■ مقایسه‌ای بین روش‌های نمونه‌برداری فعال و غیرفعال در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی

نگار رئیس‌نیا

■ چکیده

هدف: هوا به‌عنوان منبعی از ریزاندامگان (میکروارگانیسم‌ها) دارای نقش مهمی در ایجاد آلودگی‌های بیولوژیك و آسیب‌های جدی در منابع آرشیوی است؛ ازاین‌رو پایش میکروبی منظم هوای مخازن (در راستای سیاست‌های حفاظت پیشگیرانه) برای شناسایی و اصلاح شرایط بحرانی، لازم است. هدف از این مطالعه ارزیابی سطوح آلودگی بیولوژیك هوا در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی ج.ا.ا، با روش‌های نمونه‌برداری فعال و غیرفعال و بررسی وجود ارتباط بین نتایج حاصل از این دو روش است.

روش‌ها: در این مطالعه نمونه‌برداری از هوای مخازن به دو روش: فعال (استفاده از دستگاه ایرسمپلر) و غیرفعال (روش پلیت‌گذاری) بر اساس استاندارد ISO 14698-1: 2003، انجام شد. پس از تعیین تعداد کلی ریزاندامگان زنده و قابل‌کشت (TVC) و شناسایی آن‌ها با روش‌های میکروبیولوژی، همبستگی میان نتایج حاصل از دو روش و توزیع فراوانی گروه‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در میان قارچ‌های جداشده جنس‌های Penicillium، Cladosporium و Aspergillus دارای بالاترین فراوانی در هردو روش نمونه‌گیری فعال و غیرفعال بودند. بررسی درصد فراوانی باکتری‌های آلایندهٔ هوای مخازن، در هر دو روش نمونه‌برداری، نشان‌دهندهٔ درصد بیشتر باکتری‌های گرم مثبت میله‌ای (و رشته‌ای) اسپوردار، از قبیل گونه‌های جنس Bacillus و Streptomyces، است. تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS، همبستگی دو روش ارزیابی‌کنندهٔ کیفیت هوا را تأیید نمود. مقایسهٔ توزیع فراوانی گروه‌های مختلف نشانگر عملکرد بهتر روش فعال برای جداسازی جنس‌های قارچی است.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از هر دو روش به‌منظور ارزیابی کلی آلودگی هوا، در پایش‌های ادواری مخازن، قابل استناد است.

کلیدواژه‌ها

آلودگی بیولوژیك، نمونه‌برداری از هوا، مخازن منابع آرشیوی، پایش.

مطالعات آرشیوی

فصلنامهٔ *گنجینهٔ اسناد*: سال بیستم و ششم، دفتر سوم، (پاییز ۱۳۹۵)، ۱۷۳-۱۵۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۸ ■ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۷

مقایسه‌ای بین روش‌های نمونه‌برداری فعال و غیرفعال در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی

نگار رئیس‌نیا[1]

مقدمه

از واژهٔ میکروارگانیسم‌هایِ آلایندهٔ منابعِ آرشیوی و کتابخانه‌ای برای توصیف قارچ‌های میکروسکوپیک و باکتری‌هایی استفاده می‌شود که قادر به رشد در منابع کاغذی و غیر کاغذی هستند و به‌واسطهٔ سیستم آنزیمی خود باعث تغییر شکل و نابودی آن‌ها می‌گردند. با توجه به مطالعات صورت پذیرفته اغلبِ گونه‌هایِ میکروبیِ جداشده از هوای آرشیوها، کتابخانه‌ها و موزه‌ها با تولید آنزیم‌های سلولاز، پروتئاز و آمیلاز، ترشح اسید و رنگ‌دانه‌های مختلف در تسریع تخریب زیستی[2] منابع مختلف مشارکت می‌نمایند (بورگو و دیگران، ۲۰۱۰، ص۱۳۹، ۲۰۱۲، ص ۲؛ گویامت و دیگران، ۲۰۱۱، ص۲۳۱). میکروارگانیسم‌های واردشده به مخازن پس از رسوب بر روی اسناد و جذب رطوبت، نقش مهمی را در ایجاد بیوفیلم[3] در سطح این منابع بازی می‌کنند (گویامت و همکاران، ۲۰۱۱، صص۲۲۹-۲۳۰). مطابق بررسی‌های انجام‌شده افزایش دما و رطوبت مخازن اهمیت زیادی در تسریع تخریب‌های زیستی دارد (پینزاری و دیگران، ۲۰۰۶، ص۵۸).

