

Ocena technologii ActivTek™ do inaktywacji bakterii *Legionella* w inokulowanych systemach wodnych

**Laboratorium Bezpieczeństwa i
Ochrony Żywności
Uniwersytetu Stanowego w Kansas**

WPROWADZENIE

Według Centrów ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (CDC) w Stanach Zjednoczonych, choroba legionistów (LD) wywołuje ciężkie, w niektórych przypadkach śmiertelne zapalenie płuc. Zapalenie płuc i gorączka Pontiac (PF), grypopodobna choroba z tendencją do samoistnego ustępowania, to dwie najczęstsze formy legionelozy wywoływanej przez bakterię *Legionella*. W opinii Fields i wsp. (2002) głównym siedliskiem bakterii z gatunku *Legionella* jest woda, a same bakterie są obecne w wodach słodkich na całym świecie. Bakterie *Legionella* wykrywa się w aż 40% środowisk słodkowodnych metodą posiewu oraz w 80% środowisk słodkowodnych metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR).

Zdaniem autorów, większość przypadków legionelozy jest związana ze środowiskami wodnymi stworzonymi przez człowieka, w których temperatura wody jest wyższa od temperatury otoczenia. W środowiskach wodnych poddanych modyfikacji termicznej może dojść do zaburzenia równowagi pomiędzy pierwotniakami a drobnoustrojami, co powoduje gwałtowne namnażanie się bakterii *Legionella* i przekłada się na zachorowania wśród ludzi. Pojawienie się legionelozy datuje się na drugą połowę XX wieku i wiązane jest ze zmianami w środowisku spowodowanymi działalnością człowieka. W stanie naturalnym, przypadki zachorowań wśród ludzi spowodowane bakteriami *Legionella* są niezwykle rzadkie, ponieważ naturalne środowiska słodkowodne nie stanowią ognisk choroby. W przeszłości występowanie niektórych ognisk legionelozy wiązano z inwestycjami budowlanymi. Pierwotnie uważano, że bakterie mogą przeżyć i są przenoszone na ludzi przez glebę. *L. pneumophila* nie jest jednak w stanie przeżyć w środowiskach suchych, a obecność ognisk choroby wynika najprawdopodobniej z masowego usuwania kamienia z systemów wodno-kanalizacyjnych wymuszonego zmianami ciśnienia wody na etapie budowy.

Przypadki legionelozy są zgłaszane do CDC przez krajowy system kontroli chorób podlegających obowiązkowi zgłaszania (National Notifiable Disease Surveillance System - NNDSS) oraz uzupełniający system kontroli choroby legionistów (Supplemental Legionnaires Disease Surveillance System - SLDSS), stworzone do zarządzania danymi dotyczącymi kontroli zachorowań związanych z podróżą i przyspieszenia wykrywania ognisk choroby.

Na potrzeby niniejszego raportu oceniono przypadki zgłoszone do NNDSS w latach

2000-2009 z 50 stanów oraz Dystryktu Kolumbii (DC) oraz obliczono współczynniki zachorowalności na 100 000 osób nieskorygowane i skorygowane względem wieku. Liczba przypadków legionelozy zgłaszanych w Stanach Zjednoczonych w skali rocznej wzrosła o 217%, od 1 100 w roku 2000 do 3 522 w roku 2009, przy czym nieskorygowany krajowy współczynnik zapadalności wzrósł o 192% z 0,39 na 100 000 osób w roku 2000 do 1,15 w roku 2009.

Z uwagi na fakt, iż NNDSS jest biernym systemem kontroli zależnym od świadczeniodawców i laboratoriów zgłaszających przypadki zachorowań, rzeczywista zachorowalność na legionelozę w Stanach Zjednoczonych jest prawdopodobnie wyższa.

MATERIAŁY I METODY

Przygotowanie hodowli:

W badaniu wykorzystano następującą hodowlę bakterii: *Legionella pneumophila* ATCC 33152™.

Zmniejszenie liczby drobnoustrojów związane z działaniem jednostki AktivTek pomierzono w 0., 120. i 240 minucie.

Bakterie wyhodowano na bulionie tryptyzowo sojowym (TSB; Difco Laboratories, Detroit, MI) i bulionie YM (Difco Laboratories, Detroit, MI), odpowiednio do fazy intensywnych podziałów z następującym po niej płukaniem i ponownym zawieszeniem w wodzie peptonowej 0,1%.

