جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
مرکز سلامت محیط و کار

راهنمای ارزیابی

بیو آئروسل‌ها در محیط کار

OEL – BA - 9503

بسم الله الرحمن الرحیم

راهنمای ارزیابی

بیوآئروسل‌ها در محیط کار

کد

OEL – BA - 9503

۱۳۹۵

شماره کتابشناسی ملی : ۴۵۸۸۵۶۵
سرشناسه : زارع سخویدی، محمدجواد، ۱۳۶۰
عنوان و نام پدیدآور : راهنمای ارزیابی بیوآیروسل‌ها در محیط کار/ مجری طرح قطب علمی آموزشی بهداشت حرفه‌ای کشور؛ [برای] وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی مرکز سلامت محیط و کار.
مشخصات نشر : همدان: انتشارات دانشجو: وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت سلامت، مرکز سلامت محیط و کار، ۱۳۹۶.
مشخصات ظاهری : ۹۰ ص.: مصور(رنگی)، جدول(بخشی رنگی)، نمودار(رنگی) .
شابک : 978-964-905-348-6 : ۵۰۰۰۰ ریال
یادداشت : کتابنامه.
وضعیت فهرست نویسی : فیپا.
موضوع : آئروسول‌ها
موضوع : Aerosols
موضوع : هوا -- آلودگی -- اندازه‌گیری
موضوع : Air Pollution -- Measurement
موضوع : آلودگی فضای داخلی
موضوع : Indoor air pollution
شناسه افزوده : ایران. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی. اداره سلامت محیط و کار
رده بندی کنگره : QC۸۸۲/۴۲/ز۲ر۲ ۱۳۹۶
رده بندی دیویی : ۵۵۱/۵۱۱۳

نام کتاب: راهنمای ارزیابی بیوآئروسل‌ها در محیط کار
ناشر: مرکز سلامت محیط و کار، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی – انتشارات دانشجو
تلفن: ۸۱۴۵۴۱۹۳-۸۱۴۵۴۱۲۰-۰۲۱، نمابر: ۸۱۴۵۴۴۶۴-۰۲۱
http:// markazsalamat.behdasht.gov.ir
مجری طرح: قطب علمی آموزشی بهداشت حرفه‌ای کشور
تلفن: ۳۸۳۸۰۰۲۵-۰۸۱ نمابر: ۳۸۳۸۰۵۰۹-۰۸۱ http://ceoh.umsha.ac.ir
مولف: دکتر محمدجواد زارع سخویدی
نوبت چاپ: اول ۱۳۹۵
تیراژ: ۵۰۰ جلد وزیری
فیلم زینک: لیتوگرافی روشن
چاپ و صحافی: روشن
مرکز پخش: همدان، انتشارات دانشجو تلفن: ۳۸۳۷۸۰۱۰-۰۸۱
شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۹۰۵-۳۸۴-۶
قیمت: ۵۰۰۰۰ ریال

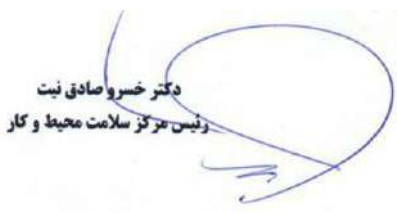
مقدمه

در حال حاضر بیش از نیمی از جمعیت جهان در مشاغل مختلف در معرض طیف وسیعی از عوامل زیان‌آور و آلاینده‌های محیط‌کار قرار دارند که این امر پیامدهای بهداشتی ناگواری را به‌همراه داشته و امکان ابتلا به بیماری‌های شغلی را افزایش خواهد داد.

با توجه به ضرورت برخورداری شاغلین از محیط‌کار سالم و نیاز مبرم کشور به حدود و معیارهایی برای تمایز محیط‌های کاری سالم و ناسالم، ویرایش چهارم کتاب حدود مجاز مواجهه شغلی در مرکز سلامت محیط و کار تدوین شد و با امضاء وزیر محترم بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ابلاغ گردید.

با عنایت به ماده ۸۵ قانون کار که رعایت حدود مندرج در کتاب مذکور را برای صاحبان صنایع، کارفرمایان الزام آور نموده است و بر اساس بازخوردهای واصله از کاربران مختلف این کتاب از سراسر کشور، اعم از کارشناسان بهداشت حرفه‌ای و متخصصان طب کار، اعضاء محترم هیأت علمی و کارشناسان صنایع، بر آن شدیم تا با کمک اساتید مجربی که در کمیته تدوین حدود مجاز همکاری نموده‌اند، راهنماهای فنی هر بخش از این کتاب را در ۹ جلد با موضوعات مختلف، به منظور تسهیل استفاده کاربران تدوین نماییم تا کاربران به کمک توضیحات تکمیلی و مثال‌های عنوان شده در این راهنماها، با توان بیشتری نسبت به تفسیر حدود مجاز مندرج در این کتاب و به‌کارگیری نتایج حاصل از آن اهتمام ورزند و از محدودیت‌هایی که ممکن است پدید آید آگاهی داشته باشند و بیش از پیش بتوانند تفسیر صحیحی از مقایسه این حدود مجاز با وضعیت مواجهات آسیب‌رسان محیط‌کار به‌دست آورند.

لازم به ذکر است، به‌منظور دسترسی بیشتر کاربران، این راهنماها بر روی تارنماهای وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی (وبدا)، معاونت بهداشتی و مرکز سلامت محیط و کار قرار خواهد گرفت. در انتها وظیفه خود می‌دانم از زحمات ارزشمند جناب آقای دکتر محمدجواد زارع سخویدی که در تألیف و خانم مهندس فاطمه صادقی و آقای مهندس میرمسیح عقیلی که در نظارت و تدوین این راهنما همکاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.



فهرست **صفحه**

فصل یکم: کلیات و تعاریف علمی ۷
۱-۱- مقدمه ۷
۱-۲- تعاریف علمی ۸
۱-۲-۱- آئروسل ۸
۱-۲-۲- بیوآئروسل ۹
۱-۳- تقسیم بندی بیوآئروسلها ۹
۱-۳-۱- بیوآئروسلهای زنده ۱۱
۱-۳-۲- بیوآئروسلهای غیر زنده ۱۱
۱-۴- نمونه برداری در داخل و خارج ۱۲
۱-۵- اثرات بهداشتی ۱۳
۱-۵-۱- عوارض عفونی ۱۳
۱-۵-۲- بیماری‌های تنفسی ۱۴
۱-۵-۳- سرطان ۱۶
۱-۶- هدف و دامنه کاربرد دستورالعمل ۱۶
فصل دوم: الزامات ارزیابی بیوآئروسلها در محیط کار ۱۸
۲-۱- استراتژی ارزیابی ۱۸
۲-۲- ارزیابی سلامتی افراد ۱۹
۲-۳- تعیین مکان ۲۰
۲-۴- تعیین فرضیه ۲۰
۲-۵- نمونه برداری ۲۱
۲-۶- آنالیز داده‌ها و فرضیه ۲۳
فصل سوم: ارزیابی اولیه، شناسایی و اصول نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها ۲۴
۳-۱- آلودگی به میکروارگانیسم ۲۴
۳-۲- منابع میکروارگانیسم‌ها ۲۴
۳-۳- پراکنده‌کننده‌ها ۲۵
۳-۴- ارزیابی ریسک خطرات بیوآئروسلها ۲۵
۳-۵- کنترل مواجهه با بیوآئروسل‌ها ۲۹

۳-۶- ضرورت توجه به ماهیت کار در انتخاب استراتژی کنترل ۲۹
فصل چهارم: اندازه‌گیری بیوآئروسل‌ها و اصول عملکرد دستگاههای سنجش بیوآئروسل‌ها ۳۰
۴-۱- کلیات نمونه برداری از بیوآئروسلها ۳۰
۴-۲- محل نمونه‌گیری ۳۲
۴-۳- روش برخورد ۳۳
۴-۴- ایمپکتور Biostage ۳۵
۴-۵- ویژگی‌های Biostage Impactor ۳۶
۴-۶- مراحل انجام نمونه‌برداری با Biostage Sampler ۳۷
۴-۷- دستگاههای SAS ۴۰
۴-۸- دستورالعمل کار با Versatrap ۴۲
۴-۹- روش فیلتراسیون ۴۳
۴-۱۰- Button Sampler ۴۴
۴-۱۱- نمونه‌برداری در مایع ۴۶
۴-۱۱-۱- نمونه‌بردار Biosampler ۴۶
۴-۱۱-۲- راندمان بالاتر نمونه‌برداری در مدت زمان طولانی نمونه‌برداری در مقایسه با ایمپینجر ۴۸
۴-۱۱-۳- شناوری کمتر ذرات ۴۸
۴-۱۱-۴- کاهش برگشت مجدد ذرات در هوای خروجی از نمونه‌بردار ۴۸
۴-۱۱-۵- تجزیه نمونه‌ها ۴۸
۴-۱۲- میکروسکوپ ۴۹
۴-۱۳- روش‌های مبتنی بر کشت ۴۹
۴-۱۴- انتخاب وسیله ۵۰
۴-۱۵- زمان نمونه‌برداری ۵۱
۴-۱۶- دانسیته سطحی ذرات بیوآئروسل نمونه‌برداری شده ۵۲
۴-۱۷- زمان بهینه برای نمونه‌برداری ۵۳
فصل پنجم:معرفی استانداردهای موجود در مواجهه با بیوآئروسل‌ها ۵۵
۵-۱- شرایط کنونی حدود مجاز مواجهه با بیوآئروسل‌ها ۵۵
۵-۲- سایر تلاش‌ها ۵۹

۵-۳- دسته‌بندی یافته‌ها ۶۰
۵-۳-۱- غبارات آلی ۶۱
۵-۳-۲- اندوتوکسین ۶۱
۵-۳-۳- آنزیم‌های پروتئینی ۶۲
فصل ششم: روش ارزیابی مواجهه شغلی با بیوآئروسل‌ها ۶۵
۶-۱- بیوآئروسلهای داخلی و خارجی ۶۵
۶-۲- بیوآئروسل‌های قابل انتقال و غیر قابل انتقال ۶۶
فصل هفتم: باکتری‌ها، اندوتوکسین و مشاغل در معرض خطر ۶۹
۷-۱- منابع بیوآئروسل‌ها در محیط کار ۶۹
۷-۲- انواع بیوآئروسل‌ها ۷۰
۷-۲-۱- باکتری‌ها ۷۰
۷-۳- واحدهای اندازه‌گیری ۷۳
۷-۲-۲- اندوتوکسین ۷۵
۷-۴- اثرات مواجهه با اندوتوکسین ۷۶
۷-۵- اولین خطر برای مواجهه با اندوتوکسین در محیط کار ۷۸
۷-۶- اثرات بهداشتی (سلامتی) اندوتوکسین ۷۸
۷-۷- دستورالعمل‌های پیشنهاد شده ۸۰
۷-۸- حد مواجهه شغلی اندوتوکسین در هلند ۸۱
۷-۹- مواجهه با اندوتوکسین در کارگاه‌های کشاورزی ۸۲
۷-۱۰- موارد استفاده از LAL ۸۴
۷-۱۱- نکات مهم در اندازه‌گیری ۸۵
منابع ۸۷

فصل یکم: کلیات و تعاریف علمی

۱-۱- مقدمه

ده‌ها سال است که نقش عوامل بیولوژیک در ایجاد بیماری و ناخوشی در انسان شناخته شده است. بیماری‌های عفونی که در ابتدای قرن بیستم از عوامل عمده مرگ‌ومیر بشر بوده‌اند، همگی به علت عوامل بیولوژیکی ایجاد می‌گردند. بااین‌حال، نقش عوامل بیولوژیک موجود در هوا و تأثیر آن در ایجاد ناخوشی و بیماری در انسان، مدتی بعد مورد توجه قرار گرفت. در سال‌های اخیر بروز موارد متعددی از این بیماری‌ها مانند سندرم تنفسی پیشرفته حاد و غیره ضرورت توجه به بیوآئروسل‌ها[1] و نقش آن‌ها در بیماری‌ها را بیشتر مشخص نموده است. بر این اساس ارزیابی مواجهه با بیوآئروسل‌ها در محیط‌های کاری و همچنین فضاهای مسکونی و محیط بیرون یکی از حیطه‌هایی است که به‌سرعت در حال ظهور در بهداشت حرفه‌ای می‌باشد. ارزیابی مواجهه بیوآئروسل‌ها شامل اندازه‌گیری هر دو بخش بیوآئروسل‌های زنده (قابل‌کشت و غیرقابل کشت) و غیرزنده در هر دو محیط داخلی (به‌عنوان مثال، محیط‌های صنعتی، اداری یا مسکونی) و محیط خارجی (مانند محیط‌های کشاورزی و همچنین ارزیابی کیفیت عمومی هوا) می‌باشد. نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها در بهداشت حرفه‌ای در موارد متعدد و با اهداف مختلفی انجام می‌پذیرد. به‌طور مثال در مواردی مانند شیوع بیماری‌های عفونی در محیط کار، کنترل کیفیت فرآیندهای تولید، کنترل اطاق‌های پاک، سلامتی در حیطه کشاورزی، ارزیابی مواجهه از طریق نمونه‌برداری ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر موارد ذکرشده، به‌طورکلی در موارد مواجهه با آلودگی بیوآئروسلی مانند آنچه در فوق بیان شد، انجام اقداماتی جهت بهبود محیط و حذف بیوآئروسل‌ها ضروری می‌باشد. انتظار می‌رود پس از انجام این اقدامات اصلاحی، علائم بالینی و بیماری کارکنان نیز مرتفع گردد. حال درصورتی‌که پس از بهسازی‌های ذکرشده، باز هم علائم در افراد باقی بماند، انجام نمونه‌برداری ضروری به نظر می‌رسد. اصول نمونه‌برداری و ارزیابی مواجهه با بیوآئروسل‌ها تا حدود زیادی با آنچه برای سایر

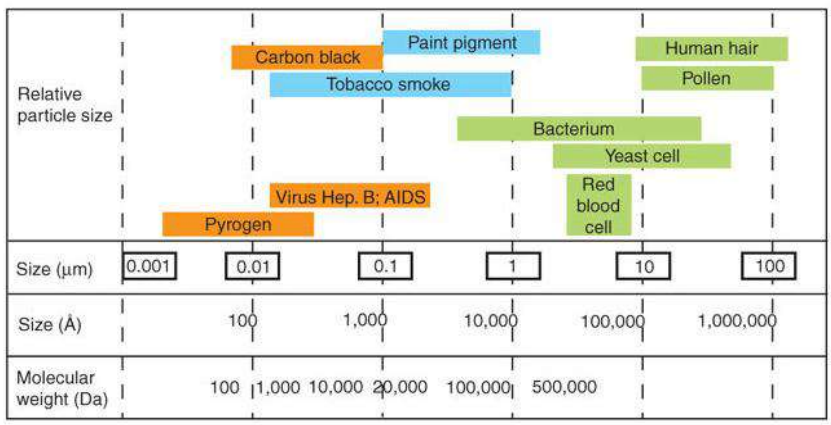
1- Bioaerosols

آلاینده‌های ذره‌ای صورت می‌گیرد، یکسان می‌باشد، هر چند به علت تأثیر پارامترهای محیطی و نمونه‌برداری بر روی زنده ماندن بیوآئروسل‌ها و غیره، نمونه‌برداری از آن‌ها نیازمند در نظر گرفتن نکات ویژه دیگری نیز می‌باشد. در این کتابچه علاوه بر ارائه اطلاعات کلی در مورد ماهیت بیوآئروسل‌ها، فرآیند کلی و ساختار ابزارهای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها ارائه می‌گردد. در انتهای کتاب نیز به‌طور مختصر در مورد حدود مجاز مواجهه با این آلاینده‌ها مطالبی ارائه خواهد گردید.

۱-۲- تعاریف علمی

۱-۲-۱- آئروسل

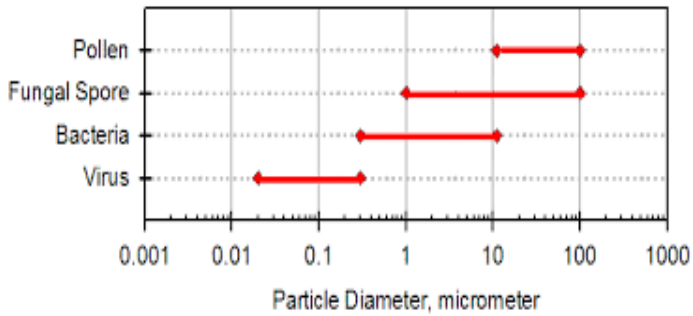
آئروسل یا «ذرات هوابرد» به ترکیب حاوی ذرات جامد یا مایع موجود در هوا یا هر گاز دیگر اطلاق می‌گردد. آئروسل‌ها از لحاظ اندازه و منبع تولید انواع مختلفی دارند و به دسته‌هایی مانند غبارات، فیوم‌ها، دود، بیوآئروسل‌ها، میست و غیره دسته‌بندی می‌گردند. شکل ۱-۱ انواع آئروسل‌ها را بر اساس اندازه نشان داده است.



شکل ۱-۱: آئروسل‌های مختلف و اندازه آن‌ها

۱-۲-۲- بیوآئروسل

ذرات معلق موجود در هوا یا هر گاز دیگر که دربردارنده یک موجود زنده یا حاوی اجزاء یا مواد رها شده از یک موجود زنده باشند را بیوآئروسل می‌نامند. بیوآئروسل‌ها دامنه اندازه بسیار متفاوتی داشته و اندازه آن‌ها از زیر ۰/۱ میکرون تا حدود ۱۰۰ میکرون متفاوت می‌باشد (شکل ۱-۲). جدول ۱-۱ ویژگی‌های ذرات بیولوژیک که معمولاً در هوا وجود دارند را ارائه داده است.



شکل ۱-۲: دامنه ابعادی انواع مختلف بیوآئروسل‌ها

۱-۳- تقسیم‌بندی بیوآئروسل‌ها

بیوآئروسل‌ها را می‌توان بر اساس معیارهای متفاوتی دسته‌بندی نمود. زنده یا غیرزنده بودن، قابل رشد یا غیر قابل رشد بودن، اندازه و غیره از معیارهایی هستند که بر اساس آن می‌توان این دسته از آلاینده‌های هوابرد را دسته‌بندی کرد. در یک تقسیم‌بندی کلی بر اساس ماهیت بیوآئروسل‌ها می‌توان آن‌ها را به سه دسته کلی زیر تقسیم کرد:

الف) ویروس‌ها و انگل‌ها

ب) موجودات زنده شامل: باکتری و قارچ

ج) قطعات میکروارگانیسم‌ها یا مواد تولیدی از آن‌ها شامل: اسپورها، گرده گیاهان، اندوتوکسین و آلرژن‌های‌حیوانی

نکته: بیوآئروسل‌ها عمدتاً به‌صورت مجتمع، به هم چسبیده و انبوه در ذرات وجود دارند. گاه نیز ممکن است این میکروارگانیسم‌ها به ذرات دیگری مانند غبارات بچسبند و در هوا معلق گردند.

جدول ۱-۱: ویژگی‌ها و اندازه انواع بیوآئروسل‌ها

نام ارگانیسم	ویژگی ذره معلق	اندازه	مثال	سایر نکات
ویروس	یک یا چند ویریون[1] در یک قطره	از زیر ۰/۱ تا ۳ میکرون	آنفولانزا	اندازه ذره هوابرد از خود ارگانیسم بسیار بزرگ‌تر است. از RNA یا DNA تشکیل شده است
مایکوپلاسما[2]	یک یا چند ارگانیسم در یک قطره	۱ تا ۵ میکرون	مایکوپلاسما پنومونیه	دیواره سلولی ندارند
کلامیدیا	یک یا چند ارگانیسم در یک قطره	۱ تا ۵ میکرون	کلامیدیا پسی‌تاسی	-
ریکتزیا	یک یا چند ارگانیسم در یک قطره	۱ تا ۵ میکرون	کوکسیلا بورنتی	پاتوژن‌های بین سلولی Obligate
باکتری	یک یا چند ارگانیسم در یک قطره	۱ تا ۵ میکرون	میکروکوکوس لوتئوس	در شکل‌ها، اندازه‌ها و ساختارهای دیواره‌ای متفاوت وجود دارند.
باکتری	دانه جداگانه یا گروهی از اسپورهای خشک	۰/۵ تا ۵۳ میکرون	باسیلوس سرئوس- ترمواکتینومیسس	اندوسپورهای فوق العاده مقاوم
باکتری	بخش‌هایی از دیواره باکتری	زیر ۰/۱ میکرون		
آلگ[3] (جلبک)	یک یا چند سلول	۵ تا ۱۰ میکرون	کروکوکوس	کلروفیل، سلولز
گیاهان غیر آوندی	یک یا چند اسپور	۱۵ تا ۳۰ میکرون	خزه[4]	کلروفیل، سلولز
گیاهان آوندی	اسپور	۱۵ تا ۳۰	لیکوپودیوم فمس	
گیاهان آوندی	پرولین	۱۰ تا ۵۰	درختان، گیاهان، علف-ها	اسپوروپولنین
گیاهان آوندی	آلرژن‌های پولن‌ها	*ع		
گیاهان آوندی	مو	۱۰ تا ۱۰۰		سلولز
گیاهان آوندی	قطعات	*	دانه‌های سویا	سلولز
آرتروپودها[5]	قطعات	*	داست مایت	کیتین
آرتروپودها	مواد دفعی	۲۰ تا ۳۰		
حیوانات	قطعات	*	موش، گربه، سگ	کراتین
حیوانات	قطعات فلس پوستی	۱۰ تا ۵۰		
قارچ	یک یا چند اسپور	۱/۵ تا ۱۰۰	قارچ، آسپرژیلوس	کیتین
قارچ	یک یا چند هاگ	۱/۵ تا ۱۰۰		ارگوسترول
قارچ	قطعات	*		۱ و ۳، بتا دی گلوکان

*اندازه آنها در دسترس نیست.

1- Virion
2- Mycoplasma
3- algae
4- Mosses
5- Arthropods

۱-۳-۱- بیوآئروسل‌های زنده

میکروارگانیسم‌های "Viable" (که در فارسی به نام زنده ترجمه می‌گردد) بیانگر آن دسته از بیوآئروسل‌ها بوده که از لحاظ متابولیسمی فعال بوده (زنده هستند) و دارای توانایی تکثیر می‌باشند. البته خود میکروارگانیسم‌های زنده را به دو گروه قابل‌کشت و غیرقابل کشت می‌توان دسته‌بندی نمود. میکروارگانیسم‌های قابل‌کشت در شرایط کنترل‌شده قابل تکثیر می‌باشند. میکروارگانیسم‌های غیرقابل کشت در شرایط آزمایشگاهی قابل تکثیر نمی‌باشند. علت این پدیده استرس درون سلولی است که به علت شرایط محیط کشت و دمای انکوبه کردن به آن‌ها وارد شده و جلو رشد آن‌ها را می‌گیرد. همان‌گونه که نام گروه «زنده» نیز بیان می‌کند، نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های زنده دربردارنده جمع‌آوری و کشت دادن نمونه‌های جمع‌آوری‌شده می‌باشد. البته در این شرایط تنها میکروارگانیسم‌های زنده-ی قابل‌کشت، تکثیر یافته و تعدادشان افزایش خواهد یافت که این موضوع باعث برآورد کمتر میکروارگانیسم‌ها از حد واقع خواهد شد (چون میکروارگانیسم‌های غیرقابل کشت تکثیر نیافته‌اند).

۱-۳-۲- بیوآئروسل‌های غیر زنده

بیوآئروسل‌های "Non-viable" که در فارسی غیر زنده ترجمه می‌گردند، به آن دسته از بیوآئروسل‌ها اطلاق می‌گردد که زنده نبوده و قابلیت تکثیر ندارند. معمولاً این دسته از بیوآئروسل‌ها را بر روی سطوح روغنی و یا فیلتر جمع‌آوری می‌نمایند. پس از جمع‌آوری، این میکروارگانیسم‌ها را معمولاً با استفاده از روش‌های میکروسکوپی شمارش نموده و یا با استفاده از روش‌های کلاسیک میکروبیولوژی، میکروبیولوژی مولکولی و یا ایمونولوژیکی ارزیابی می‌نمایند.

نکته:

هرگونه پاتوژن سیستم تنفسی به‌طور بالقوه قادر است تا در هوا، هنگامی‌که به‌صورت آئروسل در می‌آیند زنده مانده و ایجاد بیماری نماید.

۱-۴- نمونه‌برداری در داخل و خارج

نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها می‌تواند در داخل ساختمان یا در بیرون از آن انجام گیرد. در شرایطی که نمونه‌برداری در داخل ساختمان (منزل، اطاق کار، اداره، کارخانه و غیره) انجام گیرد به آن نمونه‌برداری از داخل (Indoor sampling) می‌گویند. اگر هدف نمونه‌برداری به‌گونه‌ای باشد که نمونه‌برداری در خارج از ساختمان انجام گیرد به آن نمونه‌برداری از محیط بیرون (Outdoor sampling) می‌گویند. انتخاب بین نمونه‌برداری در داخل یا نمونه-برداری از محیط بیرون به اهداف اندازه‌گیری بستگی دارد. نمونه‌برداری در محیط داخل می‌تواند در هر دو حالت شغلی (کارگاه‌ها و غیره) و غیر شغلی (خانه‌ها) انجام گیرد.

نکته:

به‌طور کلی، غلظت میکروارگانیسم‌ها در داخل ساختمان محیط کار ، کمتر از محیط بیرون در همان منطقه می‌باشد، بنابراین اگر در یک محیط کار، غلظت میکروارگانیسم‌ها در هوای داخل ساختمان بیش از محیط بیرون بود، به نظر می‌رسد منبع تولید میکروارگانیسم‌ها در داخل ساختمان وجود داشته باشد. در چنین شرایطی با نمونه‌برداری‌های بیشتر از داخل ساختمان، باید منبع مشخص گردیده و رشد آن‌ها در محیط کار شناسایی گردد.

در هنگام انجام نمونه‌برداری از فضای داخل ساختمان باید موارد زیر را در نظر داشت:

- در مواردی که هدف نمونه‌برداری از میکروارگانیسم‌ها در فضای داخل می‌باشد باید نمونه‌برداری در سه زمان الف) قبل از حضور افراد در محل ب) هنگام حضور افراد در محل و ج) پس از ترک محل، صورت پذیرد.
- نمونه‌برداری باید در شرایط مختلف شامل الف) فعال بودن سیستم گرمایش و سرمایش و ب) خاموش بودن سیستم صورت گیرد.