در میان عوامل میکروبیولوژیک، قارچ‌ها به علت نیاز کمتر به رطوبت، عمده‌ترین و مهم‌ترین تهدید برای مواد آرشیوی هستند (بورگو و دیگران، ۲۰۱۰. ص۱۳۹). قرارگیری منابع کاغذی در معرض تهاجم این عوامل، علاوه بر ایجاد تغییرات قابل‌توجه در استحکام و حالت اولیهٔ مواد، باعث بروز لکه‌هایی با اشکال متنوع می‌شود؛ ایجاد این لکه‌ها به دلیل تولید رنگ‌دانه‌های مختلف و یا واکنش متقابل بین ترکیبات آلی تولیدشده توسط این

۱. دانشجوی دکتری میکروبیولوژی دانشگاه تهران
negar.rayisnia@gmail.com

2. Biodegradation

۳. Biofilm: اجتماعی از سلول‌های میکروارگانیسمی است که به یک سطح متصل شده‌اند و توسط مواد پلیمری خارج سلولی پوشیده شده‌اند.

عوامل و عناصر موجود در منابع کاغذی است (رئیس‌نیا، ۱۳۹۰، ص۱۲).

علاوه بر نقش میکروارگانیسم‌های محیطی در تخریب انواع مختلفی از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای، بسیاری از آن‌ها دارای خصوصیات بیماری‌زایی هستند و قرارگیری در معرض آن‌ها باعث ایجاد بعضی از پیامدهای منفی برای سلامتی کارکنان مراکز آرشیو و کتابخانه‌ها و همچنین کاربران و مراجعه‌کنندگان به این مراکز می‌شود (گالو، ۱۳۷۳، ص۸۲؛ فلورین، ۲۰۰٤، ص۱۲٤؛ پینزاری و دیگران، ۲۰۰٦، ص۵۷).

جابجایی منابع، استفاده از دستگاه‌های تهویه نامناسب و افزایش رطوبت نسبی محیط نقش مهمی را در ایجاد بیوآئروسل‌های[1] فضای داخلی ایفا می‌نماید (سازمان بهداشت جهانی، ۲۰۰۹، صص ۱۳-۲۰). تنفس غلظت بالای باکتری‌ها و اسپور قارچ‌ها می‌تواند عفونت‌های ریوی جدی و واکنش‌های آسمی و آلرژیک در انسان ایجاد کند، گونه‌های اندکی نیز موجب بروز عفونت‌های چشمی و جلدی می‌شوند (هاتونن و همکاران، ۲۰۰۳، ص۸٦). برخی از قارچ‌ها مولد سم (مایکوتوکسین)[2] هستند و تنفس اسپورهای حاوی سموم موجب بروز علائمی تحت عنوان SBS[3] (علائم بیماری ساختمان) می‌گردد؛ که برخی از این علائم شامل از دست دادن حافظه، اختلال در تمرکز حواس، مشکلات یادگیری و تفکر، عطسه، سرفه و احساس خستگی مزمن، دردهای عضلانی و واکنش‌های آلرژیک است (استرفلینگر و پینزاری، ۲۰۱۲، صص۵۵۹-۵٦۰).

بنابراین بررسی غلظت میکروارگانیسم‌ها در هوای مخازن (آرشیو و کتابخانه‌ها) برای حفاظت از میراث مکتوب و تأمین سلامت کارکنان و مراجعان به این مراکز، دارای اهمیت فراوانی است (بورگو و دیگران، ۲۰۱۲، صص۱-۲).

