جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آلودگی آب مصرفی در سه بیمارستان نظامی تهران به لژیونلا پنوموفیلا در سال 1392

علی میرمحمدلو[1]؛ قادر غنی‌زاده[2]*؛ داود اسماعیلی[3]؛ مجتبی سپندی[4]؛ پیمان آوخ[5]

چکیده

زمینه: شناسایی وضعیت آلودگی آب به *لژیونلا* یکی از مهم‌ترین مراحل کنترل عفونت‌های ناشی از آن است. در این مطالعه وضعیت آلودگی آب مصرفی بیمارستان‌های نظامی منتخب تهران به *لژیونلا پنوموفیلا* بررسی شد.

روش‌ها: تعداد 150 نمونه به حجم 4 لیتر از آب سرد و گرم سه بیمارستان نظامی شهر تهران برداشت شد. نمونه‌ها بعد از اندازه‌گیری کلر باقیمانده، دما و pH جهت فیلتراسیون به آزمایشگاه منتقل شدند. محیط کشت BCYE حاوی مکمل‌های لازم مطابق پروتکل تهیه و باکتری‌های مزاحم با افزودن مکمل GVPC و تیمار حرارتی حذف گردید. کلنی‌های *لژیونلا پنوموفیلا* براساس ویژگی‌های مورفولوژی و آزمایش‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. داده‌ها با آزمون‌های آماری Mann-Whitney و χ^2 آنالیز شد.

یافته‌ها: تعداد 56 نمونه (37/33٪) به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده بودند. بیشترین آلودگی در سیستم‌های تهویه مطبوع و بخش آندوسکوپی (100٪) و کم‌ترین آلودگی در بخش همودیالیز، اعصاب و روان، پزشکی هسته‌ای و آشپزخانه مشاهده شد (0%). سیستم تهویه مطبوع بیشترین دانسیته آلودگی (122×10^3 CFU/L) و بخش‌های ارتوپدی، اطفال و سونوگرافی کم‌ترین دانسیته آلودگی (1000 CFU/L) را داشتند. میانگین کلر باقیمانده، دما و pH در موارد رشد یا عدم رشد باکتری از نظر آماری اختلاف معنادار نداشت ($P>0/05$). آزمون χ^2 بین رشد یا عدم رشد باکتری و نوع سیستم آب (سرد و گرم) اختلاف معناداری نشان نداد ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: علی‌رغم استفاده از آب تصفیه‌شده شبکه توزیع شهری، 37/33 درصد نمونه‌ها به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده بودند. باکتری *لژیونلا پنوموفیلا* به غلظت‌های متداول کلر باقی‌مانده مقاوم است که برای کنترل آن در سیستم‌های آبرسانی بیمارستان‌ها باید روش‌های گندزدایی مؤثرتری استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: سیستم آبرسانی، *لژیونلا پنوموفیلا*، آلودگی آب

«دریافت: 1393/5/13 پذیرش: 1393/7/15»

1. مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران
2. مرکز تحقیقات بهداشت، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران
3. گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران
4. گروه اپیدمیولوژی و آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران
5. گروه باکتری شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **عهده‌دار مکاتبات:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، دانشکده بهداشت، تلفن:021-88054602

Email: qanizadeh@yahoo.com

مقدمه

گونه‌های *لژیونلا* کوکوباسیل‌های گرم منفی و بدون اسپور هستند که در سراسر جهان در منابع آب طبیعی و مصنوعی مانند دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، چشمه‌های آب گرم، استخرهای شنا، مخازن و شبکه‌های لوله‌کشی آب، برج‌های خنک‌کننده و سیستم‌های تهویه یافت می‌شوند (1 و 2). تاکنون 52 گونه و 71 سرگروپ از خانواده لژیونلا شناسایی شده که حداقل 20 گونه آن برای انسان

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بیماری‌زا است (3). گونه‌های *لژیونلا* عامل دو نوع بیماری مستقل کلینیکی شامل بیماری لژیونلوزیس (فرم شدید از پنومونی) و تب پونتیاک (نوعی بیماری خودمحدود شونده شبیه آنفولانزا) می‌باشد (4-6).

مطالعات نشان داده که در آمریکا و اروپا به‌ترتیب 90 و 70 درصد از بیماری لژیونلوزیس به آلودگی با گونه *پنوموفیلا* مرتبط است (3). این گونه 15سروگروپ دارد که سروگروپ‌های 6 و4 و 1 مسئول 85 درصد از عفونت‌های انسانی هستند (7).

مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (CDC: Centers for Disease Control and Prevention)، شیوع بیماری لژیونلوزیس را در محیط‌های بیمارستانی بین 45-25 درصد (8) و میزان مرگ و میر ناشی از ابتلا به این بیماری را در موارد بیمارستانی 30 درصد گزارش کرده (9) اما در برخی منابع این میزان بیش از 40 درصد گزارش شده است (1).

باکتری *لژیونلا* به‌طور عمده از طریق استنشاق و بلع آئروسل آلوده به *لژیونلا* یا آسپیراسیون ذرات ریز آب حامل باکتری در دستگاه تنفسی افراد آسیب‌پذیر جایگزین شده و موجب عفونت‌زایی می‌شود (12-10). این باکتری در بیماران بستری‌شده در بیمارستان‌ها از طریق سیستم‌های خنک‌کننده، تهویه مطبوع، دوش حمام و آب آشامیدنی باعث عفونت می‌گردد (11). نتایج مطالعات نشان می‌دهد سیستم‌های آبی ساخت بشر به‌ویژه برج‌های خنک‌کننده از عوامل اصلی شیوع لژیونلوزیس در بیمارستان‌ها و در جوامع می‌باشند (13).

ویژگی‌های خاص اکولوژیکی این باکتری و همزیستی آن با تک‌یاخته‌ها، جلبک‌ها و سایر باکتری‌ها به‌ویژه در بیوفیلم سیستم‌های آبرسانی شرایط لازم برای تحمل شرایط نامساعد محیطی، مقاومت در برابر گندزداها و رشد و تکثیر باکتری را فراهم می‌کند (16-14). بر اساس مطالعات انجام‌شده در ایالات متحده از سال 2005-2003 هرساله به‌طور متوسط 2000 نفر از طریق آب آلوده به این بیماری مبتلا شده‌اند (17).

