حداقل پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب ورودی و خروجی از سیستم تصفیه آب بخش همودیالیز

پارامتر	ورودی دستگاه				خروجی دستگاه				آزمون t زوجی (P-value)
	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	حداقل	میانگین	انحراف معیار	حداکثر	حداقل	
pH	7/53	0/19	7/90	7/40	6/85	0/29	7/40	6/50	0/003
کلر باقیمانده (mg/l)	0/25	0/25	0/60	0	0	0	0	0	0/001
درجه حرارت (°C)	14	1/41	16	12	14/16	1/16	18	13	0/833

جدول (۳): آنالیز باکتری‌های کلیفرم کل و کلیفرم مدفوعی و شمارش بشقابی باکتری‌های هتروتروفیک (HPC) در نمونه‌های آب ورودی و خروجی از سیستم تصفیه بخش همودیالیز

بیمارستان / پارامتر	الف		ب		ج	
	ورودی	خروجی	ورودی	خروجی	ورودی	خروجی
باکتری کلیفرم کل (MPN/100 ml)	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	5/8
باکتری کلیفرم مدفوعی(MPN/100 ml)	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر	2/23
شمارش باکتری‌های هتروتروفیک (cfu/ ml)	1/4	>200	0/6	82/6	106/5	>200

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018



نمودار (۱): فراوانی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت جداشده از نمونه‌های آب ورودی و خروجی سیستم تصفیه آب همودیالیز

بحث و نتیجه‌گیری

کیفیت آب مورداستفاده برای دیالیز ازلحاظ پاتوبیولوژیکی دارای اهمیت بوده و از نگرانی‌های اصلی مسئولین بخش‌های دیالیز است، چراکه آلودگی آب مورداستفاده برای همودیالیز می‌تواند پیامدهای جدی برای بیماران داشته باشد (3). استاندارد AAMI در خصوص پارامتر pH رهنمودی ارائه نکرده است، بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که آب خروجی از سیستم‌های تصفیه اندکی کاهش در pH داشته‌اند، دلیل این کاهش می‌تواند ناشی از به هم خوردن تعادل کاتیون‌ها و آنیون‌ها باشد (16) و میانگین pH در آب خروجی از سیستم‌ها برابر 6/85 هست. کلر باقیمانده در نمونه‌های آب تصفیه‌شده برابر صفر می‌باشد که با مقدار پیشنهادی استاندارد AAMI مطابقت دارد و در محدوده استاندارد است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کیفیت آب تصفیه‌شده در دو مرکز دیالیز (66 درصد نمونه‌های خروجی) خارج از استاندارد AAMI آمریکا هست و برای تهیه مایع دیالیز مجاز نیست. نتایج حاصل از آزمایش باکتری‌های کلیفرم کل و مدفوعی در یکی از بیمارستان‌ها مثبت بود که حاکی از غیربهداشتی بودن شرایط ذخیره آب تصفیه‌شده است. به‌طورکلی نتایج شمارش کلنی‌ها نشان داد که در آب تصفیه‌شده تعداد باکتری‌ها افزایش قابل‌توجهی داشته است (P=0/328). در مطالعه‌ای که در کشور برزیل توسط Lima و همکاران صورت گرفته، مشخص‌شده است که در66 درصد نمونه‌های بعد از تصفیه رشد باکتری‌های هتروتروف وجود داشت (3). همچنین در مطالعه Arvanitidou و همکاران مشخص گردیده است که 70 درصد نمونه‌های آب تصفیه‌شده با استاندارد AAMI مطابقت داشت (17). نتایج حاصل از شناسایی باکتری‌ها در مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان باکتری جداسازی شده در نمونه‌های آب ورودی به‌ترتیب متعلق به آلکالیژنس، آئروموناس و باکتری‌های دیگر و کم‌ترین جداسازی مربوط به میکروکوکوس بود. این در حالی است که باکتری آلکالیژنس در نمونه‌های بعد از تصفیه کم‌ترین ایزوله را داشت. آلکالیژنس اغلب با عفونت‌های مثل عفونت خون، پنومونی، عفونت‌های دستگاه ادراری، التهاب قلب و عفونت گوش خارجی همراه است (18). باکتری‌های اشرشیا، سودوموناس و آنتروباکتر در نمونه‌های قبل از تصفیه وجود نداشت، درصورتی‌که