نمونه‌برداری از محیط بیرون، در مواردی که به دنبال پاسخی برای تعیین علل آلرژی و موارد ایمونولوژیک هستیم، می‌تواند تصویر کلی‌تری از توزیع بیوآئروسل‌ها را ارائه دهد.

علاوه بر این در مواردی مانند نمونه‌برداری در زمین‌های کشاورزی برای تعیین خطرات وارده به کشاورزان و همچنین تأسیسات تصفیه فاضلاب، نمونه‌برداری‌های مورد نیاز از نوع محیط بیرون می‌باشند.

۱-۵- اثرات بهداشتی

مواجهه با بیوآئروسل‌ها می‌تواند دامنه وسیعی از بیماری‌ها را در افراد ایجاد نماید. هر چند به علت اینکه مواجهه با این عوامل معمولاً همراه با مواجهه با سایر عوامل زیان‌آور بوده، به‌سختی می‌توان بروز یا شیوع هرکدام از این بیماری‌ها را که به‌طور خاص مربوط به بیوآئروسل‌ها باشند به دست آورد. به‌طور کلی عوارض ناشی از مواجهه با بیوآئروسل‌ها را می‌توان در سه دسته الف) عوارض تنفسی ب) عوارض عفونی و ج) سرطان‌ها دسته‌بندی نمود. البته دسته‌بندی عوارض به این سه گروه به معنای عدم وجود عوارض دیگر نیست و در موارد متعددی، عوارض پوستی و یا زایمان زودرس و مشکلات تولد در افراد مواجهه یافته با بیوآئروسل‌ها گزارش گردیده است.

۱-۵-۱- عوارض عفونی

بیماری‌های عفونی در اثر انتقال عوامل عفونی مانند ویروس‌ها، قارچ‌ها، باکتری‌ها و غیره به بدن موجود زنده (در اینجا انسان) ایجاد می‌گردند. انتقال عامل عفونی ممکن است به‌طور مستقیم از منبع و یا توسط ناقل انجام گیرد. انتقال می‌تواند به شیوه‌های مختلفی صورت پذیرد. مهم‌ترین شیوه انتقال بیوآئروسل‌ها در موارد شغلی، انتقال از طریق تنفس می‌باشد. بنابراین در این بخش تنها بر روی بیماری‌هایی با انتقال از راه تنفس بحث خواهد گردید. در یک نگاه کلی بیماری‌های عفونی منتقله از طریق هوا در محیط‌های شغلی را به دو دسته زیر می‌توان دسته‌بندی نمود:

الف) بیماری‌های عفونی منتقله از راه هوا در اثر مواجهات شغلی خاص: برای مثال بیماری‌هایی مانند سل، سرخک، آنفولانزای گوارشی زمستانی در پرسنل خدمات بهداشتی یا تب کیو، آنفولانزای خوکی و سیاه‌زخم در سربازان و تولارمی در جنگلبانان

ب) بیماری‌های عفونی منتقله از هوا ناشی از تجمع افراد در یک مکان: مانند وجود نفرات زیاد در یک سالن، اداره یا سربازخانه و بیماری‌هایی مانند آنفولانزا و سل.

علاوه بر موارد فوق بیماری لژیونلا و تب پونتیاک نیز مواردی از بیماری‌های عفونی هستند که می‌توانند به علت مواجهات شغلی نیز ایجاد گردند (البته به علت مواجهات غیر شغلی نیز ایجاد می‌گردند). لژیونلا در اثر باکتری گرم منفی لژیونلا پنومونیه ایجاد می‌گردد که در منابع آبی زندگی می‌کند. محیط‌های شغلی که دارای برج‌های خنک‌کننده می‌باشند با خطر مواجهه با این عامل بیماری‌زا به‌صورت بیوآئروسل و ابتلا به این بیماری روبرو می‌باشند. ابتلا به لژیونلا می‌تواند باعث پنومونی‌های گاه شدید و کشنده گردد.

پاره‌ای از بیماری‌های عفونی شغلی نیز می‌توانند به علت مواجهه با بیوآئروسل‌های تولیدشده در طی حمل و نقل مواد پوسیده و باقی‌مانده ترکیبات تجزیه‌شده در محیط کار ایجاد گردند. بیماری‌های هیستوپلاسموزیس، آسپرژیلوزیس، بلاستومیکوزیس و کوکسیدیومایکوزیس نمونه‌هایی از این‌گونه بیماری‌ها هستند.

نکته:

به‌طور کلی می‌توان به این نتیجه رسید که کشاورزان، دامپزشکان، کارکنان سیستم تصفیه فاضلاب، کارکنان سیستم بهداشتی و محققینی که با عوامل عفونی کار می‌کنند از مهم‌ترین گروه‌های در معرض خطر ابتلا به بیماری‌های عفونی شغلی می‌باشند. هرچند ماهیت بیوآئروسل‌ها به‌گونه‌ای است که وقتی در هوا معلق باشند، هر فردی می‌تواند با استنشاق آن‌ها به عوارض مذکور مبتلا گردد.

۱-۵-۲- بیماری‌های تنفسی

علائم تنفسی و افت عملکرد ریوی را احتمالاً بتوان از معمول‌ترین عوارض ناشی از مواجهه با غبارات آلی برشمرد. این‌گونه عوارض می‌توانند از یک عارضه خفیف تا عوارض مختل‌کننده زندگی فرد، متفاوت باشند. به‌طور کلی این‌گونه عوارض در دو دسته عوارض

ریوی آلرژیک و عوارض ریوی غیر آلرژیک دسته‌بندی می‌گردند. جدول ۱-۲ خلاصه‌ای از عوارض آلرژیک و غیر آلرژیک وابسته به مواجهه با بیوآئروسل‌ها را نشان داده است. به نظر می‌رسد که قسمت عمده‌ای از سندرم‌های شبه آسمی مشاهده‌شده در کشاورزان، به علت مواجهه با بیوآئروسل‌ها باشد. علاوه بر بیماری‌های فوق، عوارضی مانند سندرم سمیت حاد مواجهه با غبارات آلی و پنومونیت ناشی از افزایش حساسیت، ممکن است درنتیجه مواجهه با بیوآئروسل‌ها ایجاد گردد.

جدول ۱-۲ : خلاصه‌ای از عوارض تنفسی غیر عفونی، عوامل تصادفی بالقوه و محیط‌های کار با خطرات افزایشی شناخته شده یا مشکوک ناشی از مواجهه با بیوآئروسل‌ها

عوارض تنفسی		عوامل ایجادکننده	محیط
غیرآلرژیک	آسم غیرآلرژیک، رینیت (التهاب مخاط بینی) غیرآلرژیک/تحریک غشاء مخاطی (MMI[1])، برونشیت مزمن، بیماری مزمن انسدادی ریه، سندرم گرد و غبار آلی سمی(ODTS[2])	قارچ، باکتری، اکتینومایسس‌ها، اندوتوکسین‌ها، ۱ و ۳- بتا دی گلوکان‌ها، پپتیدوگلیکان‌ها، مایکوتوکسین‌ها و احتمالاً در حال حاضر بسیاری از گیاهان و ترکیبات غیرمیکروبی ناشناس هستند.	کشاورزی و صنایع مربوط به آن، تصفیه فاضلاب و حمل و نقل کود، صنایع تهیه خوراک حیوانات، فرآوری الیاف گیاهی و حیوانی، صنعت چوب، تولید کاغذ، صنعت تخمیر، کشتارگاه، صنایع ماشین‌کاری فلز (سیالات آلوده)، جمع‌آوری زباله و کمپوست، ساختمان‌های با سیستم تهویه/ رطوبت‌زنی آلوده
آلرژیک	آسم آلرژیک، رینیت (التهاب مخاط بینی) آلرژیک، پنومونیت بیش‌حساسیتی (HP[3])/آلوئولیت آلرژی‌زای بیرونی(EAA[4]) / ریه کشاورزان	قارچ، آنزیم‌های میکروبیال، پروتئین گیاهی (سویا، گندم، گرده گیاهان، ضمغ گیاهان و غیره)، پروتئین حیوانی (موش، گاو و غیره)، پروتئین بی-مهرگان (ملخ، پروانه، عنکبوت و غیره)	تسهیلات کمپوست، کشاورزی و صنایع مربوط به آن، صنعت بیوتکنولوژی و تولید آنزیم، صنایع تهیه خوراک حیوانات، صنایع شوینده، صنعت نانوایی، بخش پزشکی و بهداشت عمومی (لاتکس)، دامپزشکان، پرسنل فروشگاه حیوانات خانگی، تسهیلات آزمایشگاه حیوانات، صنایع حشره کش‌های زیستی (بی‌مهرگان)

1- mucous membrane irritation
2- Organic Dust Toxic Syndrome
3- Hypersensitivity pneumonitis
4- Extrinsic Allergic Alveolitis

۱-۵-۳- سرطان

سرطان‌ها می‌توانند توسط عواملی مانند ویروس‌های آنکوژن و یا سایر عوامل بیولوژیک ایجاد گردند. از میان عوامل غیر ویروسی، تاکنون تنها در مورد سرطان‌زایی مایکوتوکسین‌ها می‌توان با اطمینان بیشتری سخن گفت و در مورد سرطان‌زایی سایر بیوآئروسل‌ها نکات مبهم زیادی وجود دارد. آلودگی به مایکوتوکسین‌ها در مشاغلی که مواد آلوده به قارچ‌ها را مورد استفاده قرار می‌دهند وجود دارد. معروف‌ترین مایکوتوکسین شناخته‌شده در محیط‌های کاری آفلاتوکسین است که از قارچی به نام آسپرژیلوس فلاووس تولید می‌گردد و از نظر ایجاد سرطان کبد اهمیت دارد. اکراتوکسین A نیز ماده مایکوتوکسین دیگری است که احتمالاً برای انسان سرطان‌زا می‌باشد. هر چند مهم‌ترین راه مواجهه با آفلاتوکسین و اکراتوکسین A از راه گوارشی می‌باشد، اما راه مواجهه تنفسی با آن‌ها به‌ویژه از راه‌های شغلی مانند برداشت غلات از اهمیت زیادی برخوردار است.

۱-۶- هدف و دامنه کاربرد دستورالعمل

راهنمای کنونی با هدف آشنایی بیشتر متخصصین و کارشناسان درگیر در حیطه بهداشت حرفه‌ای با ماهیت بیوآئروسل‌ها در محیط‌های کاری و مسکونی و همچنین درک بهتر از فرآیند تولید، انتشار و ریسک بهداشتی آن‌ها نوشته شده است. در سرتاسر این نوشتار تمرکز اصلی بر روی شناسایی و ارزیابی خطر با توجه به نمونه‌برداری و تعیین مقدار بیوآئروسل‌ها می‌باشد و بر این اساس در فصول جداگانه‌ای شیوه‌های مختلف نمونه‌برداری از این آلاینده‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. موضوع حد مجاز مواجهه با بیوآئروسل‌ها هنوز در سطح دنیا نیز به‌خوبی مورد اتفاق نظر محققین و سازمان‌های مسئول نبوده و بنابراین نمی‌توان به‌راحتی برای بیوآئروسل‌ها حدود مجاز مواجهه‌ای را بیان نمود. بر این اساس در یکی از فصول این کتابچه، کلیاتی در مورد ماهیت حدود مجاز مواجهه با بیوآئروسل‌ها و راهکارهای به‌کارگیری استانداردهای کنونی در این زمینه ارائه گردیده است. بدیهی است آنچه در این کتابچه ارائه گردیده است کامل نبوده و توصیه می‌گردد تا

خوانندگان محترم در مواردی که نیاز دارند به مراجع کامل‌تری رجوع نمایند. به این منظور در انتهای کتابچه لیستی از منابع موجود معتبر در این زمینه و دامنه پوشش هرکدام به‌اختصار بیان گردیده است. غالب این منابع به‌راحتی از طریق شبکه جهانی اینترنت در دسترس بوده و در مواردی که در دسترس نباشند، می‌توانید با تماس با نویسنده آن‌ها را تهیه نمایید.

مجدداً تأکید می‌گردد که این کتابچه تنها به‌عنوان راهنما جهت توضیح بیشتر مباحث مربوطه در حیطه بیوآئروسل‌ها در محیط‌های شغلی بوده و نمی‌توان از مطالب مندرج در آن به‌عنوان استاندارد یا دستورالعمل استفاده نمود.

فصل دوم: الزامات ارزیابی بیوآئروسل‌ها در محیط کار

۲-۱- استراتژی ارزیابی

با وجود رابطه علّی بین مواجهه با آلاینده‌های بیولوژیکی خاص و اثرات بهداشتی، اطلاعات کافی علمی برای تعریف حد آستانه مجاز مشخصی برای این دسته از آلاینده‌ها وجود ندارد. به‌عنوان مثال، رابطه بین قرار گرفتن در معرض یک میکروارگانیسم خاص در هوا (با جمع‌آوری میکروارگانیسم‌ها، کشت آن‌ها و سپس شمارش کلنی‌هایی که تشکیل می‌شوند) و شدت یا مقدار اثرات و عوارض ناشناخته بوده و تا حد زیادی وابسته به روش بررسی است. علاوه بر این، حساسیت انسان‌ها به این دسته از آلاینده‌ها بسیار متفاوت است و به دست آوردن یک ارتباط دوز- پاسخ قابل‌اعتماد که بتوان آن را به همه افراد تعمیم داد بسیار دشوار است. با توجه به دلایل بالا، تاکنون هیچ‌گونه استراتژی ارزیابی مواجهه استانداردی برای این دسته از آلاینده‌ها ارائه نشده است.

نکته:

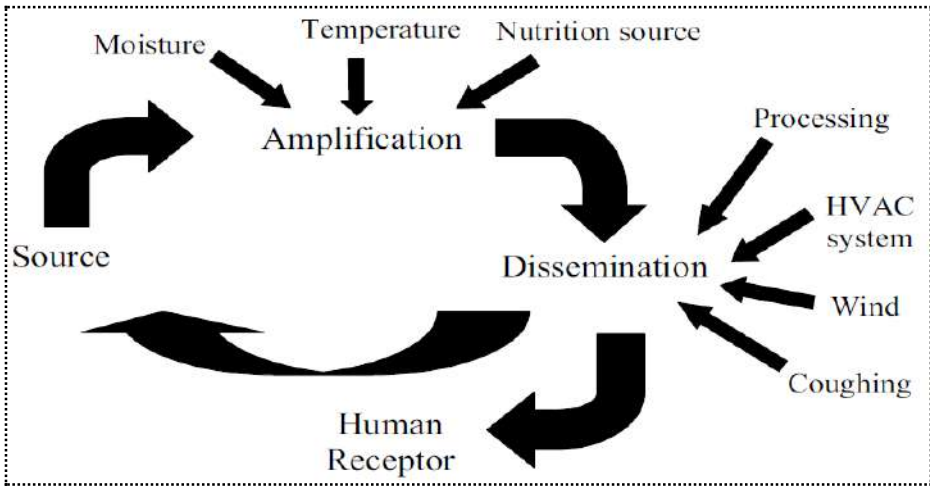
روش‌هایی که برای ارزیابی بیوآئروسل‌ها پیشنهاد می‌گردند با آنکه هرکدام ازنقطه‌نظر خاصی کارایی دارند، هر یک تنها در برخی از وضعیت‌های منحصربه‌فرد قابل کاربرد بوده و هیچ‌کدام از آن‌ها جهت کاربرد به‌طور عام و در تمام شرایط مناسب نمی‌باشند.

با این حال، با در نظر گرفتن استراتژی مبتنی بر سه جزء منبع، مسیر و گیرنده در توسعه روش می‌توان عناصر زیر را در یک چهارچوب ارزیابی تماس برای بیوآئروسل‌ها در محیط کار ارائه داد (شکل ۲-۱). بنابراین برای استفاده و انتخاب صحیح یک روش باید از موارد زیر اطلاع داشت.

۱- منابع و یا مخازن آلاینده‌های بیولوژیکی در محیط: منبع آلاینده نیاز به تکثیر در محیط دارد. این تکثیر نیازمند رطوبت کافی، درجه حرارت و وجود مواد مغذی برای تغذیه میکروارگانیسم است.

۲- مسیرهای انتشار عامل بیولوژیکی به محیط: میکروارگانیسم می‌تواند توسط باد (سرعت جریان بالای هوا در یک عملیات صنعتی)، در طی فرآیند حمل‌ونقل، توسط سیستم‌های تهویه مطبوع، فرآیندهای تولیدی مختلف و حتی توسط فعالیت‌های انسانی مانند سرفه در محیط پراکنده گردند.

۳- علائم مرتبط با در معرض قرار گرفتن با عامل بیولوژیکی در ساکنان ساختمان یا محیط کار.



شکل ۲-۱: دیاگرام تولید، تجمع و پراکنده شدن آلاینده‌های بیولوژیک در محیط و مواجهه انسانی با آن‌ها

۲-۲- ارزیابی سلامتی افراد

جمع‌آوری اطلاعات مربوط به انواع علائم تجربه‌شده توسط ساکنان محل یا کارگران شاغل در یک محیط کار خاص یا یک منطقه خاص از ساختمان، اولین گام در ارزیابی مواجهه با بیوآئروسل‌ها می‌باشد. عموماً با توجه به فراوانی و تنوع علائم موجود در افراد، شدت و الگوی زمانی بروز آن‌ها ، می‌توان فرضیه‌هایی را در زمینه انواع آلودگی‌ها و منابع احتمالی آن‌ها ارائه داد. بنابراین در بسیاری از موارد با بررسی سلامت افراد و مطالعه تنوع و شیوع

علائم موجود، می‌توان نمونه‌های هوا را که نیاز است جمع‌آوری شوند، تا حدی مشخص نمود.

۲-۳- تعیین مکان

پس از اجرای ارزیابی اولیه (ارزیابی سلامتی افراد)، گام بعدی بازبینی محل کار و یا ساختمان از لحاظ وجود مناطق یا مکان‌هایی که می‌توانند به‌عنوان منابع و یا مخازن عوامل بیولوژیکی عمل کنند، می‌باشد. این مناطق ممکن است شامل مناطقی که ترکیب مناسبی از رطوبت، دما و تغذیه (مواد مغذی) را داشته و از رشد میکروارگانیسم‌ها حمایت می‌کنند، باشند. نمونه معمول این مناطق شامل کانال‌های ورود و خروج هوا، برج‌های خنک‌کننده، فیلترهای هوا و مبدل‌های حرارتی مانند گرمایش و کویل خنک‌کننده، دریچه‌های سیستم هواساز و عرضه هوا، نازل عرضه هوا، تهویه مطبوع، اطراف فرش‌ها، رطوبت زن‌ها، لوله‌کشی‌ها، تخته‌ها و چوب‌های مرطوب در ساختمان و دیوارهای محیط هستند. در بیشتر موارد، با بازرسی چشمی از مناطق مرطوب می‌توان علائمی از این آلودگی‌ها را مشاهده نمود. بر اساس شواهد به‌دست‌آمده از این روش می‌توان منابع را پیدا نمود. هر چند در پاره‌ای از موارد ممکن است این‌گونه مناطق در پشت دیوارها قرار گرفته باشند و دسترسی و کشف آن‌ها تا حدی مشکل باشد.

۲-۴- تعیین فرضیه

بر اساس اطلاعات به‌دست‌آمده از مراحل اول و دوم در مورد ماهیت الف) شکایت و علائم، ب) محیط ساخت‌وساز و ساختمان و ج) منابع ممکن آلاینده و مسیر، می‌توان یک فرضیه را در مورد منبع آلاینده که عامل ایجادکننده مشکلات سلامتی بوده است، فرموله کرد. در توسعه این فرضیه باید با مشورت با میکروبیولوژیست‌ها، متخصصان پزشکی و سم‌شناسان اقدام گردد.

نکته:

نکته جالبی که درزمینه بیوآئروسل‌ها وجود دارد و با بقیه آلاینده‌های هوا در محیط کار تفاوت دارد این است که شناسایی منبع، یکی از اهداف اصلی نمونه‌برداری این ترکیبات در محیط است. در بسیاری از موارد شغلی، منبع آلاینده صنعتی در فرآیند به‌وضوح مشخص می‌باشد هر چند در مورد آلاینده‌های بیولوژیک این منبع مشخص نیست.

۲-۵- نمونه‌برداری

نمونه‌برداری باید با هدف جمع‌آوری هر دو نوع نمونه هوا از محیط و همچنین به‌صورت نمونه فله از منبع باشد. هنگام برنامه‌ریزی برای نمونه‌برداری، باید غلظت‌های مورد انتظار ماده بیولوژیک در نمونه‌های توده و هوا را در محاسبات خود در نظر گرفت تا بتوان بر اساس آن، به اندازه کافی نمونه جمع‌آوری کرد. در این صورت می‌توان پراکندگی زمانی و مکانی و غلظت بیوآئروسل‌ها را با دقت مناسب برآورد نمود. ترکیب نتایج از نمونه منبع و هوا باید به حدی کافی باشد که بتواند فرضیه اینکه آیا یک منبع خاص علت بالا بودن گونه خاصی از بیوآئروسل در یک محیط است را پاسخ دهد. اطلاعات جمع‌آوری‌شده در مراحل قبلی (به‌عنوان مثال، مصاحبه با ساکنان و بازدید ساختمان) اگر با دقت و درستی انجام گرفته باشد، می‌تواند اطلاعات کافی در مورد مکان‌هایی که نمونه‌برداری باید انجام شود را ارائه دهد.

نکته:

از آنجا که سطح آلودگی میکروارگانیسمی در هوای داخل ساختمان معمولاً در مقایسه با سطوح آن در فضای باز مقایسه می‌گردد، نمونه‌برداری در فضای باز باید در نزدیکی ورودی هوای تازه به ساختمان اخذ گردد. اگر هیچ منبع داخلی آلودگی میکروارگانیسمی در داخل ساختمان وجود نداشته باشد، نوع و غلظت آلاینده‌ها در محیط داخل ساختمان مشابه غلظت میکروارگانیسم‌ها در فضای باز خواهد شد (البته غلظت در محیط داخل کمی از

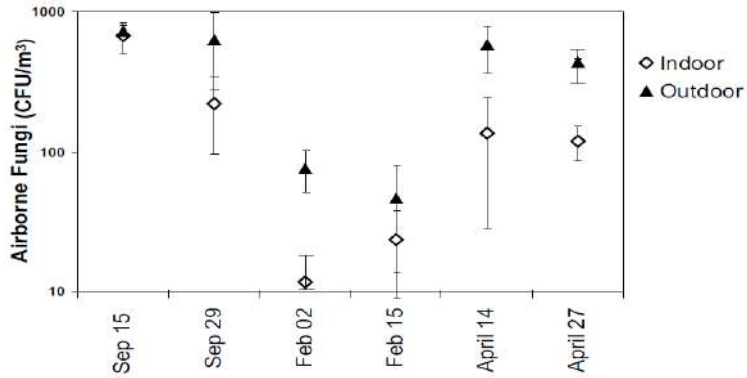
محیط خارج بیشتر خواهد بود). درصورتی‌که منبع آلودگی در داخل ساختمان وجود داشته باشد، غلظتش در نمونه‌های داخل افزایش خواهد یافت.

اگر چه نمونه‌برداری فردی برای ارزیابی مواجهه با بیوآئروسل‌ها ترجیح داده می‌شوند، اما فقدان نمونه‌بردار فردی مناسب برای بیوآئروسل‌ها در بازار، فرد را به این راه‌حل سوق می‌دهد که نمونه‌بردارهای محیطی را در منطقه نمونه‌گیری در مجاورت کارگران و یا در محلی که کارگران عمده وقت خود را در آن صرف می‌کنند قرار دهد. همان‌طور که در مورد ارزیابی مواجهه افراد برای قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی، گروه‌های تماسی مشابه تعریف می‌گردند؛ برای بیوآئروسل‌ها نیز می‌توان چنین راهکاری را مورد استفاده قرار داد. اگر چه چنین طرحی برای نمونه‌برداری، اغلب بسیار مفید بوده و اطلاعات دقیق را ارائه می‌دهد اما در بسیاری از موارد می‌توان با استفاده از طرح‌های ساده‌تر مانند نمونه‌برداری از بدترین حالت ممکن یا نمونه‌برداری نزدیک منابع احتمالی، پاسخگوی سؤالات مورد نظر بود.

نکته:

سطح بیوآئروسل‌ها در هوا در طی فصل‌ها و زمان‌های مختلف سال بسیار متفاوت می‌باشد. برای مثال، سطح اسپور قارچ‌ها در فضای باز در اواخر تابستان در بالاترین مقدار خود است. با این حال، در محیط‌های کار با یک منبع داخلی، به‌احتمال‌زیاد سطح قارچ در طول زمستان، به بالاترین مقدار خود خواهد رسید.

شکل ۲-۲ غلظت بیوآئروسل‌ها در هوای داخل یک مدرسه را در طی فصول مختلف سال نشان می‌دهد. از این نمودار می‌توان دریافت که غلظت بیوآئروسل‌ها در طی یک روز یا یک ماه و فصل می‌تواند تا حد ۱۰ برابر متفاوت باشد. همچنین می‌توان دید که غلظت بیوآئروسل‌ها در هوای داخل از هوای بیرون کمتر است که بیانگر این است که منبع آلودگی بیوآئروسل در ساختمان وجود ندارد.



شکل ۲-۲: پراکندگی غلظت بیوآئروسل‌ها در هوای محیط یک مدرسه
انتهای خطوط انحراف خطا، بیانگر صدک پنجم و صدک نود و پنجم می‌باشند.

انتخاب زمان متوسط نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها مشابه اصولی است که برای نمونه‌برداری از مواجهه با مواد شیمیایی استفاده می‌گردد. در حالت ایده‌آل، برای اثرات بهداشتی ناشی از مواجهه مزمن، مدت‌زمان طولانی‌تر نمونه‌برداری به‌گونه‌ای که حداقل یک دوره کاری فرد را شامل شود ترجیح داده می‌شود (به‌عنوان مثال، یک دوره ۸ ساعته به‌طور متوسط وزنی زمانی). البته برای اثرات بهداشتی حاد، استفاده از زمان‌های کوتاه‌تر نمونه‌برداری (به‌طور مثال چند دقیقه) ممکن است کافی باشد. هر چند چنین معیارهایی در مورد عوارض حاد و مزمن تنها برای تعداد معدودی از بیوآئروسل‌ها ارائه شده است (به‌عنوان مثال: گرد و غبار چوب، گرد و غبار پنبه و کتان) ولی برای تمام بیوآئروسل‌ها وجود ندارند. با این حال باید در نظر داشت که بسیاری از آلاینده‌ها هر دو اثر حاد و مزمن را همراه با هم دارند.