با توجه به عوارض ناشی از *لژیونلا*، کشور فرانسه از سال 1997 برنامه‌های کنترل *لژیونلا* را به اجرا گذاشته است. در راستای اجرای این برنامه و به‌منظور پایش میزان پیشرفت در نظارت و کنترل عفونت *لژیونلا* در طی سال‌های 2008-1998 مطالعات انجام‌شده توسط Campese و همکاران نشان می‌دهد که میزان بروز بیماری لژیونلوریس از $2/5 \times 10^{-5}$ در سال 2005 به 2×10^{-5} در سال 2008 کاهش پیدا کرده است. در این محدوده زمانی تعداد 11147 مورد بیماری لژیونلوزیس گزارش شده و درصد عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *لژیونلا* از 21 به 7 درصد کاهش یافته است (9). همچنین در این کشور به‌منظور پیشگیری از شیوع بیماری لژیونلوزیس در بیمارستان‌ها، پایش محیطی اجباری شده و پیشنهاد شده برای کاهش خطر ناشی از عفونت لژیونلا دانسیته باکتری *لژیونلا پنوموفیلا* در آب بایستی کم‌تر از 1000CFU/l و در شرایط مواجهه افراد آسیب‌پذیر باید کم‌تر از 250CFU/l باشد (2). از طرفی سازمان جهانی بهداشت به‌دلیل تأثیر کیفیت آب بر شاخص DALY در رهنمود کیفیت آب آشامیدنی مقادیر مرجع باکتری *لژیونلا* را معادل 1CFU/l تعیین کرده است (18). با توجه به این‌که مطالعات متعدد نشان می‌دهد آلودگی آب مصرفی بیمارستان‌ها یکی از عوامل مهم بیماری لژیونلوزیس است (19) این مطالعه با هدف بررسی وضعیت آلودگی آب مصرفی بیمارستان‌های نظامی منتخب شهر تهران به *لژیونلا پنوموفیلا* انجام شد. آب مصرفی در بیمارستان‌های مطالعه شده از شبکه توزیع شهر تهران تامین می‌شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی-تحلیلی به‌مدت شش ماه (پاییز لغایت زمستان سال 1392) در سه بیمارستان نظامی (H_1,H_2,H_3) شهر تهران انجام شد. تعداد 150 نمونه (79 نمونه آب سرد و 71 نمونه آب گرم) در ظروف استریل از جنس پلی‌اتیلن با حجم 4 لیتر از قسمت‌های مختلف

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

شامل بخش‌های داخلی، جراحی، زنان، اعصاب و روان، دیالیز، اطفال، دندانپزشکی، انکولوژی، ای سی یو، سی سی یو و کولرهای آبی، چیلرها، برج‌های خنک‌کننده، هواسازها و ورودی آب شهر جهت بررسی حضور *لژیونلا* جمع‌آوری و آنالیز شد. جهت حذف کلر باقیمانده نمونه‌های آب از تیوسولفات سدیم **3** درصد استفاده گردید. سنجش کلر باقی‌مانده و دما در محل نمونه‌برداری و بر اساس روش‌های استاندارد انجام شد **(20)**. نمونه‌ها بلافاصله در مجاورت جعبه‌های یخ به آزمایشگاه منتقل و حداکثر در فاصله زمانی **8** ساعت با استفاده از فیلتراسیون غشایی و پمپ خلأ (مدل VE115N) و فیلتر میکرون پلی‌کربناته Uflow (Membrane Filters, pore size: 0.22- 0.45 µm) صاف‌سازی و تغلیظ شد. برای استریلیزاسیون اجزاء سیستم فیلتراسیون از اتوکلاو (دمای $121^{\circ}C$، فشار **15** پوند بر اینچ مربع و زمان **15** دقیقه) استفاده شد **(21)**. پس از فیلتراسیون، فیلتر جداسازی و در **50** میلی‌لیتر از آب فیلتر شده و داخل ظروف شیشه‌ای استریل خرد و به حالت سوسپانسیون درآمد. جهت اطمینان از جدا شدن باکتری‌ها از فیلتر آب محتوی ذرات فیلتر به‌مدت **24** ساعت با استفاده از شیکر اربیتالی (GFL-3017) با سرعت **230** دور در دقیقه مخلوط و تا زمان کشت در یخچال $4^{\circ}C$+ نگه‌داری شد **(22 و 23)**.

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 دستورالعمل تهیه و جهت کشت باکتری استفاده گردید. جهت اطمینان از کنترل باکتری‌های مزاحم، نمونه‌ها قبل از کشت با استفاده از حمام آبی (بن‌ماری) (دمای $56^{\circ}C$ به‌مدت **12** دقیقه) تیمار حرارتی گردید. **100** میکرولیتر از نمونه در کنار شعله روی محیط کشت تلقیح و پلیت‌ها در جار شمعدار محتوی **2/5** درصد دی‌اکسیدکربن به‌مدت **14-7** روز در دمای $37^{\circ}C$ و در محیط مرطوب گرمخانه‌گذاری شد **(24)**. کلنی‌های *لژیونلا* بر اساس اندازه، رنگ و خصوصیات بیوشیمیایی (تست‌های کاتالاز، اکسیداز، هیدرولیزهیپورات و رنگ‌آمیزی گرم) تشخیص داده شد. جهت اطمینان، کلنی‌های رشدکرده مجدداً روی محیط آگار خوندار (ماده پایه آن ساخت شرکت مرک آلمان و خون دفیبرینه گوسفند شرکت بهار افشان ایران) تلقیح و در دمای $35^{\circ}C$ گرمخانه‌گذاری شد و پس از اطمینان از عدم رشد، انتصابشان به *لژیونلا* مورد تأیید قرار گرفت **(24 و 25)**. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010، SPSS 15 و آزمون‌های آماری χ^2 و Mann-Whitney تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

از مجموع **150** نمونه آب جمع‌آوری‌شده از سیستم آب سرد و گرم سه بیمارستان نظامی منتخب در تهران تعداد **56** نمونه (**37/33**٪) به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده بود. نتایج مطالعه نشان داد که میزان آلودگی در بیمارستان‌های مطالعه‌شده متفاوت می‌باشند به‌طوری‌که در بیمارستان H_1، H_2 و H_3 به‌ترتیب **15/7**، **60** و **52/5** درصد نمونه‌های برداشت شده به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده بود.