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

بعد از سیستم تصفیه بیشترین ایزوله را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین باکتری‌های پروتئوس، کلبسیلا و میکروکوکوس بعد از تصفیه مشاهده نشدند. مطالعات انجام‌شده توسط محققان دیگر نیز نشان می‌دهد که شایع‌ترین باکتری شناسایی‌شده در نمونه‌های آب تصفیه‌شده در ورودی به دستگاه دیالیز مربوط به سودوموناس می‌باشد (1، 17، 19، 20). سودوموناس مهم‌ترین عامل عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌آید. سودوموناس در افراد سالم بیماری ایجاد نمی‌کند اما در افرادی که دچار اختلال در سیستم ایمنی هستند و یا سیستم دفاعی بدن دچار اختلال گردیده است مانند سوختگی‌ها، جراحی، داشتن سوند ادراری، مصرف داروهای مهارکننده ایمنی، اشعه درمانی، دیابت، سرطان، ایدز و کهولت سن بیماری‌زا است (21). در بررسی حاضر، از 21 ایزوله گرم منفی شناسایی‌شده در نمونه‌های آب تصفیه‌شده، 68 درصد به باکتری‌های غیرتخمیری و 32 درصد به باکتری‌های تخمیری، و از 17 ایزوله گرم منفی شناسایی‌شده در نمونه‌های قبل از تصفیه باکتری‌های تخمیری و غیرتخمیری تقریباً فراوانی یکسانی داشتند. باکتری‌های گرم مثبت جداشده از محیط کشت بلاد آگار (که برای شمارش بشقابی باکتری‌های هتروتروفیک استفاده‌شده) به کمک مرفولوژی، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های اکسیداز و کاتالاز و کشت در تیوگلیکولات براث شناسایی گردیدند. این باسیل‌ها جزء باسیل‌های بدون اسپوردار هستند که در زیرگروه باسیل‌های کاتالاز مثبت قرار می‌گیرند که شامل کورینه باکتریوم و لیستریا می‌باشد که علاوه بر عفونت‌زایی می‌توانند توکسین نیز در بدن تولید نمایند (21). به‌طورکلی، 93 درصد باکتری‌های گرم مثبت مربوط به باسیل‌های گرم مثبت و 7 درصد مربوط به کوکسی گرم مثبت بود و بیشترین ایزوله مربوط به باسیلوس بود. باسیلوس در افراد دچار نقص ایمنی باعث استفراغ، دردهای شکمی و تهوع می‌شود (21). اصولاً منبع تأمین آب برای دستگاه‌های همودیالیز از شبکه آب‌رسانی شهری است که از منابع آب سطحی و زیرزمینی تأمین می‌گردد. آب‌های سطحی حاوی اندوتوکسین باکتری‌های گرم منفی و جلبک‌های سبز- آبی بوده و تصفیه آب شهری نمی‌تواند سطح اندوتوکسین باکتری‌ها را در حد قابل‌قبول کاهش دهد. حتی منابع آب شهری که کلرزنی شده‌اند نیز حاوی مقادیر پایینی از باکتری‌ها هست. بنابراین، سیستم‌های تصفیه آب در مراکز دیالیز به‌طور مداوم با این میکروارگانیسم‌ها و متابولیت‌های آن‌ها در مواجهه هستند. از فاکتورهای مؤثر در رشد باکتریایی در سیستم‌های تصفیه آب بخش همودیالیز، ماند طولانی آب در فیلترها، اتصالات و مخازن ذخیره می‌باشد که منجر به تشکیل بیوفیلم و حفاظت و رشد مجدد پاتوژن‌ها به‌ویژه به‌دلیل از بین رفتن کلر باقیمانده می‌گردد (17، 22). فیلترهایی کربن فعال به‌دلیل تخلخل و سطح ویژه زیاد ترکیبات آلی و مواد مغذی را از آب جذب و با در دسترس قرار دادن این مواد برای باکتری‌ها محیط مناسبی برای چسبیدن و رشد و تکثیر آن‌ها فراهم می‌کنند (2، 23). بنابراین اگر فیلترهای اسمز معکوس دچار نقص شوند همه میکروارگانیسم‌ها می‌توانند از این واحد عبور کنند (17). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که باکتری‌های گرم منفی (75درصد) شایع‌ترین عامل آلودگی میکروبی آب مصرفی برای تهیه مایع دیالیز هستند که این یافته‌ها مطابق با یافته‌های محققان دیگر در کشورهای مختلف است (1-3، 20). باکتری‌های گرم منفی باعث عفونت‌های مکرر در افراد دیالیزی می‌گردد و عامل اصلی مرگ‌ومیر این بیماران است (1). این باکتری‌ها قادر هستند حتی در آب‌های نسبتاً خالص خروجی از سیستم‌های اسمز معکوس نیز سریع رشد کنند و به غلظت‌های بالای 100000 cfu/ml در کم‌تر از 48 ساعت برسند (3). به‌طورکلی نتایج حاصل از مطالعه نشان می‌دهد که آب تصفیه‌شده مورد مصرف برای تهیه مایع دیالیز دارای آلودگی میکروبی می‌باشد. سیستم تصفیه آب در مراکز دیالیز از فرآیندهای مختلفی تشکیل‌شده است. که شامل لوله‌های توزیع آب، مخازن ذخیره، فیلترهای کربن فعال، غشاهای اسمز معکوس و سختی گیرها و غیره می‌باشد. مراحل تصفیه باید از طریق انجام آزمایشات مداوم بر روی کیفیت آب تولیدی به‌دقت کنترل‌شده تا از عدم رشد باکتری‌ها در سیستم اطمینان حاصل شود. ازآنجایی‌که بیماران همودیالیزی با حجم بالای آب مواجه هستند، در صورت آلودگی آب مورد مصرف در تهیه مایع دیالیز، می‌تواند خطر عفونت‌های باکتریایی یا مسمومیت ناشی از سموم باکتریایی را در بیماران افزایش دهد. بنابراین مراکز همودیالیز می‌بایست با به‌کارگیری نظرات و توصیه‌های متخصصان باصلاحیت برای طراحی، نگهداری و بهره‌برداری از سیستم تصفیه آب، استفاده از روش‌های نوین تصفیه آب، گندزدایی مناسب و صحیح آب و انجام آزمایشات کامل و مداوم باکتریایی از کیفیت آب مصرفی اطمینان حاصل کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان تعیین اثرات سیستم‌های تصفیه در محل (Point of Use) در کاهش باسیل‌های گرم منفی (اشرشیا کلی، سودومو ناس آئروژینوزا و آئروموناس) از شبکه آب شرب شهر تبریز مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز در سال 1392 با شماره 5/53/1030 است. بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه در تأمین هزینه‌های آن تشکر و قدردانی می‌گردد.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