ارزیابی آلودگی میکروبی محیط‌های مختلف از طریق نمونه‌برداری هوا امکان‌پذیر است. از پایش هوا می‌توان به‌منظور بررسی کارایی دستگاه‌های هواساز و تهویهٔ مطبوع و بررسی بهداشت گروهی نیز استفاده نمود. باوجود انجام تحقیقات متعدد درزمینهٔ روش‌های پایش میکروبی هوا، روش‌های انجام آن به‌صورت قطعی ایجاد نشده است؛ و اختلافِ‌نظرهایی درزمینهٔ تکنیک‌های نمونه‌برداری، فواصل زمانی به‌کارگیری این تکنیک‌ها، همچنین مزایا و معایب انجام چنین پایش‌هایی وجود دارد (پاسکارلا و همکاران، ۲۰۰۸، صص۷۹-۸۱). در حقیقت، استانداردهای بین‌المللی، متدهای مختلف (مانند نمونه‌برداری فعال و غیرفعال) و انواع متفاوتی از وسایل نمونه‌برداری را ارائه می‌دهند، بدین ترتیب دست کارشناسان و متخصصان برای انتخاب سیستم نمونه‌برداری باز باقی می‌ماند (پاسکارلا و همکاران، ۲۰۰۸، صص۷۹-۸۱؛ ISO 14698-1: 2003).

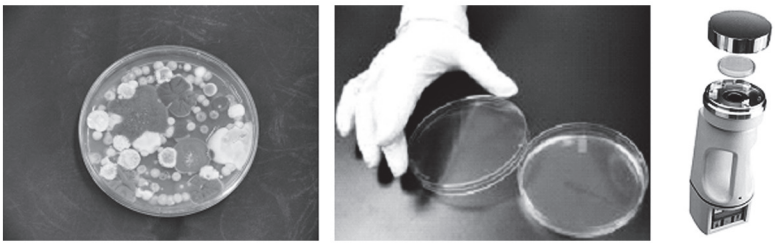
از روش‌های نمونه‌برداری میکروبی از هوای مخازن می‌توان به دو روش نمونه‌برداری

۱. Bio aerosol: بیوآئروسل‌ها ذرات هوابردی هستند که از میکروب، ویروس و عوامل وابسته مشتق می‌شوند و در یک گستره وسیع از نظرِ شکل و اندازه قرار دارند.

۲. Mycotoxin: ترکیبات شیمیایی سمی تولیدشده توسط برخی از قارچ‌ها

3. Sick Building Syndrome

فعال[1] و روش نمونه‌برداری غیرفعال[2] اشاره نمود. در روش نمونه‌برداری فعال با استفاده از یک دستگاه نمونه‌بردار[3] حجم معینی از هوا، از خلال یک سرپوش غربال مانند، که دارای منافذ ریزی با طراحی ویژه است، بر روی یک سطح جذب‌کنندهٔ ذرات از قبیل محیط کشت جامد کشیده می‌شود (تصویر ۱)؛ پس از انکوباسیون[4] و رشد کلنی‌ها (تصویر ۳)، تعداد میکروارگانیسم‌های موجود در هوا برحسب واحد تشکیل‌دهندهٔ کلنی (CFU)[5] در واحد حجم هوا محاسبه می‌شود (CFU/m^3). در پایش غیرفعال از روش پلیت‌گذاری[6] استفاده می‌شود. در این روش پلیت‌های استاندارد حاوی محیط کشت به‌منظور جمع‌آوری ذرات بیولوژیک مدت‌زمان معینی را مستقیماً در معرض هوا قرار می‌گیرند؛ بدین ترتیب میکروارگانیسم‌ها به ذرات معلق بزرگ‌تر موجود در هوا متصل می‌گردند و بر سطح محیط کشت ته‌نشین می‌شوند (تصویر ۲). پس از انکوباسیون نتایج به‌صورت تعداد واحدهای تشکیل‌دهندهٔ کلنی در پلیت در واحد زمانی معین (CFU/Plate/h) یا به شکل تعداد واحدهای تشکیل‌دهندهٔ کلنی در مترمربع ساعت ($CFU/m^2/h$) بیان می‌شود (پاسکارلا و همکاران، ۲۰۰۰، صص ۲۴۱-۲۴۳).