وضعیت توزیع نمونه‌های برداشت‌شده، فراوانی نسبی و مطلق وضعیت آلودگی در نمونه‌های برداشت‌شده از بخش‌های مختلف محاسبه شد (جدول **1**). یافته‌ها نشان می‌دهد بیشترین موارد آلودگی مربوط به سیستم‌های خنک‌کننده و گرمایشی (هواساز، برج‌های خنک‌کننده و چیلر) و بخش آندوسکوپی و کم‌ترین آلودگی مربوط به سیستم آب (سرد و گرم) بخش همودیالیز، اعصاب و روان، پزشکی هسته‌ای، آشپزخانه و کولرهای آبی است (جدول **1**).

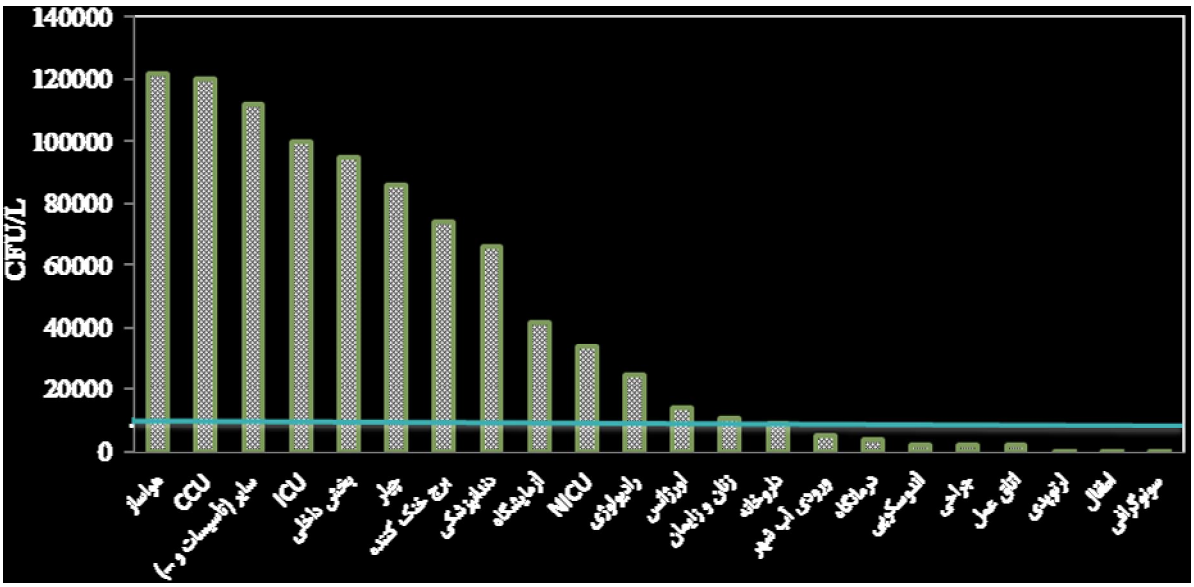
جدول 1- توزیع فراوانی نمونه‌های مورد آزمایش و نتایج جداسازی *لژیونلا* در بخش‌های مختلف

ردیف	مکان نمونه‌برداری		فراوانی نمونه‌ها		موارد مثبت لژیونلا		ردیف	مکان نمونه‌برداری		فراوانی نمونه‌ها		موارد مثبت لژیونلا	
			تعداد	درصد	تعداد	درصد				تعداد	درصد	تعداد	درصد
1	اتاق عمل	آب سرد	7	4/66	1	14/3	14	سونوگرافی و سی‌تی اسکن	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	5	3/33	1	20			آب گرم	2	1/33	1	50
2	CCU	آب سرد	3	2	2	66	15	جراحی	آب سرد	4	2/66	1	25
		آب گرم	3	2	2	66			آب گرم	5	3/33	0	0
3	ICU	آب سرد	3	2	0	0	16	پزشکی هسته‌ای	آب سرد	0	0	0	0
		آب گرم	6	4	2	50			آب گرم	2	1/33	0	0
4	بخش داخلی	آب سرد	8	5/33	4	50	17	ارتوپدی	آب سرد	3	2	1	33/3
		آب گرم	8	5/33	3	37/5			آب گرم	3	2	0	0
5	آزمایشگاه	آب سرد	2	1/33	1	50	18	ارولوژی	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	3	2	2	66/7			آب گرم	1	0/66	0	0
6	رادیولوژی	آب سرد	1	0/66	0	0	19	اعصاب و روان	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	8	5/33	5	62/5			آب گرم	1	0/66	0	0
7	داروخانه	آب سرد	1	0/66	1	100	20	همودیالیز	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	1	0/66	0	0			آب گرم	1	0/66	0	0
8	آندوسکوپی	آب سرد	1	0/66	1	100	21	درمانگاه و دی‌کلینیک	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	1	0/66	1	100			آب گرم	1	0/66	1	100
9	زنان و زایمان	آب سرد	3	2	3	100	22	سیستم‌سرمایشی / گرمایشی	چیلر،شوفاژ	3	2	3	100
		آب گرم	4	2/66	1	25							
10	دندانپزشکی	آب سرد	12	8	5	41/7	23	سیستم‌های خنک‌کننده	هواساز	1	0/66	1	100
		آب گرم	2	1/33	1	50			برج خنک‌کننده	4	2/66	4	100
11	NICU	آب سرد	2	1/33	2	100	24	آشپزخانه	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	2	1/33	1	50			آب گرم	3	2	0	0
12	اطفال	آب سرد	2	1/33	1	50	25	سایر (تأسیسات و...)	آب سرد	1	0/66	0	0
		آب گرم	2	1/33	0	0			آب گرم	4	2/66	1	25
13	اورژانس	آب سرد	2	1/33	0	0	26	ورودی آب‌شهر	آب سرد	4	2/66	2	50
		آب گرم	3	2	1	50							
	جمع		95	63/33	41			جمع		150	100	56	37/33