References:

1. Montanari LB, Sartori FG, Cardoso MJdO, Varo SD, Pires RH, Leite CQF, et al. Microbiological Contamination of a Hemodialysis Center Water Distribution System. Rev I Med Trop 2009;51(1):37- 43.
2. Braimoh RW, Mabayoje MO, Amira CO, Bello BT. Microbial Quality of Hemodialysis Water, a Survey of Six Centers in Lagos, Nigeria. Hemodial Int 2014;18(1):148 - 52.
3. Lima JdRO, Marques SG, Gonçalves AG, Salgado Filho N, Nunes PC, Silva HS, et al. Microbiological Analyses of Water from Hemodialysis Services in São Luís, Maranhão, Brazil. Braz J Microbiol 2005;36(2):103 - 8.
4. Brunet P, Berland Y. Water Quality and Complications of Haemodialysis. Nephrol Dial Transpl 2000;15(5):578 - 80.
5. Pontoriero G, Pozzoni P, Andrulli S, Locatelli F. The Quality of Dialysis Water. Nephrol Dial Transpl 2003;18(suppl 7):vii21- vii5.
6. Gomila M, Gascó J, Busquets A, Gil J, Bernabeu R, Buades JM, et al. Identification of Culturable Bacteria Present in Haemodialysis Water and Fluid. Fems Microbiol Ecol 2005;52(1):101 - 14.
7. Kantor RJ, Carson LA, Graham DR, Petersen NJ, Favero MS. Outbreak of pyrogenic reactions at a dialysis center: Association with infusion of heparinized saline solution. Am J Med 1983;74(3):449 - 56.
8. AAMI. Association for the Advancement of Medical Instrumentation [Internet]. 2004 [cited 2015 Nov 21]. Available from: http://www.aami.org/search/results/index.cfm?keywords=Association+for+the+Advancement+of+Medical+Instrumentation+AAMI+Standards+and+Recommended+Practices.+Association+for+the+Advancement+of+Medical+Instrumentation%2C+Arlington%2C+VA+2004+53.
9. European Pharmacopoeia. Haemodialsysi solutions, concentrates, water for diluting In: Pharmacopoeia E. 2001.
10. Oie S, Kamiya A, Yoneda I, Uchiyama K, Tsuchida M, Takai K, et al. Microbial Contamination of Dialysate and its Prevention in Haemodialysis Units. J Hosp Infect 2003;54(2):115 - 9.
11. Klein E, Pass T, Harding GB, Wright R, Million C. Microbial and Endotoxin Contamination in Water and Dialysate in the Central United States. Artif Organs 1990;14(2):85 - 94.
12. Makhdomi k, Taravati m, Sinaei b. Level of Endotoxins in Water of Urmia Hemodialysis Center and its Comparison With International Standards. Urmia Med J 2006;17(1):9 - 15 (Persian)
13. Arvanitidou M, Vayona A, Spanakis N, Tsakris A. Occurrence and Antimicrobial Resistance of Gram-negative Bacteria Isolated in Haemodialysis Water and Dialysate of Renal Units: Results of a Greek Multicentre Study. J Appl Microbiol 2003;95(1):180 - 5.
14. ISIRI. Enumeration of Microorganisms in Water by Culture Guideline: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2009.
15. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: American public health association; 1989.
16. Miranzadeh MB, Rabbani D. Chemical Quality Evaluation for the Inlet and Outlet Water Taken from of the Desalination Plants Utilized in Kashan during 2008. Feyz 2010 14(2):120 - 5 (Persian).
17. Arvanitidou M, Spaia S, Katsinas C, Pangidis P, Constantinidis T, Katsouyannopoulos V, et al. Microbiological Quality of Water and Dialysate in all Haemodialysis Centres of Greece. Nephrol Dial Transpl 1998;13(4):949 - 54.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