تصاویر ۱،۲ و ۳ (به ترتیب از راست به چپ)

تصویر۱

نمونه‌گیری فعال هوا با استفاده از دستگاه SAS Air sampler

تصویر۲

نمونه‌گیری غیرفعال هوا به روش پلیت گذاری (Settle plates)

تصویر۳

پلیت حاوی کلنی میکروارگانیسم‌ها پس از انکوباسیون

چندین مطالعه به مقایسهٔ بارهای میکروبی حاصل از روش‌های نمونه‌برداری فعال و غیرفعال پرداخته‌اند، اما این مطالعات نتایج متناقضی را به همراه داشته است. در برخی از موارد همبستگی معنی‌داری بین نتایج حاصل از این دو روش نمونه‌برداری مشاهده‌شده است (پِردِلی و همکاران، ۲۰۰۰، ص۳۷۳)؛ درحالی‌که در موارد دیگری این همبستگی وجود نداشت (پِتی و همکاران، ۲۰۰۳، ص۷۲۵). مطالعهٔ دیگری بیانگر تغییرپذیری نتایج حاصل از برخی دستگاه‌های نمونه‌برداری فعال است، که در مکان‌های یکسان به‌طور

1. Active Air Sampling
2. Passive Air Sampling
3. Air sampler
۴. Incubation: قراردادن پلیت‌های حاوی محیط کشت در دمای مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌ها
5. Colony Forming Unit
6. Settle Plates

هم‌زمان نتایج متفاوتی را ارائه می‌دهند (پاسکارلا و همکاران، ۲۰۰۸، ص۱۰۱). به‌طورکلی محققین مختلف نتایج متفاوتی را در خصوص همبستگی بین روش فعال و غیرفعال با استفاده از مدل‌های مختلف دستگاه‌های نمونه‌برداری به دست آورده‌اند (ناپولی و همکاران، ۲۰۱۲، صص ۱۴۷۱–۱۴۷۸).

با توجه به زمینهٔ این تحقیق، تداوم مطالعات به‌منظور بررسی وجود ارتباط واقعی بین این دو روش دارای اهمیت فراوانی است و به پیشنهاد یک پروتکل استاندارد و کاربردی درزمینهٔ فرایند پایش محیطی مخازن منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای منجر خواهد شد.

هدف از این بررسی، مقایسهٔ میان دو روش نمونه‌برداری با کاربرد وسیع برای پایش آلودگی میکروبی مخازن آرشیوی، بررسی میزان همبستگی دو روش یادشده در نتایج میزان بار کلی میکروارگانیسم‌های آلایندهٔ هوا و مقایسهٔ میان درصد فراوانی گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌های جداشده است.

مواد و روش‌ها

محل نمونه برداری

این بررسی در مجموعه‌ای از مخازن آرشیوی سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی ج.ا.ا. (۱۷ مخزن مجهز به سیستم تهویهٔ مرکزی، فاقد فیلترهای هپا[1]) انجام شد.

روش نمونه‌برداری

نمونه‌برداری میکروبی از هوای مخازن با استفاده از پلیت‌های با قطر ۹ سانتی‌متر به دو روش: ۱. نمونه‌گیری فعال، برای اندازه‌گیری غلظت میکروارگانیسم‌ها در هوا و ۲. نمونه‌گیری غیرفعال، برای اندازه‌گیری میزان قرارگیری ذرات زنده بر روی سطوح صورت پذیرفت (ISO14698-1: 2003).

۱. نمونه‌گیری فعال

نمونه‌گیری فعال با استفاده از دستگاه نمونه‌بردار از هوا (ایرسمپلر) DUO SAS 360 (PBI، میلان، ایتالیا)، با جریان ۱۸۰ مترمکعب در دقیقه (m^3/min) انجام شد. دستگاه ایرسمپلر در مخازن، ۱–۱/۵ متر بالاتر از کف و حدود ۱ متر دور از هر مانع فیزیکی مهم قرار داده شد؛ حجم هوای نمونه‌گیری در این بررسی ۵۰۰ مترمکعب در نظر گرفته شد (نمونه‌برداری به‌صورت پنج مرتبه مجزا و هر مرتبه ۱۰۰ مترمکعب با وقفه‌های ۵ دقیقه‌ای انجام پذیرفت).