با توجه به تأثیر دما در میزان آلودگی، بررسی نتایج بر اساس دمای آب نشان داد تعداد **33** نمونه (**41/7%**) از نمونه‌های آب سرد (**9-29**°C) و تعداد **23** نمونه (**32/4**٪) از نمونه‌های آب گرم (**30-60**°C) به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده بودند. هرچند آنالیزهای انجام‌شده احتمال آلودگی را در آب سرد نسبت به آب گرم بیشتر نشان داد (OR=**1/49**)، اما آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون χ^2 بین رشد یا عدم رشد باکتری و نوع سیستم آب (سرد و گرم) اختلاف معناداری نشان نداد (P>**0/05**). با توجه به این‌که در اغلب مطالعات آلودگی منابع آب گرم بیشتر مورد توجه است نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در مراکز بیمارستانی بایستی کل منابع آب سرد و گرم نسبت به آلودگی *لژیونلا* مورد توجه باشد در غیر این‌صورت بخش‌های مهمی از منابع آلودگی جهت کنترل این عامل بیماری‌زای فرصت‌طلب مورد توجه قرار نمی‌گیرد.

با توجه به این‌که شناسایی وضعیت آلودگی در بخش‌های مختلف بیمارستان به‌دلیل بستری افراد با شرایط مختلف مهم می‌باشد در این مطالعه وضعیت آلودگی به‌صورت کمی (CFU/l) در بخش‌های مختلف بررسی شد تا بخش‌های بحرانی از نظر تراکم آلودگی به باکتری *لژیونلا* مشخص و در صورت نیاز تمهیدات لازم برای کنترل آلودگی فراهم شود. در میان نمونه‌های مثبت بخش‌های مختلف بیمارستان‌های مورد مطالعه، سیستم خنک‌کننده، سی‌سی‌یو، آی‌سی‌یو، بخش داخلی و دندانپزشکی بیشترین تراکم آلودگی (>**20000**CFU/l) و بخش‌های ارتوپدی، اطفال و سونوگرافی کم‌ترین تراکم آلودگی (**1000**CFU/l) را به خود اختصاص داده‌اند (نمودار **1**). خط فرضی نمودار **1** نشان می‌دهد بخش‌های زیاد و مهمی از بیمارستان‌های مطالعه‌شده دارای آلودگی بیش از CFU/l **10000** هستند که نشان‌دهنده شدت بالای آلودگی در این بخش‌ها است. باتوجه به این‌که اغلب این بخش‌ها نظیر بخش سی‌سی‌یو و آی‌سی‌یو جزء بخش‌های بحرانی هستند لازم است وضعیت بیماران و آلودگی این بخش‌ها مورد توجه جدی قرار بگیرند.

در ادامه میانگین و انحراف معیار دما، کلر باقیمانده و pH نمونه‌های آب مورد مطالعه محاسبه شد (جدول **2**). با توجه به نرمال نبودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه مقادیر میانگین کلر باقیمانده، دما و pH نمونه‌های آب



نمودار 1- تراکم آلودگی به *لژیونلا پنوموفیلا* در بخش‌های مختلف بیمارستان

در موارد رشد یا عدم رشد باکتری *لژیونلا* از آزمون ناپارامتری Mann-Whitney استفاده گردید (جدول **3**). میانگین کلر باقیمانده، دما و pH در موارد رشد یا عدم رشد باکتری در نمونه‌های مورد بررسی از لحاظ آماری اختلاف معنادار ندارد (**0/05**< P). هرچند این نتیجه غیرقابل انتظار می‌باشد اما این نتایج به ویژگی‌های خاص باکتری *لژیونلا* مرتبط است و نشان می‌دهد باکتری *لژیونلا پنوموفیلا* در برابر شرایط محیطی مقاوم بوده و دامنه وسیعی از دما و کلر باقی‌مانده را در محدوده غلظت استاندارد این عامل گندزدا تحمل می‌کند و کلر به‌عنوان عامل گندزدای متداول در غلظت‌های استاندارد آب شهری جهت حذف یا کنترل *لژیونلا* کارآیی ندارد.

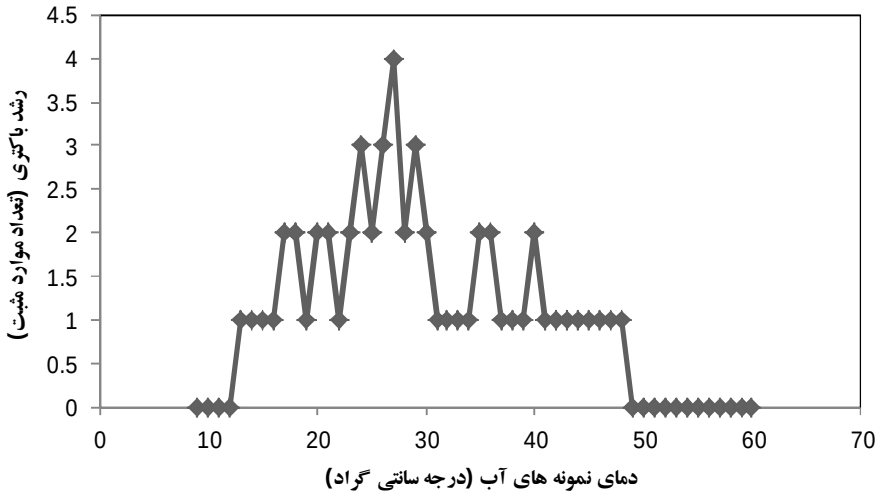
نتایج نشان می‌دهد که رشد باکتری در نمونه‌های آب با دمای کم‌تر از **10** درجه سانتی‌گراد و بالاتر از **49** درجه سانتی‌گراد منفی بوده ولی در محدوده دمای **15-45** درجه سانتی‌گراد رشد باکتری مثبت بوده است (نمودار **2**). این نتایج نشان می‌دهد در صورت استفاده از روش حرارتی برای کنترل این عامل بایستی دمای