18. Nasiri MJ, Zamani S, Noorazar Khoshgnab B, Rezagholizadeh F, Zamani A, Abdollahi A. Increasing Prevalence of Antimicrobial Resistance among Clinical Alcaligenes Species Isolates from Imam Khomeini Hospital in Tehran, Iran. Ardabil: Proceeding of 13th The Iranian & The Second International Congress of Microbiology; 2012.
19. Vorbeck-Meister I, Sommer R, Vorbeck F, Hörl WH. Quality of Water Used for Haemodialysis: Bacteriological and Chemical Parameters. Nephrol Dial Transpl 1999;14(3):666 - 75.
20. Borges C, Lascowski K, Pelayo J. Microbiological Quality of Water and Dialysate in a Haemodialysis Unit in Ponta Grossa-PR, Brazil. J Appl Microbiol 2007;103(5):1791 -7.
21. Mahbod Syed Ali A, Mohammadi M, hamidiFard M, Mousavi SR. The Clinical Bacteriology. Practical Techniques in the Diagnostic Laboratory PAS: Bacteriology and Virology. Tehran: Mir Book; 2008.p.203 - 97.
22. Lechevallier MW, Besner M-C, Friedman M, Speight VL. Microbiological Quality control in Distribution System. In: Edzwald JK, ed. Water Quality & Treatment : A Handbook on Drinking Water. 6th ed. New York: American Water Works Association, McGraw-Hill: 2012.P.21.1 -84.
23. Camper AK, Lechevallier MW, Broadaway SC, Mcfeters GA. Growth and Persistence of Pathogens on Granular Activated Carbon Filters. Appl Environ Microb 1985;50(6):1378 - 82.

Original Article

IDENTIFICATION OF CULTIVABLE BACTERIA SPECIES PRESENT IN OUTLET OF WATER TREATMENT SYSTEMS OF HEMODIALYSIS CENTERS

Seyedeh Masoumeh Ebrahimi[1], Mohammad Reza Farshchian[2], Reza Dehghanzadeh Reyhani[3], Zohreh Shiri[4], Seyedeh Maryam Seyed Mosavi[5]*

Received: 2 Jul, 2015; Accepted: 17 Sep, 2015

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:32 +0430 on Wednesday April 25th 2018

Abstract

***Background & Aims*:** Water microbial quality in hemodyalsis centers is particularly important in medicine. The aim of this study was to investigate cultivable bacteria present in outlet of water treatment systems in hemodialysis centers affiliated to Tabriz University of Medical Sciences.

***Materials & Methods*:**This cross-sectional descriptive study was performed in three hemodialysis wards at the hospitals in 2014. Twenty four samples were obtained from the inlet and outlet of the water treatment systems. Bacterial quality of samples were determined with total and fecal coliform bacteria test, heterotrophic plate count (HPC) by membrane filteration technique on blood agar medium and gram-negative bacteria by membrane filtration technique on EMB agar medium. Isolated colonies were identified using standard biochemical tests.

***Results*:** Average of pH, temperature and residual chlorine in outlet samples were obtained 6.9, 14.5 °C and zero mg/l, respectively. Total and feacal coliformbacteria were negative at inlet sample, but was postive in one of the outlet samples. HPC at oultel samples from two centers were higher than standart limits of Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI). Gram negative bacteria were the frequent species at all samples. Pseodomonaces spp. and Entrobacter spp. were isolated from most samples.

***Conclusions*:** The results demonstrates that water treatment devices at hemodialysis centers at hospitals do not provide enough efficiency for water supply according to the microbial quality standards.

***Keywords*:** Hospital, Hemodialysis, Bacterial quality, Water treatment device, Point of use

Address: Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
Tel: +98 9144184167
Email: dehghanzadehr@tbzmed.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(8): 680 ISSN: 1027-3727

[1]*Master Student, Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[2]*Master in Parasitology, Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[3]*Associate Professor, Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (Corresponding Author)*
[4]*Master in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Physician, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[5]*Master Student, Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*