1. HEPA

۲. نمونه‌گیری غیرفعال

نمونه‌برداری از هوا در این روش با در معرض هوا قرادادن پلیت‌های درباز حاوی محیط کشت و مطابق با طرح ۱/۱/۱ (۱ ساعت، ۱ متر بالای کف و حدود ۱ متر دور از دیوارها و هر مانع مهم) انجام شد.

پس از پایان نمونه‌گیری، پلیت‌ها در دستگاه انکوباتور قرار گرفتند. فرایند نمونه‌گیری از هوا با هردو روش سه بار تکرار شده و میانگین نتایج محاسبه گردید.

روش‌های آزمایشگاهی

در هردو روش نمونه‌برداری فعال و غیرفعال، محیط کشت مورداستفاده برای باکتری‌ها، نوترینت آگار[1] و برای قارچ‌های رشته‌ای، سابورو دکستروز آگار[2] با کلرامفنیکل[3] بوده است. انکوباسیون برای باکتری‌ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و برای قارچ‌ها به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد صورت پذیرفت. پس از شمارش کلنی‌ها، میکروارگانیسم‌های تشکیل‌دهندهٔ کلنی بر اساس ویژگی‌های میکروسکوپی و خواص بیوشیمیایی بر اساس نوع[4] شناسایی شدند. نتایج حاصل از نمونه‌برداری به روش فعال، با استفاده از جدول تبدیل ارائه‌شده توسط سازندهٔ دستگاه ایرسمپلر، معادل‌سازی شد و به‌صورت واحد تشکیل‌دهندهٔ کلنی در مترمکعب (CFU/m^3) بیان گردید؛ نتایج حاصل از روش غیرفعال (CFU/plate/h) پس از انجام محاسبات به واحد $CFU/m^2/h$ تبدیل گردید.

تحلیل‌های آماری

تحلیل آماری نتایج به‌دست‌آمده از دو روش نمونه‌برداری پس از ذخیره در پایگاه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱٦,۰ انجام شد. به‌منظور ارزیابی همبستگی بین نتایج به‌دست‌آمده از دو روش نمونه‌برداری، ضریب همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن (سطح معنی‌داری $\alpha < 0.05$ لحاظ شد) و مدل رگرسیون خطی استفاده شدند. در تحلیل رگرسیون خطی مقدار $P<0.01$، به‌عنوان سطح معنی‌داری مدنظر قرار گرفت.

نتایج

میانگین آلودگی بیولوژیک مخازن تحت پایش به دو روش نمونه‌برداری فعال و غیرفعال در جدول ۱ به‌صورت مجموع ذرات آلایندهٔ قابل‌کشت (TVC)، باکتری‌ها (B) و قارچ‌ها (F) نمایش داده‌شده است و میانگین و انحراف معیار هر ستون از داده‌ها موردمحاسبه قرارگرفته است.

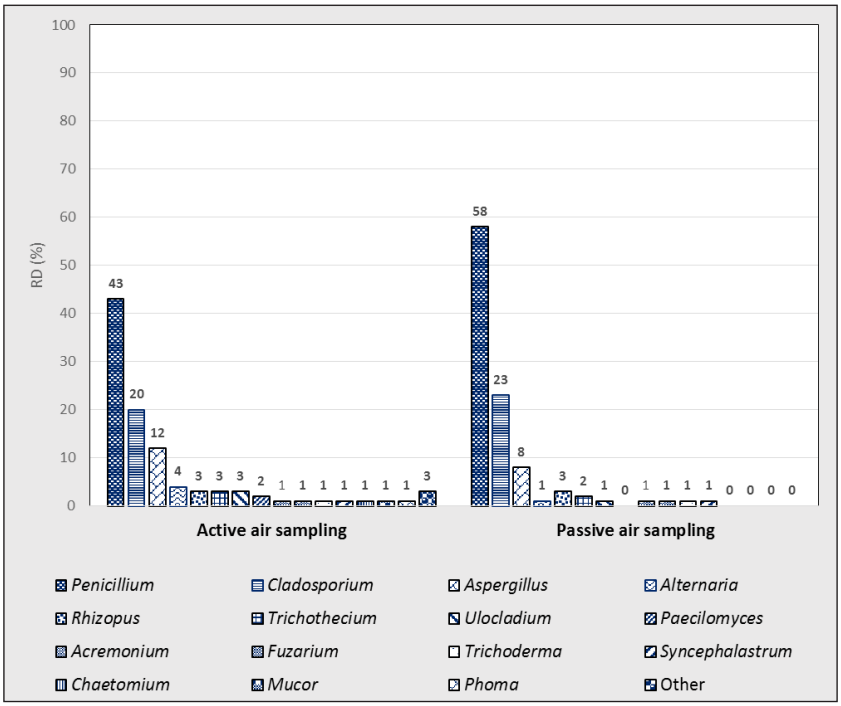
1. Nutrient Agar
2. Sabouraud Dextrose Agar
3. Chloramphenicol
4. Genus