جدول 2 - مقادیر کلر باقیمانده، دما و pH نمونه‌های آب مورد مطالعه

ردیف	فاکتورهای مورد آنالیز	واحد	حداقل	حداکثر	میانگین(انحراف معیار)
1	دمای آب	°C	9	60	30/6 (12/60)
2	غلظت کلر باقی‌مانده	mg/l	0	1/4	0/4 (0/4016)
3	pH	---	7/5	8/2	7/8 (0/2262)

جدول 3 - مقایسه میانگین کلر باقیمانده، دما و pH نمونه‌های آب با متغیر رشد یا عدم رشد باکتری *لژیونلا*

ردیف	فاکتورهای مورد آنالیز	واحد	میانگین در موارد رشد باکتری	میانگین در موارد عدم رشد باکتری	P value
1	غلظت کلر باقیمانده	mg/l	0/47±0/44	0/35±0/37	0/164
2	دمای آب	°C	28/3±10/28	32/03±13/68	0/142
3	pH	---	7/82±0/27	7/79±0/19	0/47



نمودار2 - ارتباط دما با حضور باکتری در دماهای مختلف

سیستم‌های تأمین‌کننده آب سرد در محدوده کم‌تر از 10 درجه سانتی‌گراد و برای سیستم‌های تأمین‌کننده آب گرم بالاتر از 50 درجه سانتی‌گراد کنترل شود. این نتایج به همراه نتایج ناشی از معنادار نبودن رشد یا عدم رشد باکتری با متغیرهای کلر باقی‌مانده و دما نشان دهنده دامنه تحمل و رشد باکتری در دامنه وسیعی از دما و کلر باقی‌مانده می‌باشد و نشان می‌دهد که باکتری *لژیونلا* می‌تواند شرایط‌های مختلف و متعارف موجود در منابع آب شهری/ بیمارستان‌ها را تحمل کرده و از این طریق می‌تواند باعث عفونت‌زایی شود.

بحث

در مطالعه حاضر سیستم آب بیمارستان‌های مورد بررسی با استفاده از روش کشت بررسی شد و نتایج نشان داد 37/33 درصد از نمونه‌های بررسی‌شده به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده هستند.

بر اساس نتایج این مطالعه سیستم‌های گرمایشی و خنک‌کننده بالاترین میزان آلودگی را دارند. آلودگی سیستم‌های خنک‌کننده و هواساز که به‌طور مستقیم هوای ایجادشده در آن‌ها افراد داخل بیمارستان را در معرض تماس قرار می‌دهد از اهمیت بالایی برخوردار است. این میزان آلودگی در برج‌های خنک‌کننده به‌خصوص در اماکنی مثل بیمارستان که محل تجمع بیماران (قلبی، ریوی و...)، افراد آسیب‌پذیر و با سیستم ایمنی تضعیف شده می‌باشد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعه Campese و همکاران در کشور فرانسه از سال 1998-2008 مؤید اهمیت آلودگی برج‌های خنک‌کننده می‌باشد. این محققین 11147 مورد از بیماری لژیونلوزیس را در طی 10 سال شناسایی و برج‌های خنک‌کننده را محتمل‌ترین منبع عفونت تعیین کردند (9). بررسی سیستماتیک Walser و همکاران نیز در سال 2001-2012 نشان‌دهنده ارتباط وقوع تعداد 104 مرگ ناشی از لژیونلوزیس با آلودگی برج‌های خنک‌کننده است (26). نتایج مطالعات نشان می‌دهد برج‌های خنک‌کننده مراکز بیمارستانی بالاترین میزان آلودگی به باکتری *لژیونلا* را دارند و می‌توانند مهم‌ترین منبع انتشار باکتری و عامل بروز بیماری لژیونلوزیس در بیمارستان‌ها باشند. علت این پدیده ممکن است به فقدان دستورالعمل مناسب جهت بهره‌برداری و نگه‌داری این سیستم‌ها مرتبط باشد. بنابراین تجدید نظر در طراحی، ساخت، نصب و بهره‌برداری/ نگه‌داری از برج‌های خنک‌کننده می‌تواند جزء اساسی‌ترین اقدامات در کاهش موارد بیماری لژیونلوزیس در بیمارستان‌ها باشد.

در مطالعه مطهری‌نیا و همکاران از 30 نمونه آب برداشت‌شده از کولرهای آبی تنها 2 نمونه به *لژیونلا پنوموفیلا* آلوده بودند (27) که نشان‌دهنده درصد پایین آلودگی (6/7%) در آب مصرفی کولرها می‌باشد که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد، به‌طوری‌که در مطالعه حاضر نیز در 6 نمونه جمع‌آوری‌شده از کولرهای آبی *لژیونلا* شناسایی نشد. علت درصد پایین آلودگی آب کولرها به *لژیونلا* به دمای آب ارتباط دارد. با توجه به این‌که دمای نمونه‌های آب برداشت‌شده از کولرها در لحظه نمونه‌برداری 9-12°C بوده است می‌توان نتیجه گرفت که *لژیونلا* نمی‌تواند در دمای کم‌تر در آب حضور داشته باشد. نتایج نشان داده شده در نمودار 2 نیز تأیید می‌کند *لژیونلا* در نمونه‌هایی با دمای کم‌تر از حدود 15 درجه سانتی‌گراد رشد نداشته است. همچنین با توجه به تماس آب با پوشال کولر این احتمال وجود دارد که ترکیباتی از مواد تشکیل‌دهنده الیاف پوشال در آب وارد می‌شود که این ترکیبات برای باکتری *لژیونلا* مضر است که به موجب آن شرایط برای رشد و تکثیر باکتری فراهم نمی‌شود.

نتایج نشان داد که رشد باکتری در سیستم آب سرد و گرم تفاوتی با هم ندارد. این نتیجه نشان می‌دهد که باکتری می‌تواند در هر دو سیستم آب گرم و سرد وجود داشته باشد. هرچند اغلب مطالعات آلودگی سیستم‌های آب گرم را بیشتر گزارش کرده‌اند اما نتایج

به‌دست‌آمده در این مطالعه و برخی مطالعات دیگر نشان می‌دهد باکتری *لژیونلا* از هر دو سیستم آب سرد و گرم شناسایی و جداسازی شده است **(19** و **28)**. بنابراین در برنامه‌های پایشی یا بررسی آلودگی آب به *لژیونلا* باید هر دو سیستم آب گرم و سرد مورد توجه باشد.