۲-۶- آنالیز داده‌ها و فرضیه

پس از انجام مراحل چهارگانه فوق (بررسی علائم، تعیین مکان آلودگی، تعیین فرضیه و نمونه‌برداری) و به‌ویژه با استفاده از داده‌های به‌دست‌آمده از نمونه‌برداری و همچنین شواهد پزشکی باید تجزیه و تحلیل را انجام داد و در مورد آلودگی میکروارگانیسمی، منبع احتمالی، قابل‌قبول و یا غیرقابل‌قبول بودن مواجهه نظر داد. اگر داده‌ها از این فرضیه که آلودگی میکروارگانیسمی وجود دارد حمایت کردند، اقدامات بیشتری را برای کنترل باید انجام داد.

فصل سوم: ارزیابی اولیه، شناسایی و اصول نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها

۳-۱- آلودگی به میکروارگانیسم

در آلودگی یک محیط به میکروارگانیسم‌ها سه ضلع مثلث الف) منبع یا مخزن ب) محل و منطقه رشد و تکثیر و ج) فرآیند پراکنده شدن میکروارگانیسم در هوا مورد نیاز می‌باشد. بسته به شرایط محیط و نوع میکروارگانیسم هرکدام از این عوامل می‌تواند متفاوت باشد.

۳-۲- منابع میکروارگانیسم‌ها

مخزن میکروارگانیسم‌ها بسته به نوع آن‌ها می‌تواند انسان، حیوان، آب، غبارات، خاک و غیره باشد. محل رشد نیز منطقه‌ای است که میکروارگانیسم‌ها در آن تکثیر می‌گردند. به‌طور بالقوه غالب مخازن، خود می‌توانند به‌عنوان منطقه رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها نیز تلقی گردند. جدول ۳-۱ نمونه‌هایی از مخازن میکروارگانیسم‌های مختلف را ارائه داده است.

جدول ۳-۱: مخازن میکروارگانیسم‌های مختلف

میکروارگانیسم	مخزن
ویروس‌ها	غالباً انسان مخزن آن‌ها می‌باشد، هر چند حیوانات دیگر نیز می‌توانند منبع این‌گونه از میکروارگانیسم‌ها باشند. پاره‌ای از ویروس‌ها به‌طور خاص با منبع جوندگانشان شناخته می‌شوند مانند تب لاسا و هانتا ویروس
باکتری	انسان (مانند توبرکلوزیس و استافیلوکوک) سایر حیوانات (مانند بروسلا و آنتراکس) آب (لژیونلا) خاک (کلستریدیا)
قارچ	خاک و پرندگان (مانند کریپتوکوکوس و هیستوپلاسما) بقایای گیاهان سطوح خیس (مانند چوب و سایر مواد ساختمانی) هوای داخل ساختمان (آلودگی مایکوتیک هوا) آب راکد برای قارچ‌های فرصت‌طلب (به‌طور مثال برای آسپرژیلوس)

۳-۳- پراکنده‌کننده‌ها

منظور از پراکنده‌کننده‌ها وسایل یا شرایط یا ساختاری است که باعث هوابرد شدن میکروارگانیسم‌ها می‌گردد. هرگونه وسیله یا حتی منبع و مخزنی خود نیز می‌تواند به‌عنوان پراکنده‌کننده تلقی گردد. در زیر مثال‌های مختلفی از پراکنده‌کننده‌ها ارائه گردیده است.

- ✓ انسان و سایر حیوانات: عطسه، سرفه
- ✓ سیستم‌های تهویه مکانیکی
- ✓ نبولایزرها و تبخیرکننده‌ها
- ✓ توالت
- ✓ دوش، حمام، جکوزی
- ✓ سطوح خیس و نمناک
- ✓ جارو کشیدن یا راه رفتن روی سطوح
- ✓ حفر کردن خاک‌های آلوده
- ✓ تخریب ساختارهای آلوده

۳-۴- ارزیابی ریسک خطرات بیوآئروسل‌ها

نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها باید با در نظر گرفتن فاکتورهای محیط پیرامون و نوع کاربرد ساختمان انجام شود. همیشه باید به این مورد توجه شود که آلاینده‌های بیولوژیکی برخلاف آلاینده‌های شیمیایی، پتانسیل تولید مثل دارند و از نظر تعداد افزایش می‌یابند. بنابراین نمونه‌برداری باید در کوتاه‌ترین دوره زمانی ممکن انجام گیرد.

نسبت تعداد اسپورها و کلنی‌های باکتریایی که به شکل کیست درآمده‌اند[1] به علت تولید مثل آن‌ها تغییر می‌کند. در مواردی که اساساً باکتری‌ها تقویت شوند، این کلنی‌ها ممکن است اسپورها را از رشد و ایجاد ساختارهای گیاهی بازدارند. بنابراین ممکن است دانستن

1- Encysted

نسبت تعداد باکتری به تعداد واحدهای تشکیل دهنده‌ی کلنی کپک[1] لازم باشد. بنابراین مرئی نبودن رشد کپک حتماً نشانی بر تمیز بودن محیط نیست.

هنگامی که کپک‌ها تقویت شوند، با رشد بیشتر کپک، ممکن است کلنی‌های بیماری‌زا[2] (که در غیر این صورت وجود نداشت) به تدریج درون ساختمان ظاهر شوند. جریان هوا به آسانی کپک‌ها را گسترش نمی‌دهد چون اسپورها در محیط‌هایی با جریان هوای خشک کمتر زنده می‌مانند، اما در جریان هوای مملو از رطوبت یا درون خانه‌هایی که دیگر کلنی‌های تقویت شده‌ی کپک وجود دارد کپک ممکن است شروع به رشد کند. در نواحی‌ای که فضولات پرندگان یا دیگر حیوانات وجود دارد از وجود هیستوپلاسموزیس و کوکسیدیومایکوزیس[3] نگران می‌شویم. اگر در محیطی دیگر کپک‌ها نیز در حال رشد باشند باشند هیستوپلاسما[4] ناقل محتمل‌تر بیماری است زیرا بهتر می‌تواند در محیط مرطوب زنده بماند.

برخی از این کپک‌ها برای اینکه خوب رشد کنند به محیط مرطوب به معنای واقعی نیازی ندارند؛ بلکه هرگونه کندانسه شدن حتی به وسیله اختلاف دمای خیلی کم، برای ایجاد رطوبت مورد نیاز آن‌ها کافی است.

ایده‌ی قدیمی که می‌گوید فایبرگلاس باعث رشد بیوآئروسل‌ها نمی‌شود، صحیح نیست. ممکن است فایبرگلاس خودش منبع غذایی خوبی نباشد؛ اما دیگر منابع غذایی را به دام می‌اندازد و شرایط عالی ایجاد می‌کند.

فیلترهای فایبرگلاس، کانال‌های آستر شده با فایبرگلاس و صفحات فایبرگلاس جا داده‌شده درون کانال‌ها برای عایق کاری، همگی به مرور زمان و کهنه شدن تراکمشان کم می‌شود. ذرات معلق به ویژه آن‌هایی که در جریان هوای چرب پر بخار معلق هستند، به فایبرگلاس برخورد می‌کنند و یک بستر مغذی را برای آلودگی‌های بیولوژیک فراهم می‌کنند. به خاطر مشکلات مربوط به چربی یا روغن موجود در جریان هوا و باید در

1- Mold
2- Pathogenic
3- Coccidioidomycosis
4- Histoplasma

استفاده از این محصولات دقت شود. هرگاه لوله های سرد کننده‌ی حاوی روغن معدنی و فرئون[1] تعمیر می‌شوند، باید هرگونه شکستگی لوله‌ها به عنوان عامل بالقوه‌ی فراهم کننده‌ی «تله چسبناک[2]» مغذی برای بیوآئروسل‌ها در نظر گرفته شود.

پرسش‌های موجود درباره وضعیت بهداشتی محیط، تا حدی به این بستگی دارد که نمونه برداری چگونه انجام شده است و پاسخ‌های متعددی دارد. هنگام به‌کارگیری روش‌های استاندارد نمونه‌برداری جدید ممکن است همه بخش‌های یک ساختمان رشد تقویت شده‌ی کپک را نشان دهند. اغلب نتیجه نمونه برداری با تراکم زمینه‌ی بیرون ساختمان یا با تراکم در بخشی از ساختمان که نسبتاً عاری از آلودگی کپک است مقایسه می‌شود. بر اساس این مفهوم که بیوآئروسل‌ها هنگام تغییر شرایط از نظر تعداد تغییر می‌کنند، چیزی به عنوان تراز زمینه‌ی ثابت[3] وجود ندارد. فقدان تعداد قطعی[4] دلیل دیگری است که حضور متخصصان در سطح ارشد و ناظر میکروب شناس را در تیم نمونه برداری ضروری می‌سازد.

برای افراد حساس شده، افرادی که سیستم ایمنی ضعیفی دارند، افراد مسن یا خیلی جوان کپک با تراکم خیلی کم نیز می‌تواند موجب بروز مشکلات بهداشتی شود. مطمئناً هرکسی که برای جراحی یا دیگر فرایندهای طبی تهاجمی[5] در بیمارستان بستری شده باشد نیز در طی آن مدت فردی با سیستم ایمنی ضعیف شده در نظر گرفته می‌شود. برای دیگر افراد انتظار می‌رود شمارش کپک غیر بیماری‌زا حداکثر cfu ۲۰۰ بر متر مکعب از تراکم زمینه بیشتر باشد. ترازهای بالاتر ممکن است برای مخلوط‌های برخی از گونه های کپک قابل قبول باشد اما برای گونه های تکی و گونه‌هایی که از بیماری‌زا بودن آن‌ها اطمینان وجود دارد ترازهای پایین‌تر قابل قبول است.

برای نواحی‌ای که «پاک» اطلاق شده‌اند نمونه‌های تماسی باید همیشه کمتر از cfu ۲۰۰ در هر نوار (۲۰۰ cfu/strip) باشد. برای ارزیابی کامل ساختمان‌ها به مجموع اطلاعات

1- Freons
2- fly paper
3- Static background level
4- Hard number
5- Invasive

حاصل از نمونه برداری تماسی و نمونه برداری از هوا نیاز است و آستانه مجاز، بسته به مخلوط آلاینده بیولوژیک و کاربرد ساختمان متفاوت است. برای مثال در محیط بیمارستان، آستانه مجاز cfu/strip ۲۰ برای اتاق عمل خیلی زیاد است ولی برای اتاق انتظار کاملاً قابل قبول است. به محض اینکه تراکم آلاینده ارزیابی شد، می‌توان درباره‌ی چگونگی اصلاح وضعیت‌های نامناسب تصمیم‌گیری کرد.

بعضی مواقع پاک کردن آلاینده به وسیله بخار، بدون استفاده از بیوساید کار اشتباهی است زیرا بخار سرد و آب سرد تنها چیزی است که کپک‌ها را بیشتر تقویت می‌کند. تمیز کردن با استفاده از بخار به شرطی مؤثر است که به دنبال آن فرآیند خشک کردن انجام شود و در بعضی موارد باید همزمان با استفاده از بخار، بیوساید نیز مصرف شود.

استفاده از بیوساید نیز می‌تواند مشکل ساز باشد. مواد شیمیایی که در آزمایشگاه مصرف می‌شوند ممکن است باعث بروز مشکلات زیبایی شناختی و حتی بهداشتی در دنیای واقعی شوند. بیوسایدها اغلب زمان ماندگاری محدودی دارند و حتی ممکن است اثربخشی آن‌ها در برابر مخلوط آلاینده های بیولوژیک مورد نگرانی، نامعین باشد.

درباره زمان ماندگاری[1] هر مخلوط شیمیایی، پرسش‌های حل نشده ای وجود دارند. بعضی مواقع، زمان ماندگاری مواد شیمیایی در محیط‌های خاص مورد نظر مشخص نیست و در مواردی دیگر، ممکن است زمان ماندگاری موجب عدم جذب مواد شیمیایی شده و به دلیل دارا بودن خواص سمی، باقیمانده آن‌ها می‌تواند موجب بروز آلودگی شود. باید به یاد داشت که ساختار اصلی سلولی آلاینده های بیولوژیکی و بدن انسان یکسان است، بنابراین مواد شیمیایی که به این آلاینده‌ها صدمه می‌زنند می‌توانند به بدن ما نیز صدمه بزنند.

در گذشته بر این باور بودند که فیلتراسیون جریان هوا به تنهایی کافی است تا هوای منتقل شده به ساختمان را نسبتاً خالص سازند. بلکه امروزه میدانیم که فیلتراسیون فقط برای مدت کوتاهی مؤثر است و تقویت بیولوژیکی بیش از حد[2] می‌تواند از راه سیستم‌های تهویه مطبوع که به تازگی درون کانال‌ها یا پلنوم‌ها نصب شده‌اند منتقل شود.

1- Residual Time

2- Excessive Biological Amplification

۳-۵- کنترل مواجهه با بیوآئروسل‌ها

همان‌طور که در مورد مواجهه با هر ماده شیمیایی و یا عامل فیزیکی دیگری می‌توان بیان کرد، کنترل قرار گرفتن در معرض بیوآئروسل‌ها در محیط‌های کاری را می‌توان به ترتیب در سه سطح مداخله‌ای الف) از بین بردن منبع، ب) کنترل منبع و در نهایت ج) کنترل مواجهه تعریف نمود. تنها با شناسایی فاکتورهایی که باعث تولید و گسترش این دسته از آلاینده‌ها می‌گردند می‌توان وجود آن‌ها را در محیط‌های کاری کاهش داد. در بسیاری از موارد، بر اساس یک بازرسی بصری و بازدید میدانی (که یک عنصر کلیدی در شناسایی خطرات می‌باشند)، راهکارهای اصلاحی را می‌توان سریعاً تشخیص داد.

۳-۶- ضرورت توجه به ماهیت کار در انتخاب استراتژی کنترل

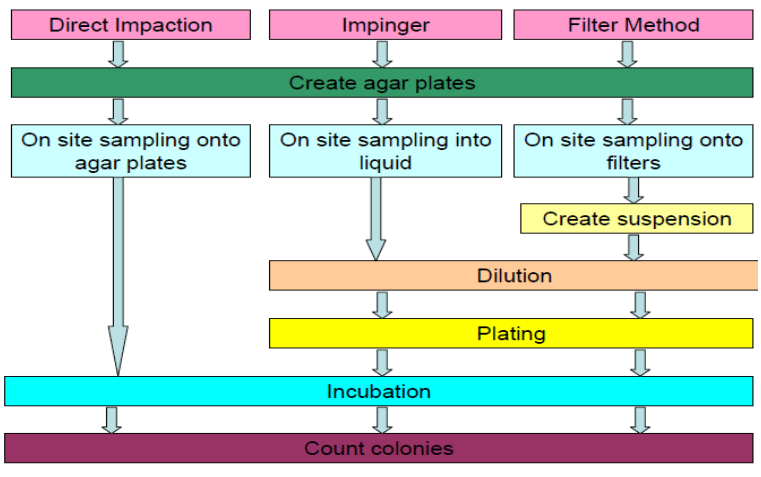
همان‌گونه که بیان شد در بسیاری از موارد اولین قدم شناسایی منابع ایجاد بیوآئروسل‌ها، تعیین شرایط مناسبی که باعث رشد آن‌ها گردیده و حذف این موارد می‌باشد. اما در پاره-ای از فرآیندها وجود انواع میکروارگانیسم‌ها و فراهم آوردن شرایطی برای رشد بهینه آن‌ها جزئی از فرآیند تولید بوده و بنابراین نمی‌توان آن‌ها را حذف نمود. طبیعی است در چنین شرایطی گزینه‌های کنترل در منبع و جلوگیری از رشد آن‌ها منتفی خواهد بود. بنابراین می‌توان گفت هر چند حذف منبع همواره گزینه مناسبی جهت کنترل بیوآئروسل‌ها نیست، اما کنترل باید با محدود کردن انتشار آلاینده از منابع و جلوگیری از پخش آن‌ها در محیط کار مانند استفاده از موانع فیزیکی، محصورسازی، استفاده از تهویه موضعی و عمومی انجام گیرد.. استفاده از سرپوش بر روی نوار نقاله‌های حمل زباله در کارخانه‌های کمپوست‌سازی، استفاده از بازوهای پارچه‌ای در عملیات تخلیه و بارگیری غلات در اسکله‌ها نمونه‌هایی از این نوع کنترل‌ها می‌باشند. علاوه بر مواجهه استنشاقی با بیوآئروسل‌ها، مواجهه پوستی و همچنین مواجهه گوارشی (از طریق تماس دست آلوده به دهان) در این محیط‌ها نیز شایع می‌باشد، بنابراین استفاده از وسایل حفاظتی دیگر مانند دستکش و ماسک نیز اکیداً توصیه می‌گردد.

فصل چهارم: اندازه‌گیری بیوآئروسل‌ها و اصول عملکرد دستگاه‌های سنجش بیوآئروسل‌ها

۴-۱- کلیات نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها

غالب روش‌های نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها بر اساس تکنیک‌های مشابهی که به‌طورمعمول برای نمونه‌برداری از سایر ذرات معلق (مانند غبارات، فیوم‌ها و غیره) از جریان هوا به کار می‌روند، عمل می‌کنند. در یک دسته از روش‌های نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها، این ذرات را از روی صفحاتی که از پیش با مواد چسبنده پوشیده شده‌اند نمونه‌برداری می‌کنند. در دسته‌ای دیگر از روش‌ها، هوای حاوی بیوآئروسل‌ها را از درون مایعی خاص عبور می‌دهند (ایمپینجرها و برخورد در مایع). استفاده از فیلترها نیز در مواردی جهت نمونه‌برداری از این دسته از آلاینده‌ها توصیه گردیده است. علاوه بر روش‌های کلاسیک که در فوق بیان شد، امروزه دستگاه‌های الکترونیکی نیز برای تعیین مقدار و قرائت مستقیم بیوآئروسل‌ها وجود دارند که در ادامه به آن‌ها پرداخته خواهد شد. شکل ۴-۱ خلاصه‌ای از فرآیند ارزیابی مواجهه با بیوآئروسل‌ها با هرکدام از این سه روش را نشان داده است.

تکنیک‌های برخورد، جمع‌آوری در مایع و فیلتراسیون، سه نمونه از مهم‌ترین روش‌های نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها می‌باشند.



شکل ۴-۱: خلاصه فرآیند و روش‌های مورد استفاده در ارزیابی بیوآئروسل‌ها

هدف کلی از نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها معمولاً تعیین وجود و تعیین غلظت آن‌ها برای ارزیابی مواجهه، تعیین منابع تولید آلودگی برای کنترل، یا تعیین و بررسی اثربخشی اقدامات کنترلی به‌کاررفته، می‌باشد. متأسفانه همان‌گونه که در بخش مقادیر مجاز مواجهه با بیوآئروسل‌ها آمده است، رابطه دوز- پاسخ در مورد این آلاینده‌ها چندان مشخص نگردیده است و بر این اساس راهنماهای حدود مجاز مواجهه برای آن‌ها برای هیچ‌گونه عارضه بهداشتی خاصی تدوین نگردیده است. غلظت بیوآئروسل‌ها در محیط به‌شدت در طی زمان متغیر بوده و ده‌ها برابر می‌تواند با هم تفاوت داشته باشند. برای مثال در یک خانه و محیط مسکونی یا محیط‌های شغلی با سطح متوسط آلودگی، غلظت باکتری یا اسپورهای قارچی می‌تواند از ۱۰ تا ۱۰۰۰ CFU[1] بر مترمکعب متغیر باشد. غلظت‌های بسیار پایین در حد زیر یک‌صد CFU بر مترمکعب را می‌توان در مشاغل و صنایع با تهویه خوب و بدون منابع مهم تولید آلاینده مانند اطاق‌های پاک، دفاتر اداری، اطاق‌های عمل بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌ها یافت. از سویی دیگر، غلظت بسیار بالای بیوآئروسل‌ها (در حدود ۱۰۰۰۰ تا $۱۰^{۱۰}$ CFU بر مترمکعب) را می‌توان در محیط‌هایی مانند نساجی‌ها، چوب‌بری‌ها، و پاره‌ای از عملیات کشاورزی و حتی در خانه‌ها و دفاتر اداری به‌شدت آلوده به میکروارگانیسم‌ها مشاهده کرد. در غالب این محیط‌ها غلظت بیوآئروسل‌ها شدیداً به زمان و مکان وابسته می‌باشد. یکی از دلایلی که غلظت بیوآئروسل‌ها در طول زمان در یک فضا به‌شدت تغییر می‌کند این است که منابع تولید بیوآئروسل در یک محیط الزاماً به‌طور پیوسته ذرات آلاینده خود را تولید نمی‌کنند. برای مثال تولید و رهاسازی اسپور از میسیلیوم قارچ‌ها تنها در شرایط خاصی از رطوبت و سرعت جریان هوا رخ می‌دهد.

نکته:

یک روش واحد به‌تنهایی قادر به جمع‌آوری، شناسایی و تعیین مقدار بیوآئروسل‌های موجود در یک محیط نیست. بنابراین توجه به منابع ممکن تولید بیوآئروسل در فضا از

1- Colony Forming Units

اهمیت زیادی برخوردار است. بررسی منابع آلودگی و نمونه‌گیری از منابع در اولین گام اقدامی ضروری جهت تعیین روش بهینه نمونه‌برداری به نظر می‌آید.

عموماً از آنجا که در موارد شغلی و صنعتی، منابع تولید میکروارگانیسم‌ها تا حدی مشخص است، انتخاب استراتژی نمونه‌برداری آسان می‌باشد. درحالی‌که در موارد غیر شغلی و خانگی، از آنجا که منابع به‌خوبی شناخته نشده‌اند، نیاز به بکار بردن استراتژی‌های نمونه‌برداری پیچیده‌ای می‌باشد.

۴-۲- محل نمونه‌گیری

محل نمونه‌گیری به فاکتورهای متعددی به‌ویژه هدف نمونه‌برداری بستگی دارد. نمونه‌بردار همواره در محلی باید نصب شود که کارگر در آن ارتفاع در حال انجام کار می‌باشد. بر این اساس برای نمونه‌هایی که به‌صورت محیطی یا فردی قرار است گرفته شوند، ارتفاع ۱/۵ تا ۱/۷ متر از سطح زمین توصیه می‌گردد. در مواردی که هدف تعیین منبع آلودگی می‌باشد نمونه باید از نزدیک‌ترین محل به منبع احتمالی اخذ گردد.

مطالعات نشان داده است که در محیط‌های بیرون از ساختمان که باد و جریان‌های همرفتی قوی وجود دارد، نمونه‌گیری در ارتفاع‌های مختلف موجب به دست آمدن نتایج مختلفی می‌گردد. در محیط‌های داخل ساختمان نیز وجود وسایل و قطعات بزرگ در نزدیکی محل نمونه‌برداری بر روی حرکت هوا تأثیر گذاشته و باعث تغییر در غلظت قرائت‌شده خواهد گردید.

نکته:

به‌عنوان یک توصیه تجربی، پیشنهاد می‌گردد همواره قبل از انجام نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها یک بازدید مقدماتی از کارگاه و محل نمونه‌برداری انجام گردد و محل موردنظر از نظر فاکتورهای فوق مورد بررسی قرار گیرد. اگر محل نمونه‌برداری تا حدی تاریک است، بهتر است با استفاده از یک لامپ، محل به‌خوبی بازدید تا هرگونه علامتی از

منابع تولید بیوآئروسل مشخص گردد. همچنین جهت تعیین سرعت جریان هوا و غیره استفاده از وسایل سنجش سرعت جریان هوا و لوله‌های دود توصیه می‌گردد.

۴-۳- روش برخورد[1]

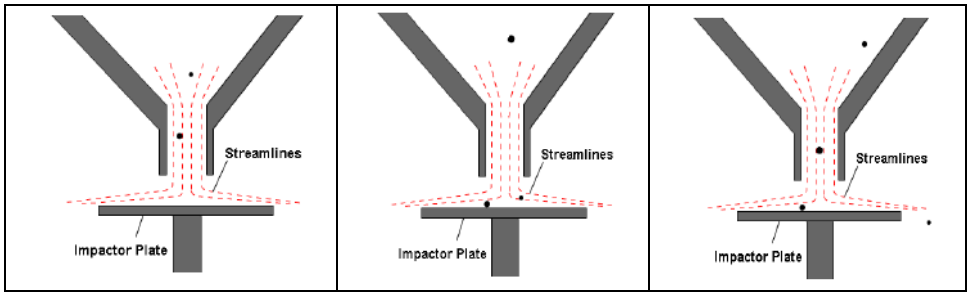
روش برخورد معمولاً جهت جداسازی ذرات از جریان گاز به کار می‌رود و بر اساس اینرسی ذرات این کار را انجام می‌دهد. روش‌های مبتنی بر برخورد نیز یکی از معمول‌ترین روش‌های مورداستفاده در نمونه‌برداری از میکروارگانیسم‌های موجود در هوا می‌باشند. وسایلی که بر اساس روش برخورد عمل می‌کنند را در اصطلاح کلی «ایمپکتور» می‌نامند. یک ایمپکتور از یک سری از سوراخ‌های ریز (دایره‌ای یا لبه‌دار) و یک یا چند صفحه تشکیل شده است. جریان هوای حاوی ذرات پس از عبور از حفرات مذکور (و درنتیجه ایجاد سرعت بالا) به سمت صفحه‌ی پایین‌دست مسیر هوا، سوق داده می‌شوند. ذرات درشت‌تر (با قطری خاص) که اینرسی زیادتری دارند، مسیر جریان را ادامه نداده و به صفحه مذکور (که برای بیوآئروسل‌ها معمولاً از لایه آگار پوشیده شده است) برخورد می‌کنند. یک ایمپکتور ایده‌آل دارای قطر برش مشخصی بوده و می‌توان با روابط نسبتاً ساده‌ای آن را مشخص نمود. قطر برش X درصد بیانگر قطر ذراتی است که با راندمان X درصد در آن وسیله (در اینجا ایمپکتور) به دام می‌افتند.