شمارهٔ مخزن	نمونه‌گیری غیرفعال (CFU/m²/h)			نمونه‌گیری فعال (CFU/m3)		
	3B	2F	TVC1	B	F	TVC
R_1	351	2150	2501	8	54	62
R_2	873	5131	6004	14	61	75
R_3	1001	9013	10014	8	50	58
R_4	1321	9179	10500	21	84	105
R_5	1986	12314	14300	13	74	87
R_6	2263	13283	15546	22	90	112
R_7	998	9347	10345	3	72	75
R_8	813	7809	8622	10	33	43
R_9	250	4462	4712	8	47	55
R_{10}	2692	10654	13346	19	78	97
R_{11}	600	11415	12015	17	65	82
R_{12}	1328	6906	8234	16	60	76
R_{13}	901	5100	6001	10	36	46
R_{14}	1123	10416	11539	21	70	91
R_{15}	3002	12985	15987	8	77	85
R_{16}	356	2183	2539	1	29	30
R_{17}	2040	14960	17000	14	91	105
میلگین	1288.12	8665.12	9953.24	12.53	63	75.53
انحراف‌معیار	827.41	3869.08	4533.83	6.27	19.25	23.64

جدول ۱

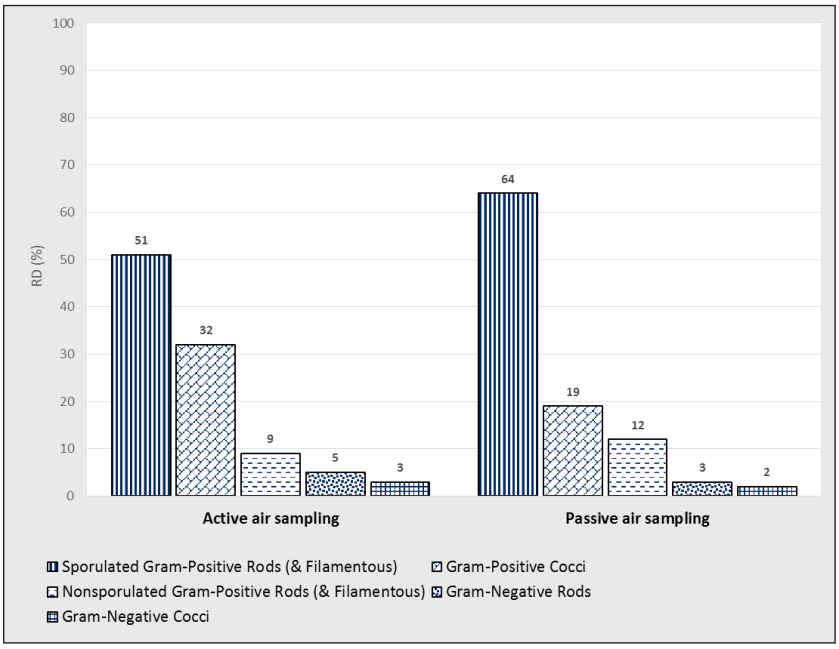
مقادیر آلودگی بیولوژیک هوا در ۱۷ مخزن (R1-R17) پایش شده؛ با دو روش نمونه‌برداری فعال (برحسب CFU/m^3) و نمونه‌برداری غیرفعال (برحسب $CFU/m^2/h$).