از طرفی بر اساس نتایج در زمینه توزیع رشد باکتری (موارد مثبت) و عدم رشد باکتری (موارد منفی) در دماهای مختلف باکتری می‌تواند در محدوده دمای **15-45** درجه سانتی‌گراد رشد کند که نشان دهنده تحمل دامنه وسیعی از دما توسط باکتری است. یکی از علل عدم تأثیر دما و معنادار نبودن ارتباط دما با رشد یا عدم رشد باکتری به تحمل بالای دماهای مختلف توسط باکتری مرتبط است. نتایج این مطالعه با یافته‌های Bargellini و همکاران در ایتالیا مطابقت دارد. به‌طوری‌که این محققین نیز گزارش کرده‌اند اختلاف میانگین دمای نمونه‌های آب مورد بررسی در موارد مثبت و منفی باکتری معنادار نبوده است **(14)**. علت این پدیده و تحمل دامنه وسیعی از دما برای زنده ماندن و رشد باکتری می‌تواند به ساختار دیواره سلولی باکتری و وجود لایه‌های مختلف چربی مرتبط باشد. توجه به نوع و تراکم لایه‌های چربی موجود در دیواره سلولی باکتری *لژیونلا* و ارتباط آن با تحمل دامنه وسیعی از دما به‌عنوان یک عامل گندزدای مؤثر برای حذف *لژیونلا* می‌تواند برای تصمیم‌گیری و انتخاب دامنه مناسب درجه حرارت بهره‌برداری از سیستم‌های آبرسانی مراکز درمانی، انتخاب گندزدایی مناسب و کاربرد گندزدایی با روش حرارتی برای حذف این باکتری از محیط‌های آبی مورد توجه قرار گیرد **(16)**.

نتایج مطالعه Darelid و همکاران نیز با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد. این محققین گزارش کرده‌اند که نگه‌داری دمای آب گرم گردشی در دماهای بالاتر از **55**°C نقش مؤثری در کنترل رشد باکتری داشته و موجب کاهش موارد لژیونلوزیس در بیمارستان شده است **(29)**. با توجه به این‌که دمای مناسب برای رشد و تکثیر *لژیونلا* **25-42**°C می‌باشد **(10)** در مطالعه حاضر نیز موارد مثبت و رشد باکتری در محدوده دمایی **15-45**°C حاصل شده است که با یافته‌های مطالعات دیگر مطابقت دارد **(28)**.

pH اندازه‌گیری‌شده در نمونه‌های آزمایش‌شده در محدوده **7/5-8/2** بود و آزمون χ^2 نشان داد که اختلاف میانگین pH در نمونه‌های مثبت و منفی (موارد رشد و عدم رشد باکتری) معنادار نیست. Ohno و همکاران pH بهینه برای رشد باکتری لژیونلا را در محدوده **6-8** گزارش کرده‌اند **(30)**. با توجه به این‌که pH در سیستم توزیع آب شهری در محدوده **6-8** می‌باشد بنابراین بر اساس یافته‌های Ohno و همکاران می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این فاکتور در محدوده شرایط حاکم در آب شهر عامل مؤثری برای رشد یا بازدارندگی محسوب نمی‌شود و علت معنادار نشدن ارتباط pH و رشد یا عدم رشد به این علت مرتبط می‌باشد. اختلاف میانگین کلر باقیمانده در موارد رشد و عدم رشد باکتری در این مطالعه معنادار نبوده و کلر باقیمانده اندازه‌گیری شده در نمونه‌های آنالیز شده در محدوده **0-1/4**mg/l (میانگین **0/4**mg/l) بوده است. در مطالعه Serrano-Suarez و همکاران نیز که میانگین کلر باقیمانده در نمونه‌های برداشت‌شده **0/5**ppm بوده است اختلاف میانگین کلر باقیمانده در موارد رشد و عدم رشد معنادار نبوده است **(31)**. نتایج این مطالعه و سایر محققین نشان می‌دهد که این باکتری به غلظت‌های متعارف کلر باقیمانده موجود در سیستم‌های آبرسانی شهری مقاوم می‌باشد و یکی از علل حضور، رشد و تکثیر باکتری *لژیونلا* در آب مراکز بیمارستانی به مقاوم بودن باکتری در برابر غلظت‌های متعارف کلر مرتبط می‌باشد. بنابراین در صورت استفاده از کلر برای حذف این باکتری بایستی از غلظت‌های بالاتر استفاده شود در غیر این‌صورت استفاده از کلر برای کنترل باکتری *لژیونلا* مؤثر نبوده و لازم است از گندزداهای مؤثرتر استفاده گردد. زیرا نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش نشان داد علی‌رغم این‌که بیمارستان‌های

مورد مطالعه از سیستم آب تصفیه‌شده شهری استفاده می‌کنند و میانگین کلر باقی‌مانده در آن‌ها در محدوده استاندارد (0/4 میلی‌گرم در لیتر) می‌باشد، 37/33 درصد از نمونه‌ها به *لژیونلا* آلوده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که روش‌های متداول تصفیه و گندزدایی با کلر برای حذف *لژیونلا* کافی نیست و برای حذف آن از سیستم آبرسانی بایستی از روش‌های تلفیقی نظیر منوکلرآمین به‌همراه پرتو UV به‌صورت هم‌زمان و در محل استفاده گردد (32). بر اساس نتایج این مطالعه و نتایج مطالعات دیگر حضور باکتری در منابع آب تصفیه‌شده و دارای کلر باقیمانده در محدوده استاندارد می‌تواند به خصوصیات اکولوژیک این باکتری مرتبط باشد. مطالعات اکولوژیکی نشان می‌دهد که تک‌یاختگان محل زندگی مناسب برای گونه‌های *لژیونلا* فراهم نموده و موجب حفظ آن در برابر عملیات تصفیه آب (کلرزنی و ...) می‌شوند. از طرفی وقتی *لژیونلا* درون سلول آمیب قرار می‌گیرد آمیب به مثابه پناهگاه آن را در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله خشکی، حرارت بالا، osmolarity، pH، کلرزنی و ترکیبات بیوسایدی حفظ می‌کند (16 و 33). همچنین مقاومت، رشد و تکثیر باکتری در سیستم‌های آبی به زنده ماندن باکتری در داخل بیوفیلم مرتبط می‌شود (33). بیوفیلم‌های تشکیل‌شده در شبکه‌های آب با میزان جریان کم و راکد از دیگر عوامل مهم در حفظ و زنده ماندن *لژیونلا* در غلظت‌های متعارف کلر می‌باشد و ممکن است یکی از علل افزایش تراکم و تکثیر *لژیونلا* در سامانه آب بیمارستان‌ها داشتن حالت ماند در برخی از ساعات شبانه‌روز باشد که منجر به تشکیل بیوفیلم و افزایش تراکم *لژیونلا* می‌گردد (34). KIM و همکاران گزارش کرده‌اند در شرایط وجود بیوفیلم برای این‌که کلر بتواند باکتری *لژیونلا* را حذف کند بایستی حداقل غلظت 4 میلی‌گرم در لیتر با زمان تماس 24 ساعت استفاده گردد (6). با توجه به این‌که این شرایط در سیستم‌های آبرسانی قابل استفاده نیست، لازم است در مراکز درمانی برای کنترل *لژیونلا* روش‌های گندزدایی مؤثرتر بررسی و استفاده شود.