نکته:

به‌طور مثال اگر قطر برش برای ایمپکتوری در دبی خاص برابر با ۵ میکرومتر باشد به این معنی است که ذرات ۵ میکرومتر و پایین‌تر با احتمال حداقل ۵۰ درصد توسط این وسیله به دام خواهند افتاد. قطر برش در ایمپکتورها به فاکتورهای مختلف و به‌ویژه سرعت نمونه‌برداری بستگی دارد. سرعت نیز خود درنهایت به دبی پمپ نمونه‌برداری بستگی دارد. عموماً با افزایش دبی نمونه‌برداری سرعت افزایش یافته و قطر برش کاهش پیدا می‌کند.

1- impaction

عموماً در هر مرحله از ایمپکتورها، ذرات بزرگ‌تر از یک قطر آیرودینامیکی خاص بر روی صفحه برخورد خواهند کرد، درصورتی‌که ذرات ریزتر از آن عبور کرده و به دام نخواهند افتاد. با این حال ویژگی‌هایی مانند سرعت بالای جریان هوا، افت ورودی، افت بین طبقه‌ها و برگشت مجدد ذرات به درون فضای دستگاه بر روی عملکرد این دستگاه تأثیر می‌گذارند. قطر برش ایمپکتورها به عدد استوک وابسته می‌باشد. شکل ۴-۲ مکانیسم عملکرد ایمپکتورها را نشان داده است.



شکل ۴-۲: مکانیسم عملکرد ایمپکتور

همان‌گونه که بیان شد، روش برخورد یکی از معمول‌ترین روش‌ها در نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها و به‌ویژه بیوآئروسل‌های قابل‌کشت می‌باشد. این دستگاه‌ها توسط شرکت‌های مختلف و با نام‌های تجاری متفاوتی ساخته شده و در بازار موجود می‌باشند. جدول ۴-۱ نام تجاری تعدادی از این دستگاه‌ها را ارائه نموده است. با این حال همگی آن‌ها داری معایب و مزایای خاصی می‌باشند.

جدول ۴-۱: نام تجاری برخی دستگاه‌های نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها به روش برخورد

نام تجاری	توضیحات
Andersen six-stage sampler	" برای ACGIH[1]توصیه شده توسط «سمپوزیوم بین‌المللی آئروبیولوژی» و نمونه‌برداری میکروارگانیسم‌های قابل‌کشت "
Andersen two-stage sampler	--
Andersen single-stage sampler	توصیه شده توسط انجمن بازیافت مواد آلی انگلستان برای نمونه‌برداری و شمارش بیوآئروسل‌ها در فرآیند کمپوست
Casella slit sampler	--
Marple eight-stage impactor	استفاده از فیلتر یا ژلاتین به‌عنوان صفحه برخورد
MAS2-100 sampler	--

1- American Conference of Governmental Industrial Hygienists
2- Microbial Air Monitoring System

الف) اندرسون تک مرحله‌ای ب) اندرسون دو مرحله‌ای ج) اندرسون شش مرحله‌ای
د) نمونه‌ای از صفحات مورد استفاده در نمونه‌بردار اندرسون
شکل ۴-۳: نمونه‌بردارهای اندرسون

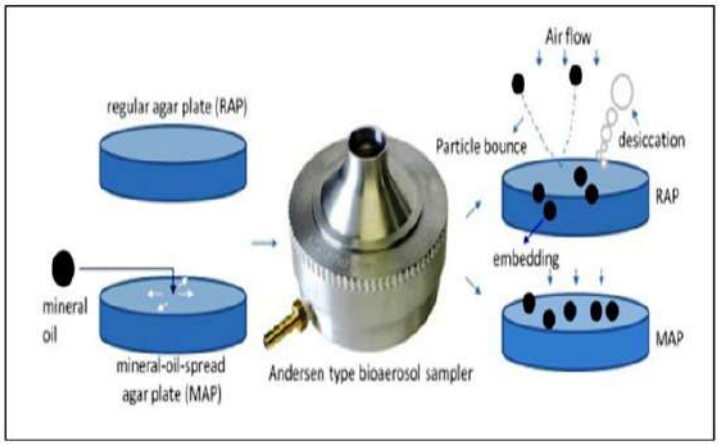
۴-۴- ایمپکتور Biostage

Biostage Impactor نمونه‌ای از وسایل نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها بوده که بر اساس مکانیسم برخورد کار می‌کند. این وسیله توسط کمپانی SKC ساخته می‌شود. عملکرد این نمونه‌بردار برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها با معیارهای سازمان‌هایی مانند NIOSH[1] و ACGIH برای نمونه‌برداری از قارچ‌ها و باکتری‌های داخل و بیرون ساختمان منطبق بوده و برای جمع‌آوری بیوآئروسل‌های قابل‌کشت کارایی دارد. ورودی این وسیله از یک بخش مخروطی مانند، تشکیل شده که هوا را به سمت صفحه‌ای که ۴۰۰ سوراخ ریز که با دقت در آن سوراخ‌کاری گردیده است، هدایت می‌نماید (شکل ۵-۳). سپس هوا که از سوراخ‌ها عبور نموده، به صفحه آگار که در سینی زیرین آن قرار داده شده است برخورد می‌نماید. شرکت SKC دو نمونه از این وسایل با نام‌های تجاری Biostage Standard و Biostage 200 را تولید نموده است. گونه استاندارد این وسیله (Biostage Standard) به‌طورمعمول باید در دبی ۲۸/۳ لیتر بر دقیقه کار کند، و گونه ۲۰۰ سوراخی آن که با نام Biostage 200 عرضه می‌گردد باید با دبی ۱۴/۱۵ لیتر بر دقیقه کار کند. صفحه آگار مورد استفاده در این نوع از نمونه‌بردارها بسته به نوع میکروارگانیسمی که هدف نمونه‌برداری است متفاوت می‌باشد. جدول ۴-۲ نوع بستر آگاری مناسب برای نمونه‌برداری از باکتری‌ها و

1- The National Institute for Occupational Safety and Health

قارچ‌ها را ارائه داده است. به‌طورمعمول صفحات آگار با ضخامت ۱۵ میلی‌متر و قطر ۹۰ تا ۱۰۰ میلی‌متر برای نمونه‌برداری در این دستگاه‌ها مناسب می باشند.Biostage impactor کاربردهای مختلفی داشته که در زیر به مواردی از آن‌ها اشاره شده است:

- مطالعات مربوط به بررسی کیفیت هوای داخل ساختمان
- مطالعات مربوط به بررسی راندمان و فیلتراسیون در اطاق‌های پاک
- بررسی کیفیت هوا در تولید محصولات دارویی
- مراکز و ساختمان‌های فرآوری مواد غذایی
- تصفیه‌خانه‌ها
- محیط‌های بیمارستانی
- مراکز تولید مواد آرایشی
- سیلوها و مراکز حمل و فرآوری غلات
- واکنش اضطراری به مخاطرات بیولوژیک
- حیوان خانه‌ها



شکل ۴-۴: ساختار Biostage Impactor و Biostage 200

۴-۵- ویژگی‌های Biostage Impactor

- مطابق با استانداردهای ACGIH برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها

- مطابق با دستورالعمل‌های نمونه‌برداری ۸۰۰۰ و ۸۰۰۱ سازمان NIOSH در نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های قابل‌کشت
- دارای عملکردی مشابه با اندرسن شش مرحله‌ای (N6[1])

جدول ۴-۲: میکروارگانیسم‌ها و بستر نمونه‌برداری

میکروارگانیسم	بستر
باکتری	Tryptic Soy Agar (TSA) or Blood Agar Plates (BAP)
قارچ (قابل‌کشت)	Potato Dextrose Agar (PDA), Malt Extract Agar (MEA), Dichloran Glycerol 18 Agar (DG-18) , or Corn Meal Agar (CMA)

۴-۶- مراحل انجام نمونه‌برداری با Biostage Sampler

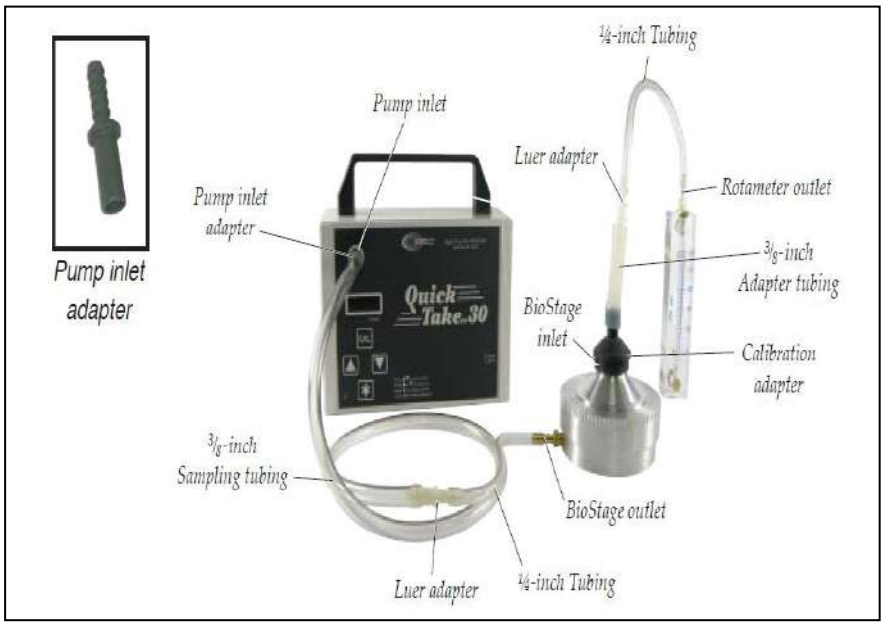
- تمیز سازی Biostage: قطعات وسیله را از هم باز کرده آن‌ها را در حمام اولتراسونیک حاوی محلول گرم دترجنت قرار دهید. سپس قطعات تمیز را آب کشیده، با هوا خشک کرده و در محیط عاری از غبار نگه‌دارید.

شکل ۴- ۵ الف: تمیز سازی قطعات

- استریل سازی Biostage : ابتدا واشر دستگاه را در آورده و اتوکلاو نمایید. قطعات دستگاه را در ایزوپروپانول ۷۰ درصد غوطه‌ور کرده و بشویید (البته در فیلد می‌توانید

1- Andersen six-stage sampler

در صورت عدم دسترسی به امکانات برای غوطه‌ور کردن اجزاء دستگاه در الکل، آن‌ها را با پد آغشته به الکل ۷۰ درصد تمیز نمایید). در حین تمیز سازی همواره شرایط واشر را چک کنید.



شکل ۴- ۵ ب: کیت نمونه‌برداری با استفاده از Biostage

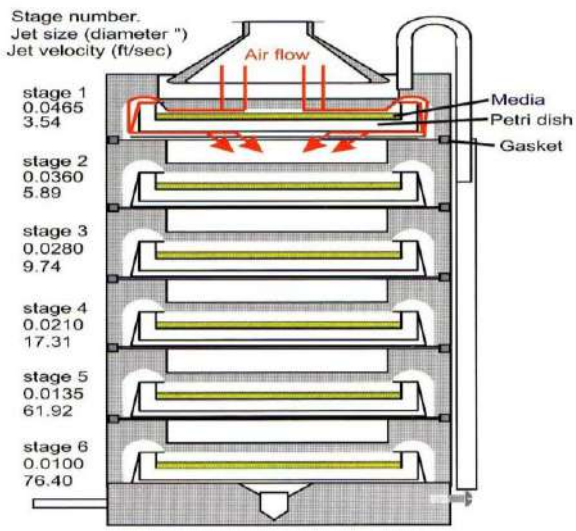
پس از نمونه‌برداری می‌توان میکروارگانیسم‌های جمع‌آوری‌شده روی صفحه دستگاه را برای کشت مورد استفاده قرار داد.

جدول ۴-۳: مشخصات biostage impactor و biostage 200

مشخصات	نوع استاندارد Biostage	نوع ۲۰۰ سوراخه Biostage (Biostage 200)
تعداد منافذ جت	۴۰۰	۲۰۰
قطر منافذ هر جت (mm)	۰/۲۵	۰/۲۵
دبی نمونه‌برداری (Lit/Min)	۲۸/۳	۱۴/۱۵
قطر میانه برش (mm)	۰/۶	۰/۶
مدیای نمونه‌برداری	صفحات آگار با قطر ۹۰ تا ۱۰۰ mm	صفحات آگار با قطر ۹۰ تا ۱۰۰ mm
آنالیز	کشت کلنی‌ها	کشت کلنی‌ها
اتصالات مورداستفاده	لوله ۰/۲۵ اینچ	لوله ۰/۲۵ اینچ

نکته:

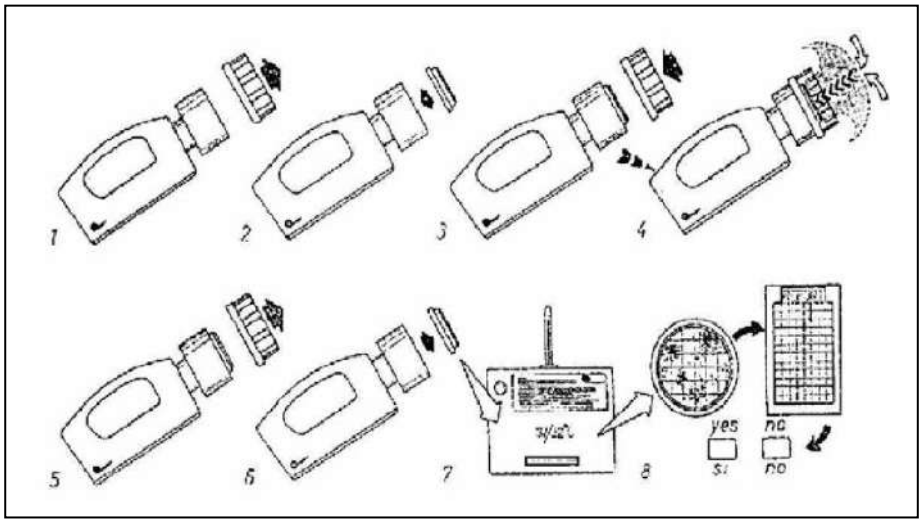
نمونه‌بردارهای Biostage را می‌توان برای نمونه‌برداری قارچ یا باکتری‌های قابل‌کشت در محیط‌های داخل ساختمان و بیرون از ساختمان به کار برد. برای استفاده از این وسایل باید پمپ با دبی بالا در اختیار باشد. این پمپ‌ها معمولاً با برق شهر (۲۲۰ ولت) کار می‌کنند و دامنه دبی ۱۰ تا ۳۰ لیتر بر دقیقه دارند. بر اساس گونه‌ای که مد نظر برای نمونه‌برداری می‌باشد، جنس مدیای مناسبی انتخاب گردد.



شکل ۴-۶: نمونه‌بردار شش مرحله‌ای اندرسن

۴-۷- دستگاه‌های SAS

دستگاه‌های SAS همگی از تکنیک برخورد استفاده کرده و در گونه‌های مختلفی وجود دارند. عددی که معمولاً در انتهای نام این دستگاه‌ها بیان می‌گردد بیانگر دبی پمپ مکنده این دستگاه‌ها می‌باشد. به‌طور مثال SAS-100 بیانگر دستگاه SAS با دبی مکش ۱۰۰ لیتر بر دقیقه می‌باشد. هوا با سرعت ثابتی از دهانه ورودی دستگاه مکیده شده و پس از عبور از نازل‌های دستگاه و ایجاد جریان لامینار هوا، به سطح آگاری که از قبل در مسیر عبور جریان قرار داده شده است برخورد می‌کند. هنگامی‌که مدت‌زمان نمونه‌برداری اتمام یافت، صفحه آگار از دستگاه جدا شده و پس از انکوبه کردن به مدت خاصی، تعداد کلنی‌ها شمارش می‌گردد. شکل ۴-۷ فرآیند کار با این دستگاه را نشان داده است.



۱: سرپوش دستگاه را باز کنید ۲: صفحه محیط کشت را در محل خود قرار دهید ۳: درپوش را در جای خود محکم ببندید. ۴: نمونه‌برداری را بر اساس راهنما و هدف در مدت‌زمان مشخص انجام دهید. ۵: پس از اتمام نمونه‌برداری درپوش را باز کنید ۶: صفحه محیط کشت که نمونه‌برداری بر روی آن انجام شده است را از محل خود بردارید. ۷: صفحه محیط کشت را انکوبه کنید. ۸: پس از انکوبه کردن در دمای خاص و مدت‌زمان مشخص، تعداد کلنی‌ها را بشمارید.

شکل ۴-۷: مراحل آماده کردن و کار با دستگاه SAS.

تعداد کلنی شکل‌گرفته بر حسب مترمکعب هوا در این شیوه را با استفاده از رابطه زیر می‌توان محاسبه کرد:

$$x = \frac{\Pr \times 1000}{V}$$

V: حجم هوای نمونه برداری شده (لیتر)
r: تعداد کلنی‌های شمارش شده بر روی صفحات تماس ۵۵ یا ۸۴ میلی‌متر
Pr: شمارش احتمالی به دست آمده از جدول تصحیح جهت روزنه درپوش
X: تعداد کلنی‌های تشکیل شده در ۱۰۰۰ لیتر هوا

Versatrap نمونه‌ای از ابزار مبتنی بر فیلتراسیون بوده که برای جمع‌آوری اسپورها طراحی گردیده و ذرات با قطر بین ۱/۵ تا ۳/۹ میکرومتر را به دام می‌اندازد. از این نمونه‌بردار همراه با پمپ با دبی بالا می‌توان برای نمونه‌برداری در مقاصد بررسی کیفیت هوای داخل ساختمان‌ها، بررسی آلودگی در اطاق‌های پاک، کنترل عفونت، بررسی عملکرد سیستم‌های تهویه مطبوع و نمونه‌برداری از منافذ و حفرات دیوارها استفاده نمود. با استفاده از این نمونه‌بردار در دبی ۳۰ لیتر بر دقیقه می‌توان اسپورهای قارچ آسپرژیلوس و پنی سیلیوم را تا قطر ۱/۵ میکرومتر با راندمان بالایی نمونه‌برداری نمود. استفاده از این نمونه‌بردار روشی استاندارد، در شمارش اسپور قارچ‌ها و شناسایی گونه آن‌ها می‌باشد. این کاست را می‌توان در دبی‌های مختلف جهت به دست آوردن راندمان‌های مختلف در قطرهای متفاوت به‌کار برد.

شکل ۴-۸ کارایی این وسیله را در ۶ دبی بین ۵ تا ۳۰ لیتر بر دقیقه نشان داده است. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با این روش را می‌توان با استفاده از میکروسکوپ آنالیز نمود. دستورالعمل ASTM D7391–09 برای آنالیز میکروسکوپی این نمونه‌ها توصیه می‌گردد. مدت‌زمان پیشنهادی نمونه‌برداری با استفاده از این ابزار ۱ تا ۱۰ دقیقه می‌باشد. سازنده این نمونه‌بردار بر اساس محیط نمونه‌برداری جدول زیر را برای انتخاب پارامترهای نمونه‌برداری ارائه داده است.

جدول ۴-۴: مدت زمان نمونه‌برداری بر اساس نوع محیط با استفاده از Versaspore

شرایط محیط نمونه‌برداری	دبی ۱۵ لیتر بر دقیقه	دبی ۳۰ لیتر بر دقیقه
اطاق کار نسبتاً تمیز و یا محیط بیرون بدون غبار قابل‌مشاهده	۱۰ دقیقه	۵ دقیقه
محیط داخل ساختمان با فعالیت و تعداد زیاد پرسنل	۵ دقیقه	۲ دقیقه
محیط داخل با دیوارهای در دست بازسازی و یا محیط‌های صنعتی غبارآلود	۱ دقیقه	۳۰ ثانیه

نکته:

استفاده از Versatrap افت فشار زیادی در مسیر ایجاد نمی‌نماید. بنابراین لازم نیست تا از آن در مسیر سیستم کالیبراسیون پمپ استفاده نمود.

۴-۸- دستورالعمل کار با Versatrap

۱- بر اساس شرایط و محل نمونه‌برداری، دبی مناسب پمپ را انتخاب کرده و آن را در دبی مذکور کالیبره نمایید.

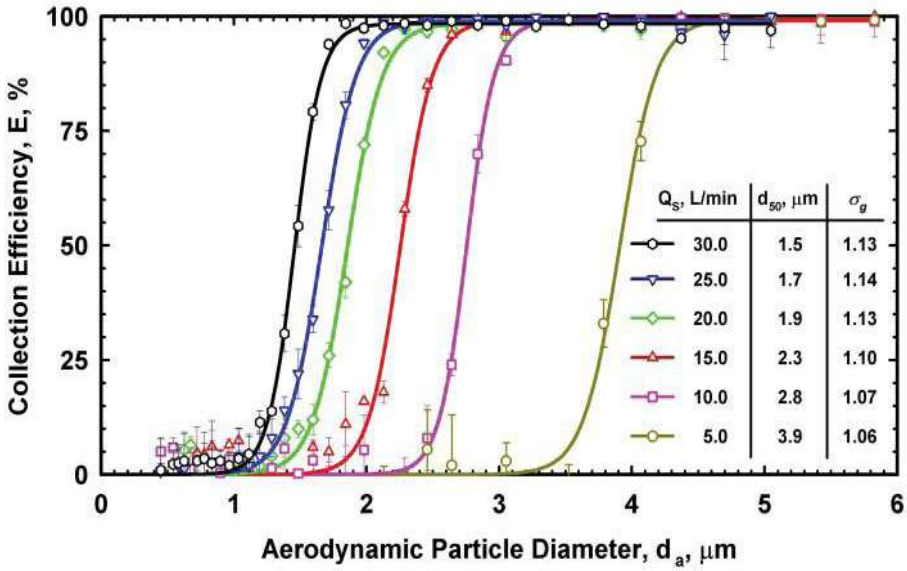
۲- درپوش ورودی و خروجی نمونه‌بردار را برداشته و درجایی نگهداری نمایید.

۳- خروجی کاست را به ورودی پمپ متصل نمایید. توجه کنید که می‌توان نمونه‌بردار را به‌طور مستقیم (بدون لوله اتصال) و غیرمستقیم (با لوله رابط) به پمپ متصل نمود. شیوه مستقیم تنها در زمانی قابل کاربرد است که از انواع خاصی از پمپ‌های شرکت سازنده نمونه‌بردار استفاده گردد.

۴- پمپ را روشن نموده و به مدت‌زمان لازم (بر اساس جدول راهنما) نمونه‌برداری نمایید.

۵- پس از اتمام نمونه‌برداری، پمپ را خاموش کرده، نمونه‌بردار را از پمپ یا لوله جدا کرده و ورودی و خروجی آن را با درپوش بپوشانید.

۶- نمونه‌ها (نمونه اصلی، نمونه گرفته‌شده از آلاینده‌های زمینه محیط بیرون، نمونه شاهد) را به آزمایشگاه منتقل نمایید.



شکل ۴-۸: قطر برش ۵۰ درصد برای *versatrap* در دبی‌های مختلف

۴-۹- روش فیلتراسیون

نمونه‌برداری از ذرات معلق غیر بیولوژیکی عموماً با استفاده از فیلتراسیون انجام می‌گیرد. فیلترها به دو شکل غشایی و لیفی وجود دارند. پور سایز فیلترها عموماً بین ۰/۰۱ تا ۱۰ میکرومتر بوده و راندمان نمونه‌برداری آن‌ها به سرعت در دهانه فیلتر بستگی دارد. برای ذرات زیر ۱ میکرومتر با افزایش سرعت دهانه راندمان به دام اندازی در فیلترها کاهش پیدا می‌کند. راندمان کلی فیلترهای غشایی برای ذرات بزرگ‌تر از اندازه پور سایز فیلتر در حدود ۱۰۰ درصد می‌باشد. از تکنیک فیلتراسیون جهت نمونه‌برداری و جمع‌آوری گونه‌های خاصی از قارچ‌ها، باکتری‌های تشکیل‌دهنده اندوسپور، که به کاهش رطوبت مقاوم باشند، استفاده می‌شود. برای نمونه‌برداری از اسپور قارچ‌ها نیز به‌راحتی می‌توان از

فیلتراسیون استفاده کرد. ارگانیسم‌های نمونه‌برداری شده سپس از روی فیلتر شسته شده (فیلترهایی با سطح صاف مانند پلی‌کربنات)، فرآیندهای آماده‌سازی و آنالیز روی محلول به‌دست‌آمده انجام می‌گیرد. عموماً در مواردی که باید میکروارگانیسم برای تعیین مقدار از روی سطح فیلتر شسته شود، باید از فیلترهای با سطح صاف مثل تفلون استفاده کرد. برای کشت میکروارگانیسم می‌توان میکروارگانیسم‌های نمونه‌برداری شده بر روی هر فیلتر را با محلول ۰/۰۲ درصد توئین ۲۰، در یک محلول آبی شستشو داد. توصیه می‌گردد فرآیند شستشو به‌صورت سه مرتبه و هر مرتبه با ۲ میلی‌لیتر از این محلول انجام گیرد. در حین هر مرتبه شستشو ظرف حاوی فیلتر باید هم زده شود. پس از استخراج میکروارگانیسم‌های نمونه‌برداری شده از روی فیلتر، مقداری از محلول را برداشته و با سه نسبت ۱ به ده، یک‌به‌صد و یک به هزار رقیق‌سازی نمایید. سپس از هر محلول ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته شده و برای هرکدام در دو پتری دیش با قطر ۱۰۰ میلی‌متر و ارتفاع ۱۵ میلی‌متر که حاوی مدیای رشد مناسب است کشت داده شود. برای تعیین مقدار میکروارگانیسم‌های باقی‌مانده بر روی فیلتر حتی پس از عمل شستشو، می‌توان فیلتر را روی یک بستر کشت در یک پتری دیش کشت داد و سپس نتایج را قرائت نمود.

از آنجا که در نمونه‌برداری‌های انجام‌شده مقدار آلودگی و بار نمونه‌برداری شده اسپورهای قارچی به‌خوبی مشخص نیست، استفاده از روش رقیق‌سازی متوالی می‌تواند درصورتی‌که نمونه حاوی مقادیر بسیار بالایی از این اسپورها بوده، کمک‌کننده باشد. یکی از نقاط ضعف روش رقیق‌سازی مکرر این است که میکروارگانیسم‌هایی که در غلظت‌های بسیار پایین در نمونه وجود دارند ممکن است از لحاظ آماری در نتایج حذف گردند.