پس از شناسایی قارچ‌ها و باکتری‌ها با روش‌های آزمایشگاهی و تست‌های بیوشیمیایی، توزیع فراوانی نسبی آن‌ها در نتایج حاصل از دو روش نمونه‌برداری، موردمحاسبه و ارزیابی قرار گرفت؛ نتایج بررسی توزیع فراوانی نسبی در نمودارهای ۱ و ۲ قابل‌مشاهده است.



نمودار ۱

توزیع فراوانی نسبی (RD %)[1] جنس قارچ‌های آلایندهٔ هوای مخازن تحت پایش، در دو روش نمونه‌برداری فعال و غیرفعال



نمودار ۲

توزیع فراوانی نسبی (RD %) گروه‌های باکتری‌های آلایندهٔ هوای مخازن تحت پایش، در دو روش نمونه‌برداری فعال و غیرفعال

مطابق با نمودار (۲) در این مطالعه باکتری‌های آلایندهٔ هوای مخازن تحت پایش بر

1. Relative Distribution

اساس شکل، وجود اسپور و رنگ‌پذیری گرَم[1] به پنج گروه زیر تقسیم‌شده‌اند:

۱. باکتری‌های میله‌ای (و رشته‌ای) گرم مثبت دارای اسپور (Gram-Positive Rods (& Filamentous Sporulated)

۲. باکتری‌های کروی گرَم مثبت (Gram- Positive Cocci)؛

۳. باکتری‌های میله‌ای (و رشته‌ای) گرم مثبت بدون اسپور (Non Sporulated Gram-Positive Rods (& Filamentous ؛

٤. باکتری‌های میله‌ای گرم منفی (Gram- Negative Rods)؛

۵. باکتری‌های کروی گرم منفی (Gram- Negative Cocci).

از باکتری‌های مهم و معرف هر گروه که در این مطالعه توسط بررسی میکروسکوپی و آزمون‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی قرارگرفته‌اند، می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱. از باکتری‌های میله‌ای (و رشته‌ای)[2] گرم مثبت اسپوردار: Bacillus، Clostridium و Streptomyces؛

۲. از باکتری‌های کروی گرم مثبت اعضای جنس‌های: Staphylococcus، Streptococcus و Micrococcus؛

۳. از باکتری‌های میله‌ای (و رشته‌ای) گرم مثبت بدون اسپور: Nocardia، Arthrobacter و Cellulomonas؛

٤. از باکتری‌های میله‌ای گرم منفی: Acinetobacter و Pseudomonas و برخی از اعضای خانوادهٔ Enterobacteriaceae از قبیل Serratia و Enterobacter.؛

۵. از باکتری‌های کروی گرم منفی: Moraxella .

بررسی درصد فراوانی باکتری‌های آلایندهٔ هوای مخازن در هردو روش نمونه‌برداری فعال و غیرفعال، نشان‌دهندهٔ غالبیت باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی است؛ به صورتی که فراوانی باکتری‌های گرم مثبت در روش فعال ۹۲ درصد و در روش غیرفعال ۹۵ درصد از کل را به خود اختصاص می‌دهند. در هر دو روش نمونه‌گیری، گروه باکتری‌های گرم مثبت میله‌ای (و رشته‌ای) اسپوردار دارای بالاترین فراوانی بوده و از باکتری‌های معرف آن‌ها می‌توان به گونه‌های جنس Bacillus و باکتری رشته‌ای Streptomyces اشاره نمود.

تعیین کورولاسیون غیر پارامتری[3] با آزمون اسپیرمن[4] نشان‌دهندهٔ وجود همبستگی بین نتایج حاصل از دو تکنیک نمونه‌برداری است ($r_s = 0.811$). با افزایش تعداد واحد تشکیل‌دهندهٔ کلنی در واحد مترمکعب، شاخص آلودگی در سطح نیز افزایش‌یافته است ($\alpha<0.05$). همچنین به‌واسطهٔ مدل رگرسیون[5] همبستگی بین روش‌های نمونه‌برداری (R Square = 0.621؛ $F = 24.55$؛ $P<0.01$) نشان داده شد (نمودار ۳).