تراکم آلودگی به باکتری *لژیونلا* در مطالعه حاضر در محدوده 1000-122000CFU/l با میانگین 25500CFU/l تعیین شد و نتایج نشان داد که تراکم آلودگی در بخش‌های مختلف متفاوت است. اختلاف درصد و بار آلودگی در بخش‌های مختلف یک بیمارستان می‌تواند به چرخش یا سکون آب، عمر تأسیسات و جنس تأسیسات آبرسانی موجود در این بخش‌ها مرتبط باشد. از طرفی آب تهران از منابع مختلف تأمین می‌شود و این منابع ممکن است از نظر کیفیت شیمیایی (به‌عنوان یک عامل مؤثر در زنده ماندن و رشد باکتری *لژیونلا*) و باکتریایی متفاوت باشند. این تفاوت هرچند به مقدار جزیی با توجه به ویژگی‌های بیوشیمیایی باکتری ممکن است بر رشد، بقاء و تراکم آن مؤثر باشد.

در مطالعه Napoli و همکاران که به‌منظور تعیین بار آلودگی سیستم آب بیمارستان در کشور ایتالیا انجام شد، بار آلودگی باکتری *لژیونلا* در آب در محدوده 200-40000CFU/L گزارش شده است (35). در مطالعه Bargellini و همکاران میانگین بار آلودگی 4500CFU/L تعیین شده است (14). اختلاف در تراکم آلودگی به *لژیونلا* در سیستم آبرسانی بیمارستان‌ها در کشورهای مختلف به کیفیت اولیه منابع آب، استانداردهای وضع‌شده برای کیفیت فیزیکی، شیمیایی و میکروبی آب در هر کشور، سیستم لوله‌کشی و جنس مواد به‌کار رفته در آن، تدوین و اجرای دستورالعمل پیشگیری و کنترل *لژیونلا* در بیمارستان و همچنین به شرایط رکود آب، تشکیل بیوفیلم، دمای آب و روش‌های گندزدایی مرتبط می‌باشد. استاندارد کشور ایتالیا حداکثر تراکم *لژیونلا* را در آب بیمارستان‌ها 10000CFU/l تعیین کرده و تأکید دارد اگر تراکم آلودگی از این حد بالاتر رود حتی بدون گزارش عفونت‌های مرتبط باید اقدام اساسی در خصوص گندزدایی و حذف *لژیونلا* انجام شود (35). کشور

فرانسه برای کاهش خطر ناشی از عفونت *لژیونلا* دانسیته آلودگی سیستم آب به *لژیونلا پنوموفیلا* را کم‌تر از 1000CFU/L و برای تماس افراد آسیب‌پذیر کم‌تر از 250CFU/l پیشنهاد کرده است (2). مقایسه یافته‌های این مطالعه و مطالعات مشابه خارجی که به‌نظر می‌رسد این رهنمودها را بر اساس مشاهدات تدوین کرده‌اند، مؤید تراکم آلودگی بالا در بسیاری از بخش‌های بیمارستان‌های مورد مطالعه می‌باشد. این وضعیت ممکن است به شرایط بهره‌برداری و نگه‌داری سیستم‌های آبرسانی مراکز درمانی مرتبط باشد.

نتیجه‌گیری

غلظت‌های متعارف و استاندارد کلر به‌عنوان گندزدای متداول برای گندزدایی آب شرب شهری و حذف *لژیونلا* کارآیی ندارد و لازم است در بیمارستان‌ها از روش‌های مؤثرتر به‌صورت سامانه داخلی برای حذف *لژیونلا* استفاده گردد. با توجه به بالا بودن میزان آلودگی در سیستم‌های خنک‌کننده به‌ویژه در برج‌های خنک‌کننده توصیه می‌گردد در طراحی، ساخت و بهره‌برداری این تجهیزات تجدیدنظر شود. با توجه به این‌که در این مطالعه در اغلب بخش‌های مهم بیمارستان‌های مطالعه‌شده نظیر آی‌سی‌یو و سی‌سی‌یو تراکم *لژیونلا* از مقادیر رهنمودی کشورهای توسعه یافته بالاتر و نگران کننده می‌باشد، لازم است مطالعه جامع به‌صورت یک طرح ملی سازمان یافته در بیمارستان‌های کشور انجام و استاندارد ملی برای تراکم *لژیونلا* تدوین گردد. با توجه به این‌که آلودگی با *لژیونلا* آسیب‌های بهداشتی و اقتصادی مهمی را در سیستم‌های بهداشتی- درمانی ایجاد می‌کند، لازم است در صورت مشاهده تراکم بالاتر از حدود تعیین‌شده سیاست‌گذاری‌ها و برنامه‌های منظمی برای پایش و کنترل وضعیت آلودگی به *لژیونلا* تدوین/ روزآمدسازی شده و در بیمارستان‌های کشور اجرا شود.