Oceniono niepoddane działaniu technologii hodowle kontrolne w celu oznaczenia naturalnego zmniejszenia się populacji *Legionella pneumophila* w czasie.

200 ml wody klimatyzacyjnej inokulowano *Legionella pneumophila* na poziomie docelowym 10^6 CFU/ml. Urządzenie wyposażone w AktivTek umieszczono nad zbiornikiem zawierającym inokulowaną wodę klimatyzacyjną. Urządzenie składa się z dwóch reaktorów o długości 3,5” umieszczonych w odległości 5 mm od siebie na wytłaczanym uchwycie.

Eksperyment z inokulacją powtórzono trzykrotnie.

Próbkowanie:

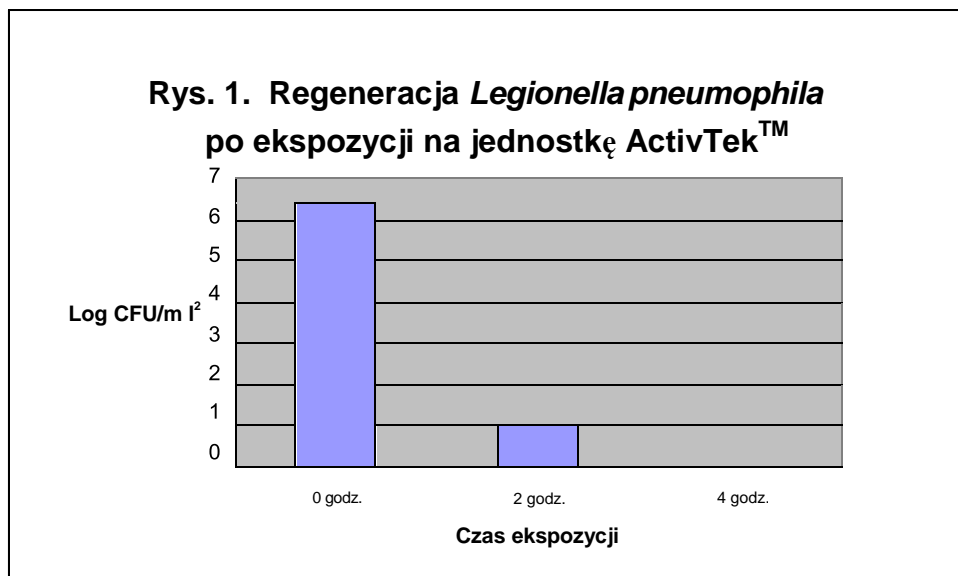
Do regeneracji bakterii wykorzystano agar tryptyzowo - sojowy (TSA; Difco Laboratories, Detroit, MI).

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki ekspozycji na działanie jednostki AktivTek™ przedstawiono na Rys. 1. Początkowa inokulacja wynosiła 6,40 Log CFU/ml. Po 2 godzinach ekspozycji, poziom *Legionella pneumophila* zmniejszył się o 5,55 Log CFU/ml. Po 4 godzinach ekspozycji, poziom *Legionella pneumophila* spadł poniżej poziomu wykrywalności.

Hodowle kontrolne niepoddane działaniu technologii wykazały nieistotne zmniejszenie populacji bakterii w okresie 4-godzinnym ($<0,05 \text{ Log CFU/cm}^2$).

Implikacje płynące z niniejszego badania mają istotne znaczenie dla kontroli *Legionella pneumophila* w komercyjnych systemach gromadzenia wody. Wyniki badania są zgodne z innymi opublikowanymi wynikami badań oceniających łączne zastosowanie wodoronadtlenków do oczyszczania powietrza oraz jonów miedzi i srebra do dezynfekcji systemów wody zimnej i gorącej w inaktywacji bakterii *Legionella*. Uważa się, że jony te wchodzi w interakcje z enzymami uczestniczącymi w oddychaniu komórkowym i łączą się z DNA w określonych miejscach. Wykazano skuteczność dawek metali na poziomie kilku dziesiątych mg/L (lub kilku setnych mg/L) dla miedzi oraz kilku setnych mg/L (lub kilku dziesiątych mg/L) dla srebra.



ODNIESIENIA

1. CDC. [Increasing incidence of] Legionellosis in the United States, 2000-2009. *MMWR* 2011;60:1083-1086.
2. Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:506-26.