Button Sampler –۱۰–۴

نمونه‌بردار Button یک نمونه‌بردار مبتنی بر برخورد بوده که با استفاده از فیلتر برای نمونه‌برداری از ذرات معلق قابل‌تنفس به کار می‌رود (شکل ۴-۹). رویه ورودی این نمونه‌بردار به شکل گنبدی و انحنادار با حفرات ریز و متعدد بوده که با هدف بهبود ویژگی‌های نمونه‌بردار در جمع‌آوری ذرات با قطر آیرودینامیک زیر ۱۰۰ میکرومتر طراحی

گردیده است. از این نمونه‌بردار علاوه بر نمونه‌برداری از غبارات آلی و معدنی، برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های قابل‌کشت و غیرقابل کشت نیز استفاده می‌گردد. طراحی خاص رویه ورودی این دستگاه باعث کم کردن اثر نیروهای الکترواستاتیک و سرعت جریان هوا و باد در محیط، بر روی نتایج نمونه‌برداری می‌گردد. نزدیک بودن فیلتر مورداستفاده در کاست به رویه ورودی در این نمونه‌بردار باعث کاهش افت ورودی و همچنین توزیع یکنواخت نمونه در سطح فیلتر و کاهش تغییرات بین نمونه‌ها می‌گردد. بکاربردن این نمونه‌بردار برای ذرات قابل‌تنفس در دبی ۴ لیتر بر دقیقه، عملکرد آن را مطابق با استاندارد ACGIH/ISO می‌سازد. از این نمونه‌بردار برای نمونه‌برداری باکتری‌ها و قارچ‌های قابل‌کشت و غیرقابل کشت با استفاده از فیلترهای PVC[1] یا MCE[2] می‌توان استفاده کرد. هر چند استفاده از فیلترهای ژلاتینی می‌تواند به زنده ماندن میکروارگانیسم‌های حساس به استرس در طی نمونه‌برداری‌های کوتاه‌مدت کمک نماید.

شکل ۴-۹: نمونه‌بردار Button

1- Poly-vinyl chloride Filters
2- Mixed Cellulose Esters (MCE) Membrane Filters

۴-۱۱- نمونه‌برداری در مایع

۴-۱۱-۱- نمونه‌بردار Biosampler

با آنکه هنوز روش استانداردشده و مطمئنی برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها وجود ندارد، پاره‌ای از شرکت‌ها مانند SKC، نمونه‌بردارهای خاصی را بدین منظور طراحی نموده‌اند. نمونه‌بردار Biosampler شرکت SKC، با به دام اندازی ذرات در مایع جهت نمونه‌برداری ۸ ساعته آن‌ها قابل کاربرد می‌باشد. این نمونه‌بردار در نمونه‌برداری از میکروارگانیسم‌های قابل‌کشت بسیار مؤثر می‌باشد (شکل ۵-۱۰). طراحی داخلی Biosampler به‌گونه‌ای است که بسیاری از مشکلاتی که هنگام به کار بردن ایمپینجرها برای بیوآئروسل‌ها وجود داشت در آن حذف گردیده است. ورودی نمونه‌بردار Biosampler به‌گونه‌ای طراحی گردیده است که تنها ذراتی وارد آن خواهند شد که توانایی عبور از بینی انسان را داشته باشند. از این نمونه‌بردار می‌توان با مایعاتی که ویسکوزیته نسبتاً بالاتری از آب دارند مانند ViaTrap (مایعی روغنی که برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها استفاده می‌گردد) استفاده نمود. هنگام استفاده از ViaTrap برای نمونه‌برداری در Biosampler می‌توان بدون نگرانی از تغییر راندمان جمع‌آوری در طول ۸ ساعت از این دستگاه استفاده نمود. توجه شود که اگر هدف نهایی از نمونه‌برداری، تجزیه با استفاده از PCR[1] باشد، استفاده از مایع روغنی ViaTrap مناسب نبوده و استفاده از آب استریل مناسب است.

این نمونه‌بردار باید با استفاده از پمپی که قادر باشد فشاری در حدود ۱۵ اینچ جیوه را در پایین‌دست ایجاد نماید به کار گرفته شود. این نمونه‌بردار در قسمت داخلی خود سه لوله دارد که هر کدام نقش یک اورفیس بحرانی را بازی کرده و دبی ۴/۲ لیتر بر دقیقه از آن مکش می‌گردد (دبی کل ۱۲/۵ لیتر بر دقیقه).

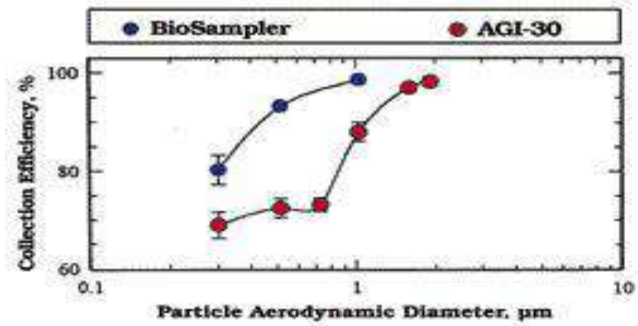
1- polymerase chain reaction analysis

شکل ۴-۱۰: نمونه‌بردار Biosampler

نمونه‌های جمع‌آوری گردیده با استفاده از Biosampler را می‌توان با روش‌های متعددی تجزیه نمود:

- کشت باکتری و قارچ
- آنالیز میکروسکوپی
- ارزیابی‌های بیوشیمیایی
- ایمونو اسی
- PCR

استفاده از Biosampler به‌جای ایمپینجر مزایای متعددی دارد که در زیر به مواردی از آن اشاره شده است. به‌طور کلی استفاده از Biosampler در مقایسه با ایمپینجر دارای راندمان فیزیکی و بیولوژیکی بالاتری می‌باشد (شکل ۴-۱۱)



شکل ۴-۱۱: راندمان Biosampler در قطر آیرودینامیکی متفاوت

۴-۱۱-۲- راندمان بالاتر نمونه‌برداری در مدت زمان طولانی نمونه‌برداری در مقایسه با ایمپینجر

استفاده از روغن‌های معدنی مانند ویاترپ در Biosampler باعث می‌گردد که به علت ویسکوزیته بیشتر این مایع، کمتر تبخیر گردیده و بنابراین بتوان نمونه‌برداری را در مدت‌زمان طولانی‌تری (۸ ساعت) انجام داد. در ایمپینجرهای معمولی که از آب استفاده می‌نمایند، مدت‌زمان نمونه‌برداری معمولاً در حدود ۱ تا ۱/۵ ساعت محدود می‌باشد. مدت‌زمان طولانی‌تر نمونه‌برداری در biosampler این امکان را ایجاد می‌نماید که در غلظت‌های پایین بیوآئروسل هوا با افزایش حجم هوای نمونه‌برداری شده به حد تشخیص مناسب برسد.

۴-۱۱-۳- شناوری کمتر ذرات

زاویه خروجی نازل‌های biosampler به‌گونه‌ای است که شناوری، به هم چسبیدن و صدمه دیدن میکروارگانیسم‌های به دام افتاده در این سیستم‌ها به حداقل می‌رسد. در ایمپینجرهای معمولی این خروجی‌ها به‌گونه‌ای است که با برخورد به سطح پایینی محفظه ایمپینجر تنش زیادی به میکروارگانیسم وارد شده و قابلیت کشت‌پذیری کاهش پیدا می‌کند.

۴-۱۱-۴- کاهش برگشت مجدد ذرات در هوای خروجی از نمونه‌بردار

ایجاد جریان گرداب مانند در Biosampler باعث می‌گردد که ذرات به دام افتاده در مایع بمانند درحالی‌که در ایمپینجرهای معمولی این ذرات به‌صورت حباب درآمده و ممکن است دوباره به جریان خروجی هوا برگردند.

۴-۱۱-۵- تجزیه نمونه‌ها

تجزیه نمونه‌ها نیز همواره باید به‌عنوان بخشی از یک برنامه ارزیابی مواجهه با میکروارگانیسم‌ها در محیط کار یا محیط زندگی موردتوجه قرار گیرد. روش‌های سنتی شامل مشاهده زیر میکروسکوپ و کشت دادن، ازجمله معمول‌ترین روش‌های مورداستفاده

در این حیطه می‌باشند. با این حال عدم توانایی روش‌های کلاسیک در تفرق میکروارگانیسم‌ها و سایر مشکلات آن‌ها باعث شده است تا تکنیک‌های بیوشیمیایی، ایمونولوژیکی و مولکولی به این حیطه وارد گردند.

۴-۱۲- میکروسکوپ

پس از نمونه‌برداری بر روی مدیای مناسب (فیلتر، نوار، اسلاید شیشه‌ای) می‌توان میکروارگانیسم‌های نمونه‌برداری شده را در زیر میکروسکوپ مشاهده نمود. هر چند با استفاده از این روش، نمی‌توان میکروارگانیسم‌های زنده و قابل‌کشت را از گونه‌های غیرقابل کشت جدا نمود. دانه‌های گرده گیاهان و اسپور قارچ‌ها را به‌راحتی می‌توان در زیر میکروسکوپ نوری به‌خوبی شمارش کرد. گرده گیاهان را در زیر میکروسکوپ نوری می‌توان به‌راحتی از سایر ذرات افتراق داد و شمارش نمود. هر چند در مورد اسپور قارچ‌ها استفاده از میکروسکوپ نوری ممکن نمی‌باشد. بیوآئروسل‌های باکتریایی نیز جدای از اندازه‌شان تنها در صورتی در زیر میکروسکوپ نوری قابل‌شمارش هستند که رنگ‌آمیزی گردند. به‌طور کلی در مواردی که ذره موردنظر (ذره بیولوژیکی) دارای ماده بیولوژیک باشد می‌توان با رنگ‌آمیزی فلورسنت، آن‌ها را زیر میکروسکوپ فلورسنت مشاهده و شمارش کرد. در مورد پاره‌ای دیگر از میکروارگانیسم‌ها مانند لژیونلا می‌توان با استفاده از نشان‌دار کردن آن‌ها با رنگ‌های آنتی‌بادی شمارش را انجام داد.

۴-۱۳- روش‌های مبتنی بر کشت

در این روش‌ها باکتری یا قارچ بر روی صفحات نوترینت آگار نمونه‌برداری و یا از مایع یا فیلتری که بر روی آن نمونه‌برداری شده‌اند به روی صفحات مغذی انتقال می‌یابند. در هنگامی‌که این‌گونه آنالیز موردنظر باشد باید شرایط اینکوباسیون و نوع ماده مغذی مناسبی جهت این امر اختصاص یابد. به‌طور ایده‌آل ماده مغذی مورداستفاده باید به‌گونه‌ای انتخاب گردد که تمامی بیوآئروسل‌های قابل‌کشت، در آن قابل رشد باشند. هر چند معمولاً در

شرایط واقعی نمی‌توان این‌گونه محیط کشت را یافت، زیرا هرکدام از میکروارگانیسم‌ها به مشخصات محیط غذایی خاصی نیازمند می‌باشند. با استفاده از این روش نمی‌توان تعداد دقیق باکتری یا قارچ نمونه‌برداری شده در هوا را تعیین مقدار کرد چون کلنی‌های تشکیل‌شده شامل چندین عدد میکروارگانیسم بوده که به‌صورت توده در کنار هم قرار گرفته‌اند. نتایج این روش را معمولاً به‌صورت CFU/m^3 برای قارچ‌ها و باکتری‌ها و PFU/m^3[1] برای ویروس‌ها گزارش می‌نمایند. فاکتورهایی مانند مدت‌زمان نمونه‌برداری، محیط کشت انتخاب‌شده، دمای کشت و مدت‌زمان کشت، از فاکتورهایی هستند که بر روی نتایج به‌دست‌آمده از این روش تأثیر می‌گذارند.

۴-۱۴- انتخاب وسیله

هیچ‌کدام از وسایل کنونی نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها را نمی‌توان به‌عنوان روش رفرانس و استاندارد برای ارزیابی بیوآئروسل‌ها پیشنهاد داد. به‌طور کلی انتخاب وسیله مناسب برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها به نوع بیوآئروسل موردنظر برای نمونه‌برداری و غلظت آن‌ها در محیطی که قرار است از آن نمونه‌برداری انجام شود بستگی دارد. به‌طور مثال اگر هدف از نمونه‌برداری تعیین غلظت آلرژن‌ها می‌باشد، در این شرایط توجه و تمرکز بر روی میکروارگانیسم‌های قابل‌کشت مهم نبوده و درواقع باید تمام میکروارگانیسم‌ها و بیوآئروسل‌های موجود در هوا ارزیابی گردند. از طرفی دیگر در شرایطی که نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های قابل‌کشت مهم باشد، باید در انتخاب وسایل نمونه‌برداری و نیرویی که هرکدام از روش‌های نمونه‌برداری به اجزاء نمونه‌برداری شده وارد می‌کنند توجه گردد. چون همان‌گونه که در فوق بیان شده، اعمال نیروی زیاد در طی نمونه‌برداری به ذرات بیوآئروسل باعث کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های زنده و قابل‌کشت خواهد شد.

9- plaque forming units per cubic meter

۴-۱۵- زمان نمونه‌برداری

یکی از مهم‌ترین گام‌ها در تعیین استراتژی نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها تعیین زمان بهینه برای نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌ها می‌باشد. همان‌گونه که در بخش I شکل ۴-۱۲ نشان داده شده است، غلظت بیوآئروسل‌ها در هوا به‌شدت با زمان تغییر می‌کند. به‌طور مثال در شرایطی که در شکل ۴-۱۲ نشان داده شده است، غلظت بیوآئروسل می‌تواند ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ ذره بر مترمکعب هوا متفاوت باشد. میانگین غلظت در بازه زمانی اندازه‌گیری شده در این مثال ۱۰۰۰ خواهد بود. این مقدار در محیط‌های بیرون کاملاً معمول بوده و در بسیاری از محیط‌های داخل نیز ممکن است وجود داشته باشد. مسئله‌ای که در این مورد وجود دارد این است که نمونه‌برداری‌ها همواره باید به حدی طولانی باشد که بتواند این تغییرات را پوشش داده و در نهایت با میانگین‌گیری از آن‌ها بتوان به عدد صحیحی در مورد غلظت دست یافت. از آنجا که پدیده بالا و پایین رفتن غلظت میکروارگانیسم‌ها در هوا بسیار شایع بوده و سریع رخ می‌دهد (گاهاً در عرض چند دقیقه) توجه به زمان نمونه‌برداری بسیار مهم می‌باشد. بخش II شکل ۴-۱۲ نشان می‌دهد که با نمونه‌گیری حجم مشخصی از هوا (V) در بازه زمانی T دقیقه می‌توان پراکندگی در غلظت را نمونه‌برداری کرد. در چنین شرایطی تعداد کل ذره میکروارگانیسم نمونه‌برداری شده را به‌صورت زیر می‌توان محاسبه کرد:

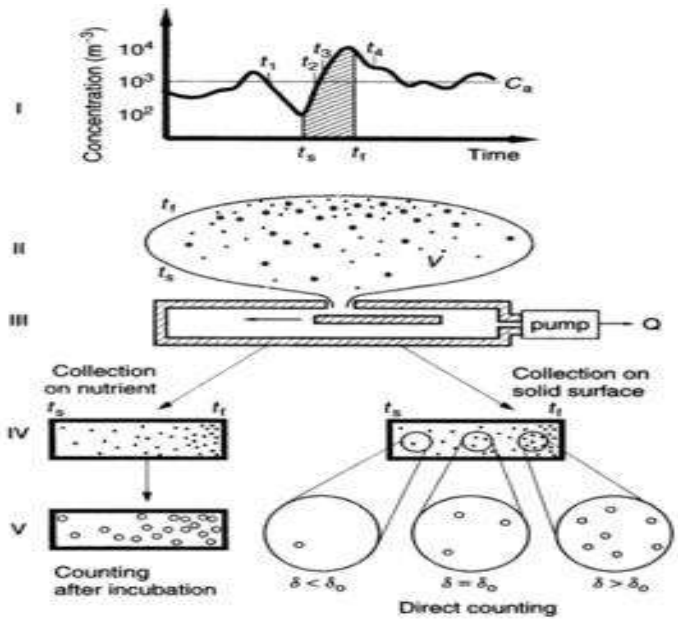
رابطه (۴-۱) $N = C \times Q \times t$

که در رابطه فوق:

Q: دبی وسیله نمونه‌برداری (L/min)

C: میانگین غلظت بیوآئروسل (غلظت عددی) (m^{-3})

T: مدت‌زمان نمونه‌برداری (min)



شکل ۴-۱۲: دانسیته سطحی بیوآئروسل‌های نمونه‌برداری شده در مدت‌زمان t

۴-۱۶- دانسیته سطحی ذرات بیوآئروسل نمونه‌برداری شده

در بخش IV شکل ۴-۱۲ ذرات نمونه‌برداری شده بر روی یک مدیا (به‌طور مثال سطح حاوی آگار که در طی نمونه‌برداری با سرعت خاصی به سمت چپ حرکت می‌کرده است) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در زمان‌های مختلف در واحد سطح وسیله نمونه‌برداری تعداد متفاوتی ذره نمونه‌برداری گردیده است. تعداد ذره در واحد سطح موردبررسی را دانسیته سطحی نمونه می‌گویند. بر این اساس دانسیته سطحی یک نمونه را می‌توان به‌صورت زیر تعریف کرد:

$$\delta=N/A=CQt/A$$ رابطه (۴-۲)

بخش V در شکل ۴-۱۲ نیز فرآیند و مرحله آنالیز نمونه را نشان داده است. نکته‌ای که در این شکل به آن پرداخته شده این است که دانسیته سطحی مناسب ذرات بر روی مدیای نمونه‌برداری باعث آسانی آنالیز نمونه‌ها و به دست آوردن جواب دقیق‌تر خواهد گردید.

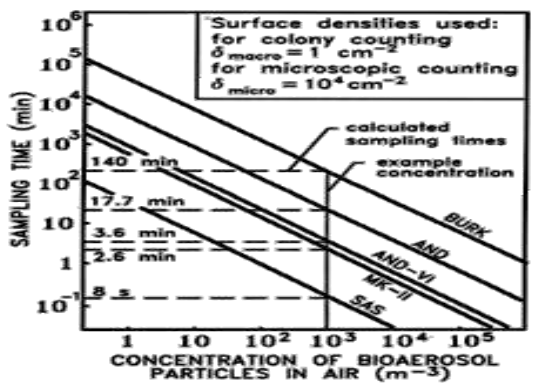
همان‌گونه که در شکل مشاهده می‌گردد دانسیته سطحی پایین نمونه باعث می‌شود تا در اندازه‌گیری خطا داشته باشیم و مقدار واقعی بیوآئروسل‌ها را نتوان ارزیابی نمود. از طرفی دانسیته سطحی بالا نیز با تأثیر بر روی قابلیت شمارش ذرات و در مواردی تداخل در رشد و تشکیل کلنی‌ها (به‌ویژه در مورد قارچ‌ها) می‌تواند باعث خطا در ارزیابی ذرات گردد.

۴-۱۷- زمان بهینه برای نمونه‌برداری

همان‌گونه که از مطالب فوق و نمودار شکل ۴-۱۳ می‌توان دید، دانسیته سطحی به‌طور مستقیم به زمان نمونه‌برداری بستگی دارد. بنابراین انتخاب زمان نمونه‌برداری مناسب برای رسیدن به دانسیته سطحی بهینه ضروری می‌باشد. با بازنویسی رابطه ۴-۲ و در نظر گرفتن دانسیته سطحی بهینه برای هر ابزار نمونه‌برداری و پیش‌بینی حدود غلظت در هر منطقه نمونه‌برداری می‌توان زمان مناسب را به دست آورد. بر این اساس رابطه ۴-۲ را به‌صورت زیر می‌توان بازنویسی کرد.

$$t = \frac{\delta}{c_a}\frac{A}{Q}$$ رابطه (۴-۳)

که در این رابطه t بیانگر مدت‌زمان نمونه‌برداری لازم برای رسیدن به دانسیته سطحیδ می‌باشد.



شکل ۴-۱۳: زمان‌های جمع‌آوری برای نمونه بردارهای بیوآئروسل انتخابی.

اقتباس شده از مقاله *Nevalainen et al.(1992)*

مثال:

از نمونه‌بردار SAS جهت جمع‌آوری بیوآئروسل‌ها در محیطی که به نظر می‌رسد بار آلودگی در آن در حدود ۵۰۰ ذره در مترمکعب است استفاده شده است. میکروبیولوژیستی که قرار است نمونه را آنالیز کند ترجیح می‌دهد که در حدود ۵۰ کلنی را در روی ظرف ۵۵ میلی‌متری نمونه‌برداری مشاهده نماید. نمونه‌بردار SAS دارای ۲۱۹ روزنه عبور هوا قبل از برخورد هوا به بستر جمع‌آوری بوده و دبی آن ۱۸۰ لیتر بر دقیقه می‌باشد. با توجه به داده‌های فوق، زمان بهینه نمونه‌برداری را محاسبه نمایید.

پاسخ:

بر اساس مشخصات دستگاه SAS-180، کل سطح جت‌های خروج هوا در این مدل دستگاه ۲۳/۸ سانتی‌متر مربع است. بنابراین دانسیته سطحی برای شمارش کلنی را به‌صورت زیر می‌توان محاسبه کرد:

$$\delta=N/A=50/23.8=2.1$$

بنابراین برای محاسبه مدت‌زمان بهینه برای نمونه‌برداری می‌توان از رابطه زیر استفاده نمود:

$$t=(2.1\times23.8)/(500\times180\times0.001)=0.55\ min=33s$$

بر این اساس، مدت‌زمان نمونه‌برداری ۳۳ ثانیه پیشنهاد می‌گردد. هر چند این مدت نمونه‌برداری با توجه به ماهیت متغیر غلظت بیوآئروسل‌ها بسیار کوتاه می‌باشد، بنابراین اخذ چندین نمونه در زمان‌های مختلف پیشنهاد می‌گردد.

مثال:

از شما درخواست شده است تا در طی عملیات تمیز سازی روزانه یک اطاق ریکاوری در بیمارستان، از بیوآئروسل‌ها نمونه‌برداری نمایید. گزارش‌های قبلی از این بیمارستان نشان داده است که غلظت تقریبی بیوآئروسل‌ها در این منطقه در حدود ۱۰۰ CFU بر مترمکعب

می‌باشد. شما کدام‌یک از نمونه‌بردارها را برای نمونه‌برداری به مدت ۲۰ دقیقه در این شرایط پیشنهاد می‌کنید.

پاسخ:

بر اساس نمودار شکل ۴-۱۳ می‌توان به‌صورت زیر نمونه‌بردار را انتخاب نمود:

با انتخاب عدد ۱۰۰ بر روی محور x و سپس عمود کردن آن بر خط متناظر با ۲۰ دقیقه می‌توان دریافت که نمونه‌بردار mk-2 و اندرسون ۶ مرحله‌ای برای این هدف و دانسیته سطحی بر سانتی مترمربع کفایت می‌کند.

فصل پنجم:معرفی استانداردهای موجود در مواجهه با بیوآئروسل‌ها

۵-۱- شرایط کنونی حدود مجاز مواجهه با بیوآئروسل‌ها

به نظر می‌رسد تا به امروز هیچ‌گونه استاندارد شغلی برای مواجهه با بیوآئروسل‌ها وجود نداشته باشد. این عبارت در مستندات منتشرشده در کشورهای مختلف از جمله ایالات متحده آمریکا، کانادا، انگلستان و هلند گزارش گردیده است. به طور مثال سازمان HSE[1] انگلستان بیان کرده است که:

«در حال حاضر هیچ کشوری حد مجاز مواجهه برای بیوآئروسل‌ها و یا سموم ناشی از آن‌ها را ندارند.»

IRSST[2] کانادا نیز بیان کرده است که:

«هیچ‌گونه استانداردی در ایالات متحده و کانادا در زمینه مواجهه با بیوآئروسل‌ها وجود ندارد.»

هر چند دلایل متعددی برای فقدان این استانداردها وجود دارد که IRSST به آن‌ها اشاره کرده است:

- رابطه دوز پاسخ بین مواجهه با بیوآئروسل‌ها و عوارض ناشی از آن‌ها به‌خوبی شناسایی نشده است. داده‌هایی که اکنون وجود دارند بر اساس ارزیابی‌های محیطی و نتایج انسانی بوده که مستعد بودن افراد در این زمینه بسیار مهم است.

1- Health and Safety Executive

2- Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en Sécurité du travail

- در بسیاری از موارد، گزارش‌های موجود مربوط به مواجهه با گونه خاصی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد درحالی‌که در محیط گونه‌های بسیار متعددی وجود دارند. از طرفی اثر مواجهه هم‌زمان با چند بیوآئروسل مثلاً قارچ‌ها و مایکوتوکسین‌ها در بسیاری از مطالعات در نظر گرفته نشده است.
- انجام مطالعات اپیدمیولوژیک مناسب با هدف ارزیابی مواجهه و ارزیابی اثرات به‌طور خاص در زمینه بیوآئروسل‌ها بر روی تعداد زیادی کارگر سخت می‌باشد.
- ترکیب و غلظت بیوآئروسل‌ها در هوا به‌شدت ناپایدار و متغیر است و با شرایط مختلف هوا تغییر می‌کند. بنابراین غلظت زمینه آن‌ها دائماً در حال تغییر است.
- داده‌های موجود بر اساس نمونه‌برداری‌های محیطی، کوتاه‌مدت بوده و کمتر داده‌ای در مورد دوزهای تجمعی آن‌ها موجود است.
- روشی وجود ندارد که تمام بیوآئروسل‌ها در آن به‌خوبی نمونه‌برداری شوند.