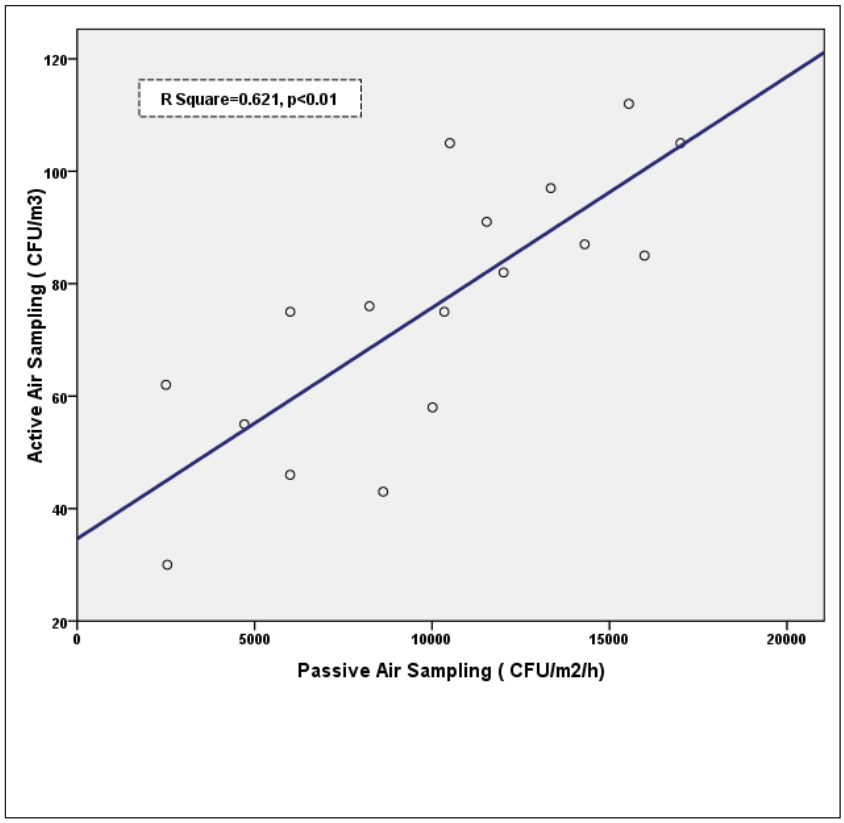
۱. رنگ‌آمیزی گرم (به انگلیسی: Gram staining) یکی از مهم‌ترین و متداولترین روش‌های رنگ‌آمیزی در میکروبیولوژی است که اولین بار توسط کریستین گرم ابداع شد. دراین رنگ آمیزی باکتری‌ها بر مبنای رنگ باکتری پس ازرنگ آمیزی به دودسته گرم مثبت و گرم منفی تقسیم می‌شوند. رنگ باکتری پس ازرنگ آمیزی به توانایی حفظ رنگ اول وبه عبارتی به ساختمان دیواره سلولی باکتری بستگی دارد.

۲. برخی از میکروارگانیسم‌های شناسایی‌شده در این مطالعه از قبیل Streptomyces و Nocardia در گروه اکتینومیست‌ها قرار دارند و رشته‌های هوایی بلندی را ایجاد می‌نمایند؛ که با توجه به واکنش رنگ‌آمیزی گرم و سایر ویژگی‌های دیواره سلولی، در سلسله باکتری‌ها طبقه‌بندی‌شده‌اند.

۳. تعیین کورولاسیون غیر پارامتری، بررسی میزان همبستگی میان دو مجموعه داده، با توزیع غیر نرمال، می‌باشد.

۴. یکی از آزمون‌های میزان همبستگی میان دو مجموعه داده می باشد. ضریب همبستگی اسپیرمن با r_s یا حرف یونانی ρ نشان داده می‌شود؛ که آماره‌ای ناپارامتری برای سنجش ضریب همبستگی بین دو متغیر تصادفی است.

۵. تحلیل رگرسیون، فن و تکنیکی برای بررسی و مدل سازی ارتباط میان متغیرها می‌باشد.



نمودار ۳

همبستگی بین مقادیر TVC که به‌طور هم‌زمان از طریق دو روش نمونه‌برداری فعال برحسب CFU/m^3 و روش نمونه‌برداری غیرفعال برحسب $CFU/m^2/h$ موردبررسی قرارگرفته است.

بحث

همبستگی میان