در تحقیقات آینده ارتباط بین میزان آلودگی محیطی با عفونت‌های پنومونی بیمارستانی با منشاء *لژیونلا* مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط می‌باشد. بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات بهداشت و دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج) به لحاظ حمایت‌های مالی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Jalila T, Benchekroun MN, Ennaji MM, Mekkour M, Cohen N. Nosocomial Legionnaires' disease: Risque and prevention. Int J Environ Sci Res. 2012;1(3):72-85.
2. 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 Microb. 2011;77(4):1268-75.
3. Ditommaso S, Giacomuzzi M, Gentile M, Zotti CM. Antibody detection and cross-reactivity among species and serogroups of Legionella by indirect immunofluorescence test. J Microbiol Meth. 2008;75(2):350-53.
4. Allen JG, Myatt TA, Macintosh DL, Ludwig JF, Minegishi T, Stewart JH, et al. Assessing risk of health care-acquired Legionnaires' disease from environmental sampling: the limits of using a strict percent positivity approach. Am J Infec Control. 2012;40(10):917-21.
5. Nazarian EJ, Bopp DJ, Saylors A, Limberger RJ, Musser KA. Design and implementation of a protocol for the detection of Legionella in clinical and environmental samples. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008;62(2):125-32.
6. 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.
7. Gruas C, Llambi S, Arruga MV. Detection of Legionella spp. and Legionella pneumophila in water samples of Spain by specific real-time PCR. Arch Microbiol. 2014;196(1):63-71.
8. Zhang Z, McCann C, Hanrahan J, Jencson A, Joyce D, Fyffe S, et al. Legionella control by chlorine dioxide in hospital water systems. J AWWA. 2009;101(5):117-27.
9. Campese C, Bitar D, Jarraud S, Maine C, Forey F, Etienne J, et al. Progress in the surveillance and control of Legionella infection in France, 1998-2008. Int J Infect Dis. 2011;15(1):e30-7.

10. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. Clin Microbiol Rev. 2002;15(3):506-26.
11. Ozerol IH, Bayraktar M, Cizmeci Z, Durmaz R, Akbas E, Yildirim Z, et al. Legionnaire's disease: a nosocomial outbreak in Turkey. J Hosp Infect. 2006;62(1):50-7.
12. 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 (Engl). 2012;125(23):4283-90.
13. Ulleryd P, Hugosson A, Allestam G, Bernander S, Claesson BE, Eilertz I, et al. Legionnaires' disease from a cooling tower in a community outbreak in Lidkoping, Sweden- epidemiological, environmental and microbiological investigation supported by meteorological modelling. BMC Infect Dis. 2012;12:313.
14. 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.
15. Declerck P, Behets J, van Hoef V, Ollevier F. Replication of Legionella pneumophila in floating biofilms. Curr Microbiol. 2007;55(5):435-40.
16. Lau HY, Ashbolt NJ. The role of biofilms and protozoa in Legionella pathogenesis: implications for drinking water. J Appl Microbiol. 2009;107(2):368-78.
17. Carratala J, Garcia-Vidal C. An update on Legionella. Curr Opin Infect Dis. 2010;23(2):152-7.
18. Azuma K, Uchiyama I, Okumura J. Assessing the risk of Legionnaires' disease: The inhalation exposure model and the estimated risk in residential bathrooms. Regul Toxicol Pharm. 2013;65(1):1-6.
19. Fragou K, Kokkinos P, Gogos C, Alamanos Y, Vantarakis A. Prevalence of Legionella spp. in water systems of hospitals and hotels in South Western Greece. Int J Environ Health Res. 2012;22(4):340-54.
20. APH. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington DC: American Public Health Association. 2005;1268.
21. CDC. Procedures for the Recovery of Legionella from the Environment. 1st ed. Atlanta, GA: CDC. 2005;1-13
22. Kao PM, Tung MC, Hsu BM, Chiu YC, She CY, Shen SM, et al. Identification and quantitative detection of Legionella spp. in various aquatic environments by real-time PCR assay. Environ Sci Pollut Res Int. 2013;20(9):6128-37.
23. Bartie C, Venter SN, Nel LH. Identification methods for Legionella from environmental samples. Water Res. 2003;37(6):1362-70.
24. 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 (Persian)]. Pejouhandeh. 2012;17(1):32-7
25. Ghotaslou R, Yeganeh Sefidan F, Akhi MT, Soroush MH, Hejazi MS. [Detection of legionella contamination in tabriz hospitals by PCR assay (Persian)]. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2013;3(1):131-4.
26. Wewalka G, Schmid D, Harrison TG, Uldum SA, Luck C. Dual infections with different Legionella strains. Clin Microbiol Infec. 2014;20(1):O13-9.
27. 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 (Persian)]. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2010;15(2):70-8.
28. Arvand M, Jungkind K, Hack A. Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by Legionella pneumophila: do we know the true dimension? Euro Surveill. 2011;16(16):1-6.
29. Darelid J, Lofgren S, Malmvall BE. Control of nosocomial Legionnaires' disease by keeping the circulating hot water temperature above 55 degrees C: experience from a 10-year surveillance programme in a district general hospital. J Hosp Infec. 2002;50(3):213-9.
30. Ohno A, Kato N, Yamada K, Yamaguchi K. Factors influencing survival of Legionella pneumophila serotype 1 in hot spring water and tap water. App Environ Microbiol. 2003 ;69(5):2540-7.
31. Serrano-Suarez A, Dellunde J, Salvado H, Cervero-Arago S, Mendez 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):5534-44.
32. Berry D, Xi C, Raskin L. Microbial ecology of drinking water distribution systems. Curr Opin Biotech. 2006;17(3):297-302.
33. Borella P, Guerrieri E, Marchesi I, Bondi M, Messi P. Water ecology of Legionella and protozoan: environmental and public health perspectives. Biotech Ann Rev. 2005;11:355-80.
34. Liu Z, Lin YE, Stout JE, Hwang CC, Vidic RD, Yu VL. 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.
35. Napoli C, Iatta R, Fasano F, Marsico T, Montagna MT. Variable bacterial load of Legionella spp. in a hospital water system. Environ Sci Pollut Res Int. 2009 20;408(2):242-4.