سازمان ACGIH نیز در سال ۱۹۹۹ هنگام حذف تنها عدد ارائه‌شده در این زمینه از کتابچه حدود مجاز مواجهه ارائه‌شده توسط این سازمان، دلایل زیر را ذکر کرده است[1] :

- محدودیت وجود روش نمونه‌برداری از تمام بیوآئروسل‌ها
- داده‌های ناکافی درزمینه رابطه دوز پاسخ بین مواجهه با بیوآئروسل‌ها و اثرات تحریکی، آلرژیک یا سمی
- دامنه وسیع استعداد فردی در پاسخ‌های فیزیولوژیک به مواجهه با بیوآئروسل‌ها

هلند یکی از کشورهایی است که تاکنون در این زمینه پیشتاز بوده و به‌طور خاص بر روی اندوتوکسین‌ها تلاش بسیاری را انجام داده است. بااین‌حال همه این‌ها تاکنون به نام Recommended a Health Based Occupational Exposure Limit مطرح بوده است. کمیته مربوط به تدوین حدود مجاز مواجهه شغلی در کشور هلند در نامه‌ای رسمی نیز بیان می‌کند که:

1 - ACGIH. Bioaerosols; Assessment and Control. ACGIH Press, Cincinnatti 1999.

«کمیته قادر نبوده تا هیچ‌گونه مقدار مجاز مواجهه‌ای را برای عوامل بیولوژیک بیماری‌زا بر اساس عوارض بهداشتی تدوین نماید.»

البته همین کمیته در پایان گزارش خود به وزارت بهداشت هلند بیان می‌نماید که تدوین چنین استانداردهایی به‌ویژه برای مواد با خطر بالا، شدنی می‌باشد. البته در ادامه بیان می‌گردد که این امر در آینده نزدیک شدنی نیست (شکل ۵-۱).

In summary

The Committee concludes that it is possible to derive health-based recommended occupational exposure limits for biological agents giving rise to toxic and/or allergic effects. It recommends that the existing procedures for toxic and allergenic chemical substances should be followed, with the necessary changes, for these agents. The Committee does not believe that it will be possible in the short term to determine health-based recommended occupational exposure limits for biological agents that mainly give rise to infectious diseases. The Committee recommends a preventive approach to these agents, and stresses the importance of knowledge development and implementation in this field.

I hope the above provides you with the information you require.

Yours sincerely,

(signed)
Professor W.A. van Gool,
President

شکل ۵-۱: بیانیه کمیته هلندی بررسی حد مجاز مواجهه با بیوآئروسل

نکته:

بر اساس نکات ذکرشده در فوق می‌توان دریافت که استاندارد جامعی برای بیوآئروسل‌ها وجود ندارد و اگر عددی هم در این زمینه ارائه می‌گردد به‌عنوان یک راهنما در ارزیابی ریسک میکروبی بوده و کاربرد آن در حد پیشنهاد جهت انتخاب روش نمونه‌برداری و تجزیه و به‌عنوان یک نقطه شروع در ارزیابی‌ها خواهد بود. هر چند سازمان‌ها و محققین در نقاط مختلف به‌طور پراکنده در این زمینه مشغول فعالیت می‌باشند.

جدول ۵-۱ که اقتباسی از یکی از مستندات HSE انگلستان می‌باشد، نمونه‌ای از این فعالیت‌ها را نشان داده است.

بااین‌حال، در این زمینه باید مرتب رفرانس‌ها را چک کرد. به‌طور مثال از ACGIH ۱۹۹۹ دیگر عددی در این زمینه ارائه نمی‌دهد؛ و شرایط ارائه و یا عدم ارائه استاندارد در مورد این عوامل، متغیر می‌باشد.

جدول ۵-۱: خلاصه حد مجاز مواجهه پیشنهادی برای مواجهه با بیوآئروسل‌های محیط کار و محیط بیرون

Suggested values	Bacteria cfu/m³	Gram negative bacteria cfu/m³	Fungi cfu/m³	Actinomycetes cfu/m³	Total micro-organisms	Reference
Threshold values	1,000	1,000				Rylander *et al* 1980, 1983
Suggested OELs in scandinavia		1,000	10^5			Rylander *et al* 1994
Threshold values			5,000			Peterson & Vikstrom 1984
OEL		1,000			5,000-10,000	Makros 1992
OEL		2×10^4		2×10^4	1×10^4	Dutkiewitz & Jablonski 1989
Health based-number which can cause sensitssation				10^8		Malmberg 1991
Increased risk of EAA and ODTS					$>10^6$	Lacey *et al* 1990
Threshold values		1,000				Lacey *et al* 1992
Suggested OEL (biotechnology)		300				Palchak 1990
Suggested OEL 8 hr average	5-10,000	1,000				Sigsgaard 1990
Health based OEL*		2×10^4	5×10^4	2×10^4	1×10^5	Dutkiewitz 1997
Number of spores necessary for development of acute symptoms					10^8	Miller 1992
Recommended maximum for residences, schools and offices	<4500			<10 in winter	<500 in winter <2500 in summer	Finnish Ministry of Social Affaires and Health 1997
Provisional Dutch guideline for indoor air in the work environment	10,000					Dutch Occupational Health Association NWA1989
Suggested OEL in scandinavia		Toxic pneumonitis 10^5 Respiratory inflam 10^2	Toxic pneumon 10^7 Respirator y inflam 10^5			Rytander 1994

* *OEL Health based when continuous exposure to micro-organisms concentrations above 10^5 cfu/m³ occurs work-related respiratory disorders in workers are very common.*

۵-۲- سایر تلاش‌ها

- ✓ در روسیه حدود مجاز مواجهه قانونی برای گروهی از بیوآئروسل‌ها شامل قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها در حد ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ اسپور در مترمکعب تدوین گردیده است. هر چند در منبعی در مورد زمینه علمی استانداردهای روسیه برای عوامل بیولوژیک این عبارت ذکر شده است:

«مستندات علمی مربوط به این استانداردها (استانداردهای عوامل بیولوژیک روسیه) به‌سختی می‌تواند یافت شود.»

- ✓ اتحادیه اروپا راهنمای 2000/54/EC را در این زمینه انتشار داده است که به ارزیابی ریسک عوامل عفونی و غیر عفونی می‌پردازد، بااین‌حال هیچ‌گونه حد مجاز مواجهه‌ای را در این زمینه ارائه نداده است.
- ✓ تاکنون مقدار ۱۰۰۰۰۰ اسپور بر مترمکعب برای گونه‌های قارچی غیر مایکوتوکسینی و غیر پاتوژن بر اساس اثرات التهابی ریوی به‌عنوان LOEL[1] پیشنهاد گردیده است. البته برای قارچ‌ها در هوای داخل، راهنماهایی وجود دارد که بر مبنای اثرات بهداشتی تدوین نگردیده‌اند.
- ✓ کشورهای اسکاندیناوی مقدار ۱۰۰۰۰ cfu/m^3 را برای کل باکتری‌ها و مقدار ۱۰۰۰ سی اف یو بر مترمکعب را جهت باکتری‌های گرم منفی برای ۸ ساعت مواجهه پیوسته در فعالیت‌های مرتبط با محیط[2] ارائه داده‌اند.
- ✓ IRSST مقدار ۱۰۰۰۰ سی اف یو بر مترمکعب باکتری کلی را برای محیط‌های کشاورزی و صنعتی و ۸ ساعت مواجهه را به‌عنوان معیار عمل ارائه نموده است. همچنین IRSST مقدار ۱۰۰۰ سی اف یو بر مترمکعب را برای باکتری‌های گرم منفی برای ۸ ساعت مواجهه پیوسته در محیط‌های کشاورزی و صنعتی، به‌عنوان معیار عمل ارائه داده است. IRSST غلظت اندوتوکسین بیش از ۳۰ برابر زمینه را به‌عنوان معیار اقدام گزارش نموده است.

1- Lowest Observable Effect Level

2- environment-related activities

- ✓ IRSST برای لژیونلا باکتریوم در برج‌های خنک‌کننده مقادیر کمتر از ۱۰۰، بین ۱۰۰ تا ۹۹۹ و بیش از ۱۰۰۰ سی اف یو بر مترمکعب را به‌عنوان سطوح ریسک کم، متوسط و زیاد برای ارزیابی ریسک پیشنهاد کرده است. در جدول ۵-۲ چند نمونه راهنما برای بیوآئروسل‌ها در محیط داخلی ارائه شده است.

جدول ۵-۲: نمونه راهنماهایی برای بیوآئروسل‌ها در محیط‌های داخلی مختلف

Recommendations
Indoor commercial and residential environments: $\leq 300\,CFU \cdot m^{-3}$ of non-toxigenic or non-pathogenic MO[a]; no MO $\geq 50\,CFU \cdot m^{-3}$ except *Cladosporium* = acceptable level $>300\,CFU \cdot m^{-3}$ of MO = unacceptable level, further investigation
Indoor places other than hospitals and clean rooms: • Pathogenic and toxigenic F[b] = unacceptable in indoor air • $>50\,CFU \cdot m^{-3}$ of one fungal species = unacceptable level, further investigation • $\leq 150\,CFU \cdot m^{-3}$ = acceptable level if mixture of fungal species • $\leq 500\,CFU \cdot m^{-3}$ = acceptable level if *Cladosporium* or *Alternaria*
Food industry: Dairy processing plant: milk, cream, yogurt, fresh cheeses: $<150\,CFU \cdot m^{-3}$ of MO and $<50\,CFU \cdot m^{-3}$ of *F* = acceptable level powdered milk: $<250\,CFU \cdot m^{-3}$ of MO and $<100\,CFU \cdot m^{-3}$ of F = acceptable level
Meat processing plant: Range A: $<100\,CFU \cdot m^{-3}$ of MO = excellent Range B: 101–300 $CFU \cdot m^{-3}$ of MO = intermediate range Range C: $>300\,CFU \cdot m^{-3}$ of MO = poor microbial quality of air
Controlled production areas in the food industry[c]: Nonoperational and without production staff: $\leq 25\,CFU \cdot m^{-3}$ of micro-organisms = acceptable level Under normal operating conditions with production staff in the area: $\leq 100\,CFU \cdot m^{-3}$ of micro-organisms = acceptable level

[a] MO = micro-organisms.
[b] F = fungi.
[c] i.e. production of ready-to-eat food.

۵-۳- دسته‌بندی یافته‌ها

با بررسی بیشتر منابع می‌توان استانداردها یا راهنماهای موجود را در سه بخش زیر دسته‌بندی کرد. در ادامه هرکدام از این سه بخش به‌تفصیل بررسی خواهند شد:

- غبارات آلی
- اندوتوکسین
- آنزیم‌ها

۵-۳-۱- غبارات آلی

اگر غبارات با منشأ آلی را نیز در زمره بیوآئروسل‌ها قلمداد کنیم، سازمان‌های مختلف استانداردهایی را برای مواجهه با غبارات پنبه، گندم، آرد، چوب، غبارات آلی و سوبتیلیسین ارائه داده‌اند. این استانداردها بر اساس ماده یا جزء شیمیایی خاصی نبوده و تنها بر اساس مقدار این غبارات در صنعت می‌باشد. تنها مورد استثناء در مورد سوبتیلیسین می‌باشد که با این‌حال به نظر می‌رسد عدد ارائه‌شده از حساسیت جلوگیری نمی‌کند. جدول ۵-۳ نمونه‌ای از این مقادیر را در استانداردهای مختلف گزارش کرده است.

جدول ۵-۳: مقادیر استانداردهای مختلف برای بخشی از بیوآئروسل‌ها

Agent	ACGIH[a], USA[9]	Norway[10]
Raw cotton dust[b]	0.2 mg m^{-3} (<15 μm AED)	0.2 mg m^{-3} (<15 μm)
Grain dust (oat, wheat, barley)	4 mg m^{-3} (total dust)	None
Flour dust	0.5 mg m^{-3} (inhalable dust)	3 mg m^{-3} (inhalable dust)
Wood dust[c]	0.5–1 mg m^{-3} (inhalable dust)	1–2 mg m^{-3} (total dust)
Organic dust	None	5 mg m^{-3} (total dust)
Particulates not otherwise regulated	10 mg m^{-3} (inhalable dust)	10 mg m^{-3} (total dust)
Subtilisin (protease from *Bacillus subtilis*)	60 ng m^{-3} (total dust, STEL[d])	60 ng m^{-3} (total dust)

[a] American Conference of Governmental Industrial Hygienists. [b] Measured stationary with a vertical elutriator. [c] Dependent on species. [d] Short term exposure limit.

۵-۳-۲- اندوتوکسین

غالب این اطلاعات از مستندات ارائه‌شده در Health Council of the Netherlands می‌باشد؛ اولین تلاش‌های بین‌المللی برای تدوین استاندارد اندوتوکسین در سال ۱۹۹۴ توسط ICOH[1] انجام شد. در هلند نیز اولین استاندارد بر اساس ۵ نانوگرم بر مترمکعب یا ۵۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب هوا به‌عنوان MAC[2] مبتنی بر اثرات بهداشتی در محیط‌های شغلی تدوین گردید. هر چند تاکنون به‌صورت قانونی ابلاغ نشده است.

1 - International Commission on Occupational Health
2 Maximum Accepted Concentration

HBROEL[1] مقدار ۹۰ واحد اندوتوکسین که برای مواجهه و جلوگیری از اثرات حاد بوده را جهت پیشگیری از اثرات مزمن نیز پیشنهاد کرده است. هرچند مشاهده شد که ۴۰ سال مواجهه با این مقدار ظرفیت FEV[2] را ۱۲۰ میلی‌لیتر کاهش داده است. بااین‌حال مطالعات نشان داده‌اند که ۱۲۰ میلی‌لیتر کاهش در ظرفیت تنفسی منجر به خطرات قلبی- عروقی و اثرات بهداشتی نمی‌گردد. بنابراین مواجهه به مدت ۴۰ سال با این مقدار اندوتوکسین و عوارض ناشی از آن را نمی‌توان عوارض ناخواسته قلمداد کرد. بر اساس این شواهد، نهایتاً DECOS[3] مقدار فوق (۹۰ واحد اندوتوکسین) را به‌عنوان مقدار مواجهه در شرایط حاد و مزمن برای غبارات Inhalable قلمداد کرد.

۵-۳-۳- آنزیم‌های پروتئینی

بسیاری از مواد مفید مانند آنزیم‌ها حساس کننده پوست یا سیستم تنفسی هستند. مقادیر ارائه‌شده توسط شرکت‌های تولیدکننده مواد بهداشتی یا سازمان‌های درگیر در این زمینه، OEG[4] یا راهنمای مواجهه شغلی نامیده می‌شوند. تنها یک OEL[5] برای آنزیم‌ها وجود دارد که توسط ACGIH ارائه گردیده است که برای سابتیلیسین[6] (آنزیم پروتئولیتیک[7] ایجادشده توسط باسیلوس سوبتیلیس[8]) است. مقدار مجاز ACGIH برای ۱ ساعت نمونه‌برداری از آن برابر با ۶۰ نانوگرم بر مترمکعب گزارش گردیده است. اما در انگلستان در سال ۲۰۰۵ این مقدار برای ۸ ساعت نمونه‌برداری برابر با ۴۰ نانوگرم بر مترمکعب تعیین شده است. به نظر می‌رسد مقدار ۶۰ نانوگرم بر مترمکعب برای این مواد در صنایع شوینده مناسب باشد. البته توصیه می‌گردد مقادیر یک‌سوم تا یک‌دهم ($\frac{1}{3}-\frac{1}{10}$) این مقدار برای مواد آنزیمی که تازه وارد صنعت شده است مناسب‌تر می‌باشد. حتی در صنایع تولید پاک‌کننده، در شرایطی که

1- the Health-Based Recommended Occupational Exposure Limit
2- Forced Expiratory Volume
3- Dutch Expert Committee for Occupational Standards
4- Operational Exposure Guide
5- Occupational Exposure Limit
6- Subtilisin
7- Proteolytic Enzyme
8- Bacillus Subtilis

مواجهه‌ی هم‌زمان با سایر مواد حساس کننده وجود دارد تعدیل کردن مقدار مواجهه به یک‌سوم تا یک‌دهم این مقدار مورد استفاده قرارگرفته است. در صنایع شوینده نشان داده‌شده است که مواجهه هم‌زمان با سورفاکتانت‌ها خطر حساس شدن افراد را افزایش می‌دهد بنابراین بهتر است در شرایط مواجهه هم‌زمان، مقدار مواجهه با این عامل تعدیل شود (البته به نظر نمی‌رسد آنزیم‌های آینده بیشتر از آنزیم‌های قدیم حساسیت‌زا باشند).

هدف از OEGهای تدوین‌شده برای آنزیم‌ها جلوگیری از شرایطی است که عوارض کلینیکی ایجاد کنند بنابراین در غلظت‌های پیشنهادی برای آن‌ها ممکن است حساسیت کمی ایجاد نماید. به‌عبارتی‌دیگر از آنجا که برای حساس کننده‌ها نمی‌توان Drived no-effect level (DNEL) را در نظر گرفت، استانداردهای ارائه‌شده برای آن‌ها بر اساس derived minimal effect level (DMEL) هستند. در صنایع شوینده، برای آنزیم‌های باکتریایی و قارچی مقادیر راهنمای مبتنی بر DMEL برابر با ۶۰ نانوگرم بر مترمکعب هستند.

خود صنایع بهداشتی و پاک‌کننده‌ها در اتحادیه اروپا نیز استانداردهایی در دامنه ۸ تا ۲۰ نانوگرم برای پروتئازها، ۵ تا ۲۰ نانوگرم بر مترمکعب برای لیپازها، ۵ تا ۱۵ برای آمیلازها و ۸ تا ۲۰ برای سلولازها ارائه داده‌اند. در انگلستان مقدار ۴۰ نانوگرم بر مترمکعب برای پروتئازها به‌عنوان مقدار مجاز مواجهه شناخته شده است. این مقادیر نشان می‌دهد که تقریباً با وجود گستردگی آنزیم‌ها تمام آن‌ها اثرات خود را دارند و تمام سازمان‌ها مقدار توصیه‌شده ACGIH در این زمینه را به‌عنوان مقدار اولیه برای شروع تدوین استانداردها و نه تصمیم‌گیری نهایی قبول دارند. مقدار ۱ میلی‌گرم بر مترمکعب نیز به‌عنوان مقدار مجاز مواجهه با غبارات شوینده‌ها از طرف صنایع تدوین گردیده است که در آن از التهاب ریوی جلوگیری گردد.

مقدار ۶۰ نانوگرم بر متر مکعب برای سابتیلیسین خالص توسط ACGIH به‌عنوان مقدار مجاز مواجهه شناخته شده است و توسط بسیاری از کشورها به تصویب رسید است که در جدول ۵-۳ نشان داده شده است. این سطوح ممکن است در آینده تجدید نظر شده و تغییر کنند.

جدول ۵-۳: حدود مجاز مواجهه با سابتیلیسین در سال ۲۰۱۱ کشورهای مختلف

نام کشور	حد تراکم مجاز (نانوگرم بر مترمکعب)	حد زمان مواجهه
آرژانتین	۶۰	Ceiling
استرالیا	۶۰	Peak limitation
بلژیک	۶۰	TWA[1]
کانادا [1]	۶۰	Ceiling
چین	۱۵ ۳۰	TWA STEL[2] (فقط قابل اجرا در صنایع شوینده)
کلمبیا	۶۰	Ceiling
دانمارک	۶۰	Ceiling
فنلاند	۱۵ ۶۰	TWA (۸ ساعته) STEL
ایسلند	۶۰	STEL
اندونزی	۶۰	Ceiling
ایرلند	۶۰	TWA (۸ ساعته) STEL(۱۵ دقیقه)
اسرائیل	۶۰	Ceiling
ایتالیا	۶۰	Ceiling
مالزی	۶۰	Ceiling
مکزیک	۶۰	Ceiling
نیوزلند	۶۰	Ceiling
نیکاراگوئه	۶۰	Ceiling
نروژ	۶۰	Ceiling
پرو	۶۰	Ceiling (نمونه‌برداری با دبی بالا)
پرتغال	۶۰	Ceiling
سنگاپور	۶۰	STEL(۱۵ دقیقه)
آفریقای جنوبی	۶۰	Ceiling
اسپانیا	۶۰	STEL(۱۵ دقیقه)
سوئد	۹۰ (3 glycine unit/m^3) ** ۳۰ (1 glycine unit/m^3)	Occupational Ceiling Limit Occupational Level Limit [2]
سوئیس	۶۰	STEL(۱۵ دقیقه)
انگلستان	۴۰	TWA (بر مبنای ۸ ساعت نمونه‌برداری)
آمریکا (محیط‌کار براساس ACGIH)	۶۰	Ceiling (STEL)
آمریکا (محیط‌کار براساس NIOSH)	۶۰	STEL(میانگین ۶۰ دقیقه)
آمریکا (کالیفرنیا)	۶۰	STEL(میانگین ۶۰ دقیقه)
اروگوئه	۶۰	Ceiling
ونزوئلا	۶۰	TWA

[1] شامل تمام ۱۰ ایالت و ۳ قلمرو

** واحد گلایسین تقریبا معادل ۳۰ نانوگرم سابتیلیسین خالص است.

[2] این حد هنوز در قوانین تعریف نشده است.

1- Time Weighted Average

2- Short Term Exposure Limit

فصل ششم: روش ارزیابی مواجهه شغلی با بیوآئروسل‌ها

پایش بیوآئروسل‌ها، یکی از اهداف بهداشت صنعتی است که به طور سریع حالت اورژانسی پیدا می‌کند. پایش بیوآئروسل‌ها شامل اندازه‌گیری میکروارگانیسم‌های قابل انتقال (قابل کشت و غیرقابل کشت) و غیرقابل انتقال در محیط کار داخلی (مثل محیط‌های صنعتی، دفتر کار و یا محل سکونت) و در محیط کار خارجی (مثل کشاورزی و کیفیت هوای عمومی) است. به طور کلی، اگر بیوآئروسل های محیط کار داخلی مشاهده شوند نیازی به نمونه‌برداری ندارند. پایش بیوآئروسل‌ها در محیط‌های کار، یکی از ابزارهای اصلی بهداشت حرفه‌ای جهت ارزیابی کیفیت داخل محیط کار، شیوع بیماری‌های عفونی، بهداشت کشاورزی و اطاق‌های تمیز است. آلودگی (رشد میکروب‌ها روی کف، دیوار یا سقف‌ها یا سیستم HVAC[1]) باید برطرف گردد. اگر پرسنل بعد از برطرف کردن آلودگی دارای علائمی هستند، ممکن است نمونه‌برداری از هوا نیاز باشد. یک کارشناس بهداشت صنعتی باید مدنظر داشته باشد که نتایج باید با توجه به نتایج اقدامات دیگر از قبیل بررسی‌های اپیدمیولوژیکی، تحقیقات یا موارد ذکر شده توسط پزشک طب کار یا ایمونولوژیست باید تفسیر گردند.

۶-۱- بیوآئروسل‌های داخلی و خارجی

به طور کلی، تراکم میکروفلور (میکروفلور یک سری باکتری‌های مفید هستند که اگر از جای طبیعی‌شان جابه‌جا نشوند نه تنها بیماری‌زا نیستند بلکه مفید هم هستند که این دسته میکروب‌ها درون بدن هستند اما میکرو ارگانیسم میکروب‌های بیماری‌زا بوده که معمولاً از خارج وارد بدن می‌شوند) داخلی در یک محیط کاری بهداشتی، از تراکم خارجی در همان محل کمتر است. نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های پولن و هوای آزاد، اغلب به منظور همکاری با آلرژیست‌ها انجام می‌شود تا به وسیله تعیین نحوه انتشار و غلظت آن‌ها در هوا بتوانند در هر زمان عملکرد مناسبی داشته باشند.

1- Heating, Ventilating and Air Conditioning

نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های خارجی مربوط به محیط کار (مانند تحقیقات کشاورزی و طرح‌های تصفیه فاضلاب) می‌باشند. نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های داخلی، اغلب به محل کار (مثل محیط‌های صنعتی و دفتری) یا محل‌های غیر کاری (مثل ساختمان‌های مسکونی و آموزشی) مربوط است. وقتی که انجام نمونه‌برداری قطعی شد لازم است نمونه‌ها قبل، در طی و بعد از اینکه منطقه نمونه‌برداری مورد استفاده قرار گیرد، تهیه شوند به ویژه وقتی که سیستم‌های گرمایشی، تهویه و تهویه مطبوع کار می‌کنند و زمانی که کار نمی‌کنند باید نمونه تهیه گردد.

۶-۲- بیوآئروسل‌های قابل انتقال و غیر قابل انتقال

میکروارگانیسم های قابل انتقال ممکن است به دو گروه تقسیم شوند: قابل کشت و غیر قابل کشت

۱- میکروارگانیسم های قابل کشت:

میکروارگانیسم‌های قابل کشت، تحت شرایط کنترل شده، تولیدمثل می‌کنند. اطلاعات قابل توجه درباره شرایط محیطی و وسایل کشت میکروارگانیسم‌ها در ادامه گفته شده است.

۲- میکروارگانیسم های غیرقابل کشت:

میکروارگانیسم‌هایی هستند که در شرایط آزمایشگاه تولیدمثل نمی‌کنند (به علت فشارهای داخل سلولی و یا به‌علت این‌که شرایطی مثل درجه حرارت محیط کشت برای رشد مناسب نیست). همان‌طور که ذکر شده نمونه‌برداری از بیوآئروسل‌های قابل انتقال، به معنی جمع‌آوری یک آئروسل و کشت ذرات جمع آوری شده است. فقط میکروارگانیسم های قابل کشت قابل شمردن و تشخیص هستند و می‌توان میزان بیوآئروسل‌ها را برآورد نمود.

میکروارگانیسم‌های غیر قابل کشت، موجودات زنده نیستند در نتیجه قادر به تولیدمثل نیستند. بیوآئروسل، روی سطح چرب شده با یک فیلتر غشایی جمع می‌شود. میکروارگانیسم‌ها با استفاده از میکروسکوپ، تکنیک‌های بیولوژی مولکولی کلاسیک یا تکنیک‌های ایمونوشیمیایی قابل شمردن و تشخیص هستند. وقتی که نمونه مربوط به

باکتری و قارچ می‌باشد، بیوآئروسل، به طور کلی به وسیله گیر انداختن موجود زنده روی سطح یک محلول سول[1] دارای طیف وسیع (آگار)، عبور از میان یک فیلتر غشایی یا تماس دادن به یک مایع ایزو تونیک (آبی) جمع می‌شود. میکروارگانیسم‌هایی که با روش گیر انداختن، روی یک سطح آگار جمع شده‌اند ممکن است بر روی یک صفحه دو رویی کوتاه[2] یا برگردان شده[3] در یک مایع انتخابی یا افتراقی یا در درجه حرارت‌های متفاوت به منظور تشخیص و شمارش آن‌ها تولیدمثل کنند. محتویاتی که درون مایع مستقیماً روی یک آگار پخش می‌شوند، به طور متوالی رقیق می‌شوند یا در مقداری مایع از طریق فیلتر غشایی صاف می‌شوند. فیلتر غشایی سپس روی یک سطح آگار قرار داده می‌شود و تمامی کلنی‌ها ممکن است به صورت دوتایی باشند. میکروارگانیسم‌های قابل کشت توسط میکروسکوپ، تکنیک‌های میکروبیولوژی کلاسیک یا تکنیک‌های بیولوژی مولکولی مانند آنالیز پلی مورفیک، طول خاصی از یک قطعه[4] میکروارگانیسم تشخیص داده شده و طبقه‌بندی می‌شوند. تکنیک‌های میکروبیولوژی کلاسیک شامل مشاهده رشد اجزاء، مورفولوژی سلول یا اسپور، رنگ‌آمیزی ساده و افتراقی، آزمایش بیوشیمی، فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای برای کشت باکتری‌ها می‌باشد.

تکنیک‌های آنالیز که ممکن است برای هر دو نوع میکروارگانیسم‌ها بکار روند اما نه برای تمیز دادن بین آن‌ها، شامل واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) و آزمایش ایمنوسوربنت متصل به آنزیم (ELISA[5]) می‌باشد. این روش‌ها ممکن است جهت تشخیص میکروارگانیسم‌های خاص و نواحی آلوده بکار روند. اگر چه این روش‌ها، به طور کلی تا حدودی کمی هستند تحقیقات فعلی تلاش می‌کنند تا برای به دست آوردن نتایج نیمه کمی و کمی روش‌های جدیدی را کشف و ارائه کنند.

1- solmedium
2- replica-plated
3- transferred
4- Fragment
5- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

۶-۳- اصول جمع آوری بیوآئروسل

اکثر وسایل نمونه‌برداری از آئروسل‌ها جزء تکنیک‌هایی هستند که ذرات را از جریان هوا جدا نموده و آن‌ها را در داخل یا روی یک محیط مایع[۱] که از پیش انتخاب شده است جمع می‌کنند. برخورد، فیلتراسیون و تماس دادن سه تکنیک معمول نمونه‌برداری هستند که جهت جداسازی و جمع‌آوری بیوآئروسل‌ها استفاده می‌شوند.

از برخورد، به منظور جداسازی یک ذره از یک جریان گاز استفاده می‌شود. نمونه‌بردارهایی که از طریق برخورد عمل می‌کنند شامل یک سری نازل‌های مدور یا ریلی و یک چشم معرف هستند. وسایل خوب، دارای انحناء به عنوان قطع کننده یا متوقف کننده‌ی کار هستند. ذرات بزرگ‌تر از اندازه آئرودینامیک بر روی سطح، گیر خواهند افتاد در صورتی که ذرات کوچک‌تر از میان نمونه‌برداری عبور می‌کنند. سرعت زیاد، افت فشار ورودی، افت‌های مؤثر و مفید[۲] و اثر بازگشت[۳] ذره، از ویژگی‌های این وسایل می‌باشند. وقتی که قطر آئرودینامیک بزرگ‌تر از d_{50} باشد کارایی این وسایل در جمع‌آوری، به ۱۰۰٪ می‌رسد. قطر آئرودینامیک تحت عنوان قطر یک ذره کروی فرضی با دانسیته واحد تعریف می‌شود که همان سرعت ته نشینی ذره را دارد. قطر آئرودینامیک توده (MMAD[۴])، توصیفی از توزیع توده است. قطر آئرودینامیکی وسیله شمارش (CMAD[۵])، ابزاری ثابت برای شماره اجزاء در توزیع توده است.

1- Medium
2- Interestage
3- Reentrainment
4- Mass Median Aerodynamic Diameter
5- Count Median Aerodynamic Diameter

فصل هفتم: باکتری‌ها، اندوتوکسین و مشاغل در معرض خطر

۷-۱- منابع بیوآئروسل‌ها در محیط کار

در بسیاری از گروه‌های شغلی احتمال مواجهه کارگران با بیوآئروسل‌ها وجود دارد. شدت مواجهه و خطرات وارد شده به افراد در این محیط‌ها به قدرت تولید و انتشار بیوآئروسل و نوع فعالیت انجام گرفته بستگی دارد. مورد آخر (نحوه انجام کار) برآیندی از تأثیر شیوه انجام کار در پخش کردن آلاینده تولیدشده در محیط کار و همچنین تأثیر مثبت احتمالی کنترل‌های موجود بر روی کاهش غلظت آلاینده‌های منتشرشده می‌باشد. جدول ۷-۱ نمونه‌ای از مشاغل و فعالیت‌هایی که احتمال مواجهه در آن‌ها وجود دارد را ارائه داده است. در یکی از کامل‌ترین بررسی‌هایی که در این زمینه انجام گردیده است، ۱۵۱ گروه شغلی در ۲۲ شاخه اصلی را مستعد مواجهه با این آلاینده‌ها برآورد نموده است.

جدول ۷-۱: مشاغل با احتمال مواجهه با بیوآئروسل‌ها

Working environment(s)	Biological agent(s)	Major adverse health outcome(s)
Recycling plants for paper, glass, synthetic materials, wrapping materials, etc.	Fungi, glucans, actinomycetes, Gram-negative bacteria, endotoxins, viruses	N-ARD[1], ARD[2], infections
Composting plants	Fungi, glucans; actinomycetes and other spore-forming bacteria; microbial enzymes; plant, mammalian, invertebrate proteins	N-ARD, ARD, infections, cancer
Sewage plants	Bacteria, especially Gram-negative bacteria; endotoxins; fungi; glucans; viruses	N-ARD, infections
Food production and packaging	Fungi, glucans; mycotoxins; bacteria; endotoxins; microbial enzymes; plant, mammalian, invertebrate proteins	N-ARD, ARD, cancer
Health care sector	Bacteria, viruses; microbial enzymes; plant, mammalian, invertebrate proteins	ARD, infections
Areas with air-conditioning systems, cooling towers and high humidity (e.g. textile, print industry, paper production)	Fungi, glucans, bacteria, endotoxins	N-ARD, infections, SBS[3]
Archives, museums, libraries	Fungi, bacteria, endotoxins, mycotoxins	ARD, SBS
Agriculture	Fungi, mycotoxins; glucans; actinomycetes and other bacteria; viruses; microbial enzymes; plant, mammalian, invertebrate proteins	N-ARD, ARD, infections, cancer
Forestry	Bacteria; fungi; glucans; viruses; plant, mammalian, invertebrate proteins	N-ARD, infections
Horticulture	Fungi, actinomycetes and other bacteria	ARD, infections
Metal-processing industry (use of metalworking fluids)	Fungi, glucans, bacteria, endotoxins	N-ARD, infections, cancer
Wood-processing industry	Fungi, glucans; Gram-negative bacteria; endotoxins; wood dust; plant, mammalian, invertebrate proteins	N-ARD, ARD, cancer
Building and construction industry	Fungi, actinomycetes and other bacteria, endotoxins	N-ARD, ARD, infections
Veterinary medicine	Bacteria, viruses; fungi; microbial enzymes; plant, mammalian, invertebrate proteins	ARD, infections
Military, aviation workers	Bacteria, viruses	Infections
Biotechnology industry	Fungi, bacteria; microbial enzymes; plant, mammalian, invertebrate proteins	ARD

۷-۲- انواع بیوآئروسل‌ها

۷-۲-۱- باکتری‌ها

باکتری‌ها به تعداد زیاد در انسان و محیط‌زیست وجود دارند. تاکنون بیش از ۱۵۰۰۰۰ گونه از این موجودات تک سلولی شناخته شده است، که توسط تقسیم سلولی ساده تکثیر می‌گردند. آن‌ها قادر به استفاده از مواد مغذی مختلف آلی و غیر آلی هستند. اکثر گونه‌های باکتری موجود در هوا ساپروفیت هستند، به این معنی که آن‌ها انرژی خود را از منابع آلی به‌دست می‌آورند. باکتری‌ها را بر اساس ویژگی‌های سلولی، مورفولوژیکی و یا بیوشیمیایی دسته‌بندی می‌کنند، همچنین بر اساس واکنش خود به رنگ‌آمیزی گرم[1] به دو دسته گرم مثبت و گرم منفی تقسیم می‌شوند. باکتری‌ها نیاز به مقدار زیادی رطوبت در هنگام تقسیم شدن دارند. باکتری‌های گرم منفی دارای دیواره سلولی شکننده‌ای هستند که تحمل کم‌آبی را ندارد و در هنگامی‌که مدت طولانی در هوا معلق بوده یا نمونه‌برداری گردند می‌شکنند. باکتری‌های گرم مثبت دیواره مقاوم‌تری داشته و در برابر شرایط سخت محیطی مقاوم‌تر بوده، و برخی از آن‌ها تولید هاگ می‌کنند که مقاومت آن‌ها را در محیط و شرایط زیست‌محیطی سخت افزایش می‌دهد. این گروه شامل باکتری‌های گرمادوست بوده که در دماهای بالاتر رشد بیشتری داشته و در مسائل مربوط به کیفیت هوا مورد توجه خاص می‌باشد.

در محیط باز، باکتری‌ها به‌طور عمده از آب، خاک و گیاهان می‌آیند و مرتبط با حضور انسان و حیوانات در محیط هستند. باکتری‌ها عمدتاً فلور طبیعی پوست و غشاهای مخاطی انسان‌ها بوده، بنابراین میزان آن‌ها در محیط‌هایی که انسان حضور دارد بیش از محیط بیرون می‌باشند. بعضی از محل‌های کار مانند انبارها، مزارع پرورش گیاهان، زباله و فاضلاب، مواد غذایی گیاهی و آشامیدنی دارای غلظت بالایی از آلودگی باکتریایی در هوای محیط خود می‌باشند. اکثر باکتری‌ها به‌طور طبیعی اثرات سوء بر سلامت ایجاد نمی‌کنند. برخی از باکتری‌ها هستند که حتی برای بدن انسان و محیط‌زیست ضروری هستند و

1- Gram staining

خطرات بهداشتی خاصی ندارند، بنابراین وجود این گونه‌ها زمانی خطرآفرین می‌گردد که غلظت برخی از گونه‌ها به‌صورت غیرطبیعی بالا می‌رود. به‌طور مثال غلظت بالایی از باکتری ترمواکتینومیس‌ها ممکن است پنومونی افزایش حساسیت مانند بیماری ریه کشاورز را ایجاد نمایند.

برخی از باکتری‌ها به‌عنوان عوامل مسئول بیماری‌های عفونی شناخته شده‌اند. خطر مربوط به حضور باکتری لژیونلا، یعنی بیماری لژیونر به‌خوبی شناخته شده است. دو نوع متمایز از لژیونلوز وجود دارد، یعنی بیماری لژیونر که یک پنومونی پیشرفته است و می‌تواند کشنده باشد و تب پونتیاک که علائمی شبیه آنفلوانزا دارد. این باکتری قادر به رشد و تقسیم در مخازن آب بوده و اگر رطوبت از آن گرفته شود از بین می‌رود. بنابراین در خارج از آب زنده نمی‌ماند هر چند با پرش قطرات آب به اطراف می‌تواند از طریق هوا منتقل شده و در محیط پراکنده گردد. جنس مایکوباکتریوم و به‌ویژه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس که عامل سل می‌باشد نیز از اهمیت زیادی در بهداشت برخوردار است. اکثر گونه‌های مایکوباکتریوم در خاک و آب زندگی می‌کنند. باکتری سل موجود در هوا می‌تواند ازطریق قطرات تولیدشده توسط حامل این بیماری و سیستم‌های تهویه، هوابرد گردد. شکل ۷-۱ معمول‌ترین گونه‌های باکتریایی که در محیط‌های کاری مختلف شایع هستند را ارائه داده است.

GRAM NEGATIVE BACTERIA

Acinetobacter	*Klebsiella*
Citrobacter	*Legionella (eau)*
Enterobacter	*Moraxella*
Escherichia	*Pseudomonas*
Flavobacterium	*Xanthomonas*

GRAM POSITIVE BACTERIA

Arthrobacter	*Micrococcus*
Bacillus	*Staphylococcus*
Kocuria	*Streptococcus*

IRREGULAR GRAM NEGATIVE RODS AND ACTINOMYCETES

Corynebacterium	*Norcardiopsis*
Mycobacterium	*Streptomyces*
Saccharopolyspora	Thermoactinomycetes

MOLDS AND MYCOTOXINS

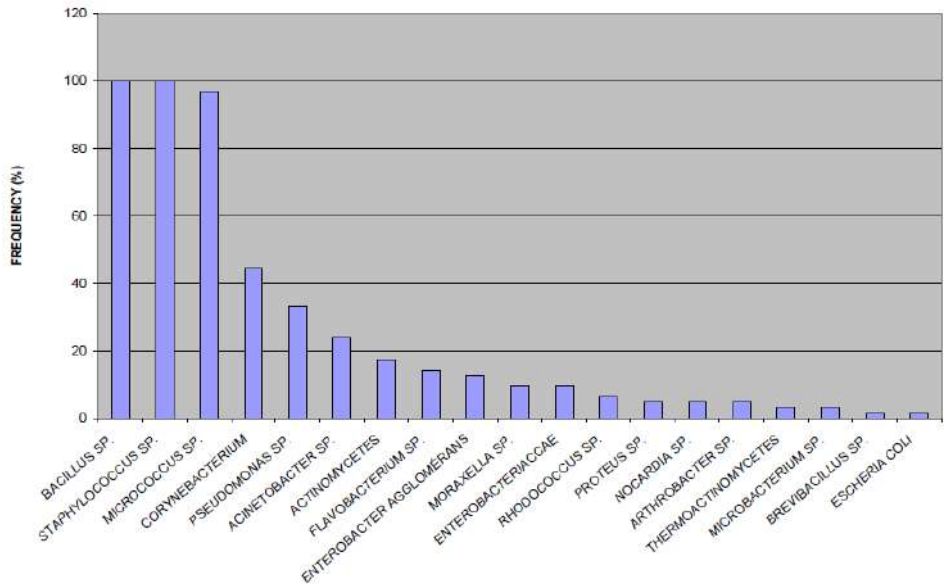
GENUS (Number of species)	MYCOTOXINS[A]	REMARKS
Acremonium sp. (70)	---	
Alternaria sp. (40-50)	*A. alternata*: alternariol, tenuazoic acid	Large dimension septate spores *A.alternata*: the most common
Aspergillus sp. (200)	*A flavus, A. parasiticus*: aflatoxins, citrinin *A. clavatus*: cytochalasins *A. fumigatus*: fumitremorgins, gliotoxin *A. niger*: oxalic acid *A. ochraceus*: ochratoxins *A. versicolor*: sterigmatocystin	Very common group. Small dry spores easily airborne.
Aureobasidium sp. (15)	---	Colonizes leaves in fall, facilitating the decomposition activity
Botrytis sp.	---	
Chaetomium sp. (80)	Chaetomin *C. globosum*: chaetoglobosins	
Cladosporium sp. (50)	Epicladosporic acid, cladosporin	The most prevalent group in the outdoor air
Epicoccum sp. (2)	Flavipin, epicorazins, indole-3-acetonitrile	Develops on substrates where *Cladosporium* and *Aureobasidium* are present
Fusarium sp. (50-70)	Fumonisins, trichothecenes: T-2, vomitoxin, zearalenone	Plant pathogen
Geotrichum sp.	---	
Memnoniella sp.	Griseofulvins	Resembles *Stachybotrys*.
Mucor sp. (50)	---	
Paecilomyces sp. (31)	Paecilotoxins *P. variatti*: patulin	Small dry spores that are easily airborne
Penicillium sp. (200)	*P. expansum*: citrinin, patulin *P. griseo-fulvum*: griseofulvins *P.viridiatum*: griseofulvins, ochratoxins *P.* polonicum: verrucosidin	Very common group Small spores that are easily aerosolized
Phoma sp.	*P.* soghina: tenuazoic acid	
Stachybotrys sp. (15)	*S. chartarum*: trichothecenes: satratoxin, stachybotrylactams, lacones	*S. chartarum*: spores not easily aerosolized; not very competitive in the presence of other molds in culture: rather unreliable measurements in the air
Trichoderma sp. (20)	*T viridi*: trichothecenes: satratoxin	Ability to kill other molds
Ulocladium sp. (9)	---	Septate spores. Resembles *Alternaria*

[A] Incomplete list.

YEASTS

Candida	*Trichosporon*
Cryptococcus	*Torulopsis*
Rhodotorula	

شکل ۷-۱: باکتری‌های معمول در محیط کار



شکل ۷-۲: فراوانی باکتری‌های موجود در هوای ۶۳ محیط کاری در کانادا (۳۶ ساختمان اداری، ۱۲ مدرسه و ۱۵ بیمارستان)

۷-۳- واحدهای اندازه‌گیری

ACPLA[1] واحد اندازه‌گیری تعداد ذرات در یک لیتر هوایی که حاوی عوامل بیولوژیک مهم می‌باشد است. کاربرد اصلی این واحد برای باکتری‌ها است ولی با اعمال تغییراتی می‌تواند برای ویروس‌ها و مولکول‌های سمی نیز استفاده شود. مشکلات استفاده از این واحد شامل موارد ذیل می‌باشد:

- نمی‌تواند بین عوامل بیولوژیک زنده و غیر زنده تفکیک قائل شود.
- گونه‌های مهلک و بی‌خطر را از یکدیگر تشخیص نمی‌دهد.
- حتی به‌عنوان واحد ساده اندازه‌گیری، این واحد نمی‌تواند به مقدار استاندارد مورد نظر برسد زیرا قابلیت تشخیص بین ذرات حاوی یک میکروارگانیسم با مولکول‌ها یا

1- Agent Containing Particles per Liter of Air

مولکول‌هایی که ممکن است حاوی صدها یا هزاران واحد عامل بیولوژیک با شند را ندارد..

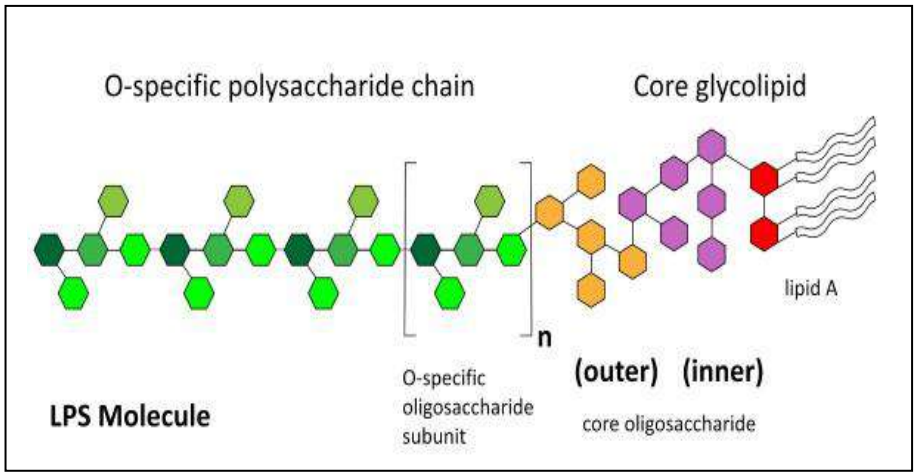
- در نهایت، اثرات بهداشتی ذرات حاوی عوامل بیولوژیک می‌تواند توسط اندازه ذرات تحت تأثیر قرار گیرد مثلاً ذرات کوچک می‌توانند اثرات عمقی بر روی ریه داشته باشند و بسیار مضر باشند در حالی‌که ذرات بزرگ‌تر در قسمت فوقانی دستگاه تنفسی به دام می‌افتند. بنابراین این واحد قادر به تشخیص اندازه‌ی ذرات نیست.

پاره‌ای از محدودیت‌های ACPLA در فوق بیان شد. با وجود راحتی و سادگی این واحد، شیوه‌های متفاوتی برای اندازه‌گیری آن وجود دارد. مبنای شناسایی و اندازه‌گیری پاره‌ای از ابزار، بر اساس کشت نمونه‌های هوای تغلیظ شده بر روی بسترهای کشت جامد می‌باشد. ممکن است اندازه‌گیری‌های سایر ابزار، بر اساس شمارش ذرات و یا اندازه‌گیری فلورسانس نمونه باشد. از طرفی واحد فوق تفاوتی بین میکروارگانیسم‌های زنده و غیرزنده قائل نبوده و ابزاری که ویژگی‌های مختلف یک نمونه را اندازه‌گیری می‌نمایند ممکن است که مقادیر مختلفی از ACPLA را برای هر ویژگی ارائه دهد. برای مثال وسیله‌ای که تعداد کلنی‌های شکل‌گرفته را شمارش می‌کند تنها باکتری‌های زنده را خواهد شمرد درصورتی‌که ابزار مبتنی بر PCR، هر دو نوع باکتری‌های زنده و غیرزنده را اندازه‌گیری خواهند نمود. از طرف دیگر به علت آن‌که ACPLA از نظر خطرات بهداشتی، تفاوت بسیار زیاد بین عوامل بیولوژیک را در خود نداشته و لحاظ نمی‌کند، هنگام ارائه ACPLA باید عاملی که این عدد برای آن ارائه شده است را نیز گزارش داد؛ و در این شرایط فرد باید علاوه بر در دست داشتن ACPLA، اطلاعاتی در مورد خطرات بهداشتی سویه‌ی[1] موردنظر داشته باشد تا بتواند بر اساس این دو متغیر در مورد اقدامات خود تصمیم‌گیری نماید. بنابراین به‌طور کلی استفاده از ACPLA نمی‌تواند اطلاعاتی در مورد وجود یا عدم وجود خطرات بهداشتی و میزان آن در یک اندازه‌گیری را ارائه دهد.

۱- در زیست‌شناسی به یاخته‌هایی که در کشت خالص، از یک یاخته به‌دست آمده‌اند، سویه (strain) می‌گویند.

۷-۲-۲- اندوتوکسین

اندوتوکسین‌ها ترکیباتی بیولوژیک با خواص سمی بوده که از جنس لیپوپلی ساکارید می‌باشند. اندوتوکسین‌ها اجزای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی هستند که به وفور در طبیعت وجود دارند. لغات اندوتوکسین، لیپوپلی ساکارید، لیپو اولیگوساکارید (LOS[1]) در شرایط مختلف به‌جای یکدیگر استفاده می‌شوند. LOS ساختار متفاوتی از LPS داشته و از دیگر گونه‌ها سرچشمه می‌گیرد. LPS ناشی از باکتری‌های گرم منفی یک ماکرو مولکول مقاوم به حرارت و مسئول بسیاری از خصوصیات بیولوژیکی اندوتوکسین باکتریایی است. LPS از یک قسمت پلی ساکارید آب‌دوست و یک پیوند کووالان چربی‌دوست (چربی A و یک فسفولیپید) تشکیل شده است.



شکل ۷-۳: ساختار LPS

باکتری‌های گرم منفی معمولاً در محیط‌های مختلف وجود دارند. برای مثال بر روی سطوح گیاهان و در مدفوع حیوانات. آن‌ها همچنین در حفره‌های دهان و روده انسان‌ها و حیوانات ساکن می‌باشند. وجود باکتری گرم منفی در محیط‌زیست تحت تأثیر فاکتورهای محیطی

1- Lipo-Oligosaccharides

مثل درجه حرارت و فعالیت آب در آن محیط است درنتیجه سطح اندوتوکسین ممکن است در خاک، هوا و آب به‌شدت متغیر باشد. بر اساس غلظت‌های باکتری‌ها و اندوتوکسین‌ها، میزان آلودگی در محیط می‌تواند به ۴ دسته اساسی تقسیم شود:

- میزان آلودگی بالا (شبیه انبارهای دام، برداشت محصول، انتقال و فرآوری محصولات کشاورزی، فرآیند حمایت از رشد میکروارگانیسم‌های فعال)
- میزان آلودگی متوسط (مانند فرآیند تقسیم غذا، صنعت نساجی، صنایع مکانیکی که از آب یا مایعات فلزکاری استفاده می‌کنند و محیط‌های داخلی در ارتباط با منابع)
- میزان آلودگی نسبتاً کم (مانند کلینیک‌های پزشکی و دندانپزشکی، محیط اداری، منازل و مدارس)
- میزان آلودگی بسیار کم (مانند اتاق‌های تمیز صنعتی، مناطق تولیدی دارو، اتاق عمل و برخی از آزمایشگاه‌های تحقیقاتی)

در خصوص اثرات بهداشتی (بهداشت حرفه‌ای) به نظر می‌رسد عمدتاً مربوط به اندوتوکسین‌های هوابرد باشند. اندوتوکسین‌ها در طول ساخت یا حمل‌ونقل مواد آلی به‌صورت هوابرد درآمده و بنابراین قرار گرفتن در معرض اندوتوکسین در صنایع کشاورزی و صنایع مرتبط به‌طور شایع وجود دارد، اگرچه رطوبت موجود در هوای ساختمان‌ها، بازیافت صنعتی آب، آب ناشی از شستشو و امولسیون‌های روغن‌های صنعتی نیز ممکن است یک منبع مهم مواجهه با اندوتوکسین در هوا باشند. در بسیاری از صنایع مواجهه با اندوتوکسین با مواجهه با گردوغبار آلی ارتباط نزدیک دارد.

۷-۴- اثرات مواجهه با اندوتوکسین

تصور می‌شود مواجهه استنشاقی مهم‌ترین راه مواجهه باشد. آئروسل‌های هوابرد، ذرات گردوغبار آلوده و ترکیبات باکتریایی مانند اندوتوکسین‌ها به‌اندازه‌ای هستند که می‌توانند در هر سطح از دستگاه تنفسی ته‌نشین شوند. اندوتوکسین‌ها می‌توانند هم به‌صورت تنفسی

(نفوذ به سیستم تنفسی) و هم به‌صورت استنشاقی (نفوذ به منطقه‌ی آلوئولی) پیدا شوند، اما عمدتاً به‌صورت تنفسی دیده می‌شوند. کل باکتری و اجزای آن اگر در نای و نایژه‌ی بزرگ نفوذ کنند به‌وسیله‌ی انتقال یا از طریق فاگوسیتوز و هضم آنزیمی به‌وسیله ماکروفاژها از آنجا حذف می‌شوند. ذرات کوچک‌تر در راه‌های هوایی عمیق‌تر مانند برونش-های کوچک، آلوئول‌ها و برونشیول‌ها نفوذ می‌کنند که در آن اندوتوکسین می‌تواند اثرات التهابی ایجاد نماید.

این امر ممکن است نفوذپذیری سلولی و ترانس سلولی اپیتلیوم را تغییر دهد و اندوتوکسین‌ها یا دیگر سموم موجود در گردوغبار آلی برای عبور از این مانع اجازه ورود می‌دهند. بنابراین چندین مکانیسم می‌تواند نفوذ اندوتوکسین به ریه‌ها و چسبیدن آن به سلول را غیرفعال کند و پس از آن از لحاظ بیولوژیکی فعال شوند:

۱- در طول لیز شدن باکتری مکمل و یا آنتی‌بیوتیک‌ها

۲- در طول فاگوسیتوز باکتری‌ها توسط ماکروفاژها و پلی‌مورفو نوکلئر (PMN) که درنتیجه در هر دو مرحله اندوتوکسین‌های بیگانه‌خوار و اندوتوکسین‌های آزادشده سمیت مشابه یا حتی افزایش سمیت پیدا می‌کند.

۳- در طول تولیدمثل باکتری‌ها. پاسخ به اندوتوکسین‌ها به‌طور مستقیم ایجاد نمی‌شوند، اما بیشتر با واسطه مولکول‌های تغییردهنده‌ی سیستم ایمنی مانند عامل نکروز تومور آلفا (TNFaα[1])، اعضاء خانواده (1L-1, 1L-6, L1-8, 1L-12)، اینترفرون γ، گونه‌های کاهش‌دهنده اکسیژن و لیپیدها ایجاد می‌شود. این میانجی‌ها به‌طور عمده توسط مونوسیت‌ها و ماکروفاژها منتشر می‌شوند. اما سلول‌های دیگر نیز در پاسخ به LPS شرکت می‌کنند، برای نمونه سلول‌های عروقی، سلول‌های پلی‌مورفو نوکلئر و سلول‌های T.

۴- پاسخ ایمنی فرد به اندوتوکسین ناشی از تعامل پیچیده بین تعداد روز و زمان مواجهه، اثرات ناشی از عوامل زیست‌محیطی و ژنتیکی می‌باشد.

1- Tumor Necrosis Factor Alpha

۷-۵- تاریخچه بررسی خطر اندوتوکسین

مفهوم مواجهه با گردوغبار آلی مربوط به اثرات بهداشتی به سال ۱۵۵۵ برمی‌گردد. نیل و همکاران احتمالاً اولین تحقیق در مورد مواجهه مرتبط با میکروارگانیسم‌ها در پنبه و اختلال ریوی شغلی در کارگران پنبه را انجام داده‌اند. اولین تشخیص نقش اندوتوکسین در کارگرانی که با پنبه کار می‌کردند و در آن ضعف صبح روز دوشنبه ناشی می‌شد احتمالاً در دهه‌ی ۶۰ بود. در سال‌های بعد اندوتوکسین ناشی از باکتری گرم منفی، به‌ویژه از آنتروباکتر اگلومرانس، که در حال حاضر به مقدار بسیار زیادی در الیاف پنبه و مواد گیاهی هستند، نقش مهمی در اتیولوژی بیسینوزیس بازی می‌کنند. استنشاق پنبه، کتان یا گردوغبار شاهدانه معمولاً در کارگران نساجی مشاهده شده است.

۷-۶- اثرات بهداشتی (سلامتی) اندوتوکسین

از آن زمان به بعد، اثرات مثبت اما اغلب منفی بهداشتی ناشی از مواجهه با اندوتوکسین شرح داده شده است. مطالعات تجربی و اپیدمیولوژیکی نشان دادند که اثرات بهداشتی منفی ناشی از مواجهه با اندوتوکسین ایجاد می‌گردد که می‌توانند به موارد ذیل تقسیم شوند:

- واکنش‌های التهابی در راه‌های هوایی، که ممکن است منجر به علائم تنفسی مانند سرفه خشک، تنگی نفس و خس‌خس، علائم بالینی شبیه آسم آلرژیک، کاهش شتاب عملکرد ریه و بیسینوزیس در کارگران پنبه شود.
- واکنش‌های سیستمیک، دراثر طیف وسیعی از علائم ازجمله تب، لرز، درد مفاصل، درد عضلانی، ضعف و سایر علائم مانند آنفولانزا ایجاد می‌گردد و به‌عنوان سندرم سمی گردوغبار آلی شناخته می‌شوند (ODTS[1]).

1- Organic Dust Toxic Syndrome

اخیراً اثرات محافظتی در رابطه با محیط‌زیست به‌طور اختصاصی شرح داده شده است، اما همچنین مواجهه حرفه‌ای با اندوتوکسین و بهبود آلرژی نیز گفته شده است. در مطالعه‌ای که اخیراً انجام شده است، رابطه معکوس بین مواجهه شغل با اندوتوکسین و خطر ابتلا به حساسیت آتوپیک در بزرگسالان دیده شده است. با این حال در غیرآتوپیک‌ها با توجه به وجود حساسیت، به‌موازات افزایش خطر ابتلا به خس‌خس و پاسخگویی بیش‌ازحد برونش، اثر محافظتی ایجاد می‌شود. این امر تا حدی دلیل مطالعه بر روی کودکان نیز می‌باشد. علاوه بر این اخیراً با توجه به خطر ایجاد سرطان، اثرات حفاظتی شرح داده شده‌اند.اگرچه شواهد تجربی برای ارتباط بین مواجهه با اندوتوکسین و سرطان محدود بوده و هیچ سازگاری ندارد.

التهاب راه هوایی به‌واسطه نوتروفیل در افراد سالم و کارگران نگهداری خوک پس از مواجهه، محدود به دوره‌های کوتاه مدت می‌باشد. مطالعات تجربی نشان داده‌اند که بعد از مواجهه با اندوتوکسین موجود در گردوغبار پنبه، کاهش عملکرد ریه به‌صورت حاد و وابسته به دوز دیده شده است، که در آن سطح اثر مشاهده نشده (NOELs[1])، برای کارگران مواجهه یافته با پنبه ۳۳ نانوگرم در مترمکعب (تقریباً ۳۳۰ واحد اندوتوکسین Eu/m^3) و برای FEV_1 (حجم بازده اجباری در دقیقه اول) در افراد سالم ۹ ng/m^3 (۹۰ Eu/m^3) مشاهده شده است. مواجهه طولانی‌مدت ممکن است باعث ایجاد اثرات حاد و پنهان ماندن ارتباط دوز-پاسخ شود که احتمالاً می‌تواند بخشی از تفاوت‌های موجود در NOELs را توضیح دهد. چندین مطالعه اپیدمیولوژیکی یا میدانی در میان کارگران پنبه و کارگران تولید خوراک دام، کشاورزان مزارع پرورش خوک، کارگران تولید سیب‌زمینی و کارگران کارخانجات تولید فایبرگلاس (فیبر شیشه) انجام شد و نتایج نشان داد درصورتی که اثرات بهداشتی نامطلوب استنشاقی حاد و مزمن ناشی از مواجهه با اندوتوکسین هوابرد وجود داشته اما میزان سطوح اندوتوکسین و NOELs متفاوت بود.

1- No-observed-adverse-effect level

اثرات عملکرد ریوی مزمن در مواجهه با اندوتوکسین وضوح بیشتری را نسبت به مواجهه با گردوغبار نشان می‌دهد. هم مطالعات تجربی و هم اپیدمیولوژیکی فرضیه‌ی نقش تأثیرگذار اندوتوکسین تنفسی در اتیولوژی بیماری‌های استنشاقی وابسته به شغل مزمن و وابسته به دوز را به‌شدت تأیید می‌کنند. با این‌حال، به دلیل اینکه گردوغبار آلی به‌صورت مخلوط ناهمگن بوده و دارای اجزاء زیادی هستند، اندوتوکسین مفروض می‌تواند وابسته به دیگر سموم موجود در گردوغبار باشد که اثر آن‌ها می‌تواند متفاوت باشد علاوه بر این، فاکتورهای دیگر مانند حساسیت فردی و تصحیح اثرات، ممکن است از اهمیت زیادی برخوردار باشند.

۷-۷- دستورالعمل‌های پیشنهادشده

مطالعات تجربی به‌اندازه مطالعات اپیدمیولوژیکی پیشنهاد می‌کنند که بیماری‌های مختلف ناشی از اندوتوکسین‌ها مربوط به سطوح مختلف مواجهه می‌باشند. بنابراین، در بین افراد مختلف حساسیت به اندوتوکسین بسیار متفاوت و فاحش است.

بر اساس ارتباط بین اندوتوکسین خالص و اندوتوکسین ناشی از محیط‌زیست (یک میکروگرم در مترمکعب اندوتوکسین محیط‌زیست برابر ۱۰ میکروگرم اندوتوکسین خالص (گونه‌ها مشخص نشده است))، شاخص‌هایی برای افراد با یک تاریخچه آتوپی یا آسم و یک روش تحلیلی خاص، NOELs هایی برای اندوتوکسین محیطی پیشنهاد گردیده است.

- التهاب راه‌های هوایی ۱۰ نانوگرم در مترمکعب (۱۰۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب)
- اثرات سیستمیک ۱۰۰ نانوگرم در مترمکعب (۱۰۰۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب)

پنومونی‌های سمی (ODTS)۲۰۰ گرم نانوگرم در مترمکعب (۲۰۰۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب)

۷-۸- حد مواجهه شغلی اندوتوکسین در هلند

هرچند که اندوتوکسین‌ها برای بخش قابل‌توجهی از نیروی کار (جمعیت) به‌عنوان تهدیدی جدی به رسمیت شناخته شده‌اند، هنوز هیچ حد تماس شغلی (OEL) برای آن معرفی نشده است، به همین دلیل تنظیم مواجهه با اندوتوکسین دشوار است.

در هلند، کمیته تخصصی شورای ملی سلامت و بهداشت (DECOS) در سال ۱۹۹۸ برای اندوتوکسین یک حد مواجهه شغلی توصیه‌شده‌ای (HBROEL) به مقدار ۵۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب (۵۰ نانوگرم در مترمکعب) توصیه کرده است. این مقدار در درجه اول بر اساس یک مطالعه که Castellon و همکارانش انجام داده بودند پیشنهاد شده است که یک سطح بدون اثر از ۹۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب را برای انتخاب افراد سالم حساس با مواجهه ۶ ساعت کاری در نظر بگیرند. پس از استفاده از فاکتورهای مورد ارزیابی برای تشخیص تفاوت‌های موجود در مدت‌زمان مواجهه و حساسیت بین فردی، یک HBROEL از ۵۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب پیشنهاد شد و منجر به ایجاد یک استاندارد بین‌المللی برای اندوتوکسین گردید (RSE[1]).

بااین‌حال، توجه به این موضوع اهمیت این مسئله را برای مقابله و جلوگیری از مواجهات بالا بیان می‌کرد. بنابراین، محدوده قانونی به‌طور موقت برای اندوتوکسین از ۲۰۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب برای بیش از یک شیفت کاری ۸ ساعته در پایان ماه ژوئن سال ۲۰۰۰ پیشنهاد گردید، همچنین توصیه شد، در صورت امکان، در عرض ۲ سال این حد قانونی از ۲۰۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب به ۵۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب کاهش یابد. تعیین مقدمه‌ای از این حدود قانونی از سوی وزارت امور اجتماعی و اشتغال از تاریخ جولای ۲۰۰۱ به ژانویه ۲۰۰۳ به تعویق افتاد، یک سال بعد راهنمایی در مورد روش اندازه‌گیری مواجهه با اندوتوکسین توسط کمیته اروپایی استانداردسازی (CEN[2]) انتشار یافت. این تأخیر سازمان‌ها را قادر ساخت که در طول سال، حدود مواجهه را یافته و در صورت لزوم اقدامات کنترلی مناسب را انجام دهند. در همین حال، بر اساس اطلاعات

1- Reference Standard Endotoxin
2- Committee European Normalization

جمع‌آوری‌شده به‌وسیله بخش‌های درگیر، کمیته SER[1] به این نتیجه رسید که ایجاد یک محدوده قانونی امکان‌پذیر نمی‌باشد. بر اساس این توصیه، این وزارت حدود قانونی را به‌طور موقت برای مواجهه با اندوتوکسین در جولای ۲۰۰۳ به عقب برگردانده، با این تعهد که ظرف مدت ۶ ماه، قبل از ژانویه ۲۰۰۴، بخش‌های درگیر باید جهت مواجهه با اندوتوکسین در محیط‌های کاری تحت شرایط زیر یک استراتژی را تدوین و فرموله کنند.

ظرف مدت شش ماه، سازمان‌های درگیر باید به توصیف روشی برای به حداقل رساندن مواجهه با اندوتوکسین بپردازند. احزاب موظف بودند در ارتباط با این رویکرد به کمیته گزارش دهند و به‌طور منظم در مورد اجرا و پیشرفت طرح نظر بدهند. کمیته اطلاعات دریافتی در طول این دوره را برای مشاوره استفاده می‌کند. روش اندازه‌گیری جدید، منحصر در راهنمای CEN ۱۴۰۳۱ (تعیین اندوتوکسین هوابرد) ترکیب با CEN ۱۳۰۹۸ (راهبردهایی برای اندازه‌گیری اندوتوکسین و میکروارگانیسم‌های هوابرد)، باید ایجاد شده و در مسیر صحیح و مناسب معرفی شوند.

استراتژی اندازه‌گیری فعلی، CEN ۶۸۹، که برای مواد شیمیایی فرموله شده است، باید برای مشکلات مربوط به مواجهه با عوامل بیولوژیکی و به‌طور خاص اندوتوکسین تنظیم شده باشد. علاوه بر این، از شورای بهداشت و درمان خواسته شد که پیشنهاد HBROEL، ۵۰ واحد اندوتوکسین در مترمکعب را بر اساس اطلاعات جدید در نظر بگیرد و گزارش آن را تا پایان سال ۲۰۰۸ تنظیم کند.

۷-۹- مواجهه با اندوتوکسین در کارگاه‌های کشاورزی

کارگران بسیاری در صنعت کشاورزی در معرض مواجهه با گردوغبارهای آلی قرار دارند که برای دستگاه تنفسی مضر شناخته‌شده‌اند. اندوتوکسین‌ها، آلاینده‌هایی هستند که ناشی از گردوغبار آلی بوده و احتمالاً عامل عمده مشکلات بهداشتی مرتبط با مواجهه با گردوغبار آلی می‌باشند.

1- Social and Environmental Responsibility

اندوتوکسین‌ها ترکیبات پیچیده شیمیایی در غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی هستند و اندوتوکسین‌های هوابرد به‌طور مستقیم به وجود باکتری دلالت دارند. در طول رشد سلول و بعد از لیز شدن و مرگ سلول، اندوتوکسین به داخل محیط انتشار پیدا می‌کنند. لیپو پلی ساکاریدها مسئول خواص بیولوژیک اندوتوکسین‌های باکتریایی هستند. مدفوع حیوانات و مواد گیاهی آلوده به باکتری عوامل مهم شناخته‌شده در گردوغبار آلی هستند که در ارتباط با مواجهه با اندوتوکسین می‌باشد. رشد میکروبیولوژیکی می‌تواند در طی کاشت، پردازش، ذخیره‌سازی و حمل‌ونقل محصولات کشاورزی رخ دهد و تحت شرایط خاص است که باکتری رشد می‌کند. مواجهه شغلی زیاد با اندوتوکسین در مشاغل کشاورزی و صنایع مشابه شیوع زیادی دارد. تصور می‌شود استنشاق مسیر عمده‌ی مواجهه با اندوتوکسین در محیط کار است. اندوتوکسین استنشاقی باعث پاسخ‌های التهابی سیستمیک تنفسی می‌شود. عوارض حاد بعد از استنشاق سطوح بالای اندوتوکسین سرفه خشک و تنگی نفس، همراه با کاهش در عملکرد ریه‌ها، واکنش‌های تب، لرز و کسالت می‌باشد. قطع تنفس، سردرد و درد مفاصل نیز ممکن است چند ساعت بعد از مواجهه اتفاق بیافتد. علاوه بر این، مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهد که مواجهه مزمن، به‌طور متوسط در سطوح تماس پایین‌تر، ممکن است منجر به تشدید کاهش عملکرد ریه و بیماری انسدادی مزمن ریوی شود. از سوی دیگر مطالعات اخیر نشان داده است که امکان اثر حفاظتی ناشی از مواجهه با اندوتوکسین محیط زیستی و شغلی بر خطر حساسیت آتوپیک وجود داشته باشد.

در دهه ۸۰ و شروع دهه ۹۰ مواجهه با اندوتوکسین در صنایع مختلف کشاورزی بررسی شده است. با این‌حال، مقایسه سطح مواجهه در صنعت کشاورزی بسیار دشوار بوده و تنها شاخه‌هایی از آن بررسی شده‌است. علاوه بر این، اکثر مطالعات انجام‌شده توسط آزمایشگاه‌های مختلف با استفاده از اندازه‌گیری و تکنیک‌های تحلیلی مختلف انجام شده است. مهم‌تر از همه اکثر مطالعات در اندازه‌های کوچک بوده و اطلاعات مهم در خصوص نمونه‌برداری و روش‌های تحلیلی در آن‌ها دیده نمی‌شود و یا در مطالعات مختلف متفاوت است.

Occupational Environments Where Endotoxins Have Been Identified and Known to Pose a Problem[16]
Cotton gins/mills
Swine confinements
Grain storage, handling, and processing facilities
Poultry barns
Sewage treatment and processing facilities
Wood chipping operations
Saw mills
Flax mills
Machine shops
Fiberglass manufacturing[19]

شکل ۷-۴: مشاغل با احتمال مواجهه با اندوتوکسین

۷-۱۰- موارد استفاده از LAL[1]

این محصول جهت آزمایش اندوتوکسین در داروهای انسانی و حیوانی، محصولات بیولوژیکی و وسایل پزشکی کاربرد دارد. این محصول برای تشخیص اندوتوکسین در نمونه‌های بالینی یا آزمایشی جهت تشخیص بیماری‌های انسانی کاربرد ندارد. آزمایش LAL یک تست کمی است که برای اندوتوکسین موجود در باکتری‌های گرم منفی استفاده می‌شود. LAL جهت آماده‌سازی به همراه معرف LAL در قسمت‌های مساوی با محلول جهت انجام تست ترکیب می‌شود. بعد از قرارگیری در انکوباتور و در هنگامی‌که اندوتوکسین موجود می‌باشد، ژل‌شدن اتفاق افتاده و در نبود اندوتوکسین ژل‌شدن اتفاق نمی‌افتد.

در دسامبر ۱۹۸۷، اداره غذا و داروی ایالت متحده (FDA[2]) دستورالعمل تائید آزمایش LAL و آزمایش اندوتوکسین برای داروهای حیوانی و انسانی، محصولات بیولوژیکی و وسایل پزشکی را منتشر کرد. این دستورالعمل رئوس مطالب روند کاریشان که FDA تحت بررسی قرار داده بود را برای موارد زیر لازم می‌دانست:

۱- انتشار سطوح اندوتوکسین برای وسایل و تجهیزات پزشکی و دارویی.

۲- معتبر و قانونی کردن استفاده از LAL به‌عنوان یک آزمایش اندوتوکسین نهایی.

1 -Limulus Amebocyte Lysate

2- Food and Drug Administration

۳- بهبود و ارتقاء یک پروتکل جهت انجام آزمایش روتین.

طرح‌های شرح داده‌شده در اینجا با توضیحات مربوط به خودشان در دستورالعمل FDA به تائید رسیده است. روش‌های انجام ساده برای آنالیز لخته شدن ژل منتشر شده است و در کتاب دارونامه به‌طور منظم به‌روز شده است.

۷-۱۱- نکات مهم در اندازه‌گیری

اندوتوکسین‌ها در محیط‌های آزمایشگاهی به وفور یافت می‌گردند. بنابراین تمامی شیشه‌آلات، پنس‌ها و کاست‌های فلزی مورداستفاده در فرآیند ارزیابی آن‌ها جهت حذف هرگونه آلودگی زمینه‌ای قبل از به کار بردن در آنالیز باید در دمای ۲۱۰ درجه به مدت ۱ ساعت (یا ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه) آلودگی‌زدایی گردند. وسایل پلاستیکی استریل مورداستفاده در فرآیند، عموماً و در غالب اوقات عاری از اندوتوکسین هستند و می‌توانند بدون تمیز سازی مورداستفاده قرار گیرند. البته این مورد ممکن است در مورد پاره‌ای از تجهیزات پلاستیکی صادق نباشد و بنابراین توصیه می‌شود وسایل پلاستیکی مورداستفاده، دارای تأییدیه عاری از اندوتوکسین ، باشند. در بین انواع وسایل پلاستیکی، وسایل ساخته‌شده از پلیمر پلی استایرن از اولویت برخوردارند. توجه شود که از وسایل با جنس پلی پروپیلن استفاده نگردد چون مطالعات نشان داده است که این‌گونه پلیمرها تمایل به جذب دائمی PLS[1] بر روی خود دارند. بسیاری از مطالعات ابتدایی در این حیطه از فیلترهای سلولزی و PVC[2] در ارزیابی و نمونه‌برداری اندوتوکسین‌ها استفاده نموده‌اند. بااین‌حال راندمان استخراج آن‌ها از روی فیلتر موردبررسی قرار نگرفته است. متأسفانه اندوتوکسین معمولاً با این فیلترها باند شده و به‌سختی از آن‌ها استخراج می‌گردد. بنابراین راندمان استخراج اندوتوکسین نمونه‌برداری شده از اندوتوکسین‌ها از روی فیلترها به نوع فیلتر و حتی نوع غباری که از آن نمونه‌برداری شده است وابسته می‌باشد. جدول

1- Lipo Poly Sacharide
2- Polyvinyl chloride

۲-۷ راندمان بازیافت اندوتوکسین‌های نمونه‌برداری شده از روی فیلترهای مختلف را نشان می‌دهد.

جدول ۲-۷: راندمان بازیافت اندوتوکسین

Filter Type	Recovery (ng of NP-1 Activity/ ng LPS Added)	Percent Recovered as Compared to the Controls (%)
Polyvinyl chloride (5.0-µm pore membrane)	0.064	10.8
Polyflon (woven Teflon)	0.206	34.4
Teflon membrane (1.0-µm pore membrane)	0.229	38.2
Cellulose mixed ester (0.45-µm pore membrane)	0.252	42.1
Lipopolysaccharide (LPS) control (no filter)	0.599	–

Note: NP-1 = Reference endotoxin.
Source: Milton, D., et al. *American Industrial Hygiene Association Journal.* 51(6):333, (1990). With permission.

منابع

1. Le Rouzic, E. (2006). Contamination-pipetting: relative efficiency of filter tips compared to Microman® positive displacement pipette. Nature Methods| Application Notes.
2. Samimi, B. and Shufutinsky, A., "Comparison of the Thermo-Andersen N6, the Aerotech A6, the SKC BioStage, and the SKC Micromedia Viable Samplers in the Collecting Airborne Fungal Spores," AIHce, San Diego, CA, Final Program, p. 43
3. Bioaerosols in the Workplace: Evaluation, Control and Prevention Guide; Goyer, Nicole; Lavoie, Jacques; Lazure, Louis; Marchand, Geneviève; Studies and Research Projects / Technical Guide T-24, Montréal, IRSST, 2001, 72 pages; P:17.
4. Swan, J. R. M., A. Kelsey, B. Crook, and E. J. Gilbert. Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and potential health effects: a critical review of published data. Vol. 130. HSE Books, 2003; P:63.
5. Maximum Allowable Concentrations of Harmful Substances in Workplace Air, in Toksikologiceskij Vestnik, July 1993, 1, State Committee for Hygiene and Epidemiological Surveillance, 1993, pp. 38–44, in Russian.
6. Advisory letter on Health-based recommended occupational exposure limits for biological agents. Our reference: U 7329/AvdB/832-E3 Publication no. 2012/35E; Page: 12; Date: December 17, 2012
7. Eduard, Wijnand, Dick Heederik, Caroline Duchaine, and Brett James Green. "Bioaerosol exposure assessment in the workplace: the past, present and recent advances." Journal of environmental monitoring 14, no. 2 (2012): 334-339.
8. W. Eduard, Arbete och H€alsa, 2006, 21,1–145, http://gupea.ub.gu.se/dspace/bitstream/2077/ 4359/1/ah2006_21.pdf.
9. DIRECTIVE 2000/54/EC on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work, http://eurlex. europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do? uri¼OJ: L:2000:262:0021: 0045:EN:PDF.
10. W. Eduard, Arbete och H€alsa, 2006, 21,1–145, http://gupea.ub.gu.se/dspace/bitstream/2077/4359/1/ah2006_21.

Eduard, Wijnand, Dick Heederik, Caroline Duchaine, and Brett James Green. "Bioaerosol exposure assessment in the workplace: the past, present and recent advances." Journal of environmental monitoring 14, no. 2 (2012): 334-339.

11. http://gezondheidsraad.nl/en/publications/gezonde-arbeidsomstandigheden/endotoxins-health-based-recommended-occupational-exposure
12. Defining occupational and consumer exposure limits for enzyme protein respiratory allergens under REACH; Toxicology 268 (2010) 165–170
13. Enzymes Occupational Exposure Working Group: “ Guidelines for the safe handling of enzymes in detergent manufacturing” http://www.aise.eu/documents/document/20131002145107-aise-enzymes-safe-handling-final-sept2013.pdf
14. http://www.pharmamicroresources.com/2015/07/bacterial-endotoxin-and-substances-for.html
15. Hess-Kosa, Kathleen. Indoor air quality: the latest sampling and analytical methods. CRC Press, 2011., P:129
16. Available from: https://oshwiki.eu/wiki/Bioaerosols_and_OSH
17. Zorman T, Jeršek B. Assessment of bioaerosol concentrations in different indoor environments. Indoor and Built Environment. 2008;17(2):155-63.
18. Swan, J.R.M., A. Kelsey, B. Crook, and E. J. Gilbert. Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and potential health effects: a critical review of published data. Vol. 130. HSE Books, 2003; P:65.

Islamic Republic of IRAN
Ministry of Health and Medical Education
Environmental and Occupational Health Center
(EOHC)

OEL ASSESSMENT GUIDELINE

For

Bioaerosols

OEL – BA- 9503

2017

OEL ASSESSMENT GUIDELINE for

Bioaerosols

OEL – BA - 9503

9 789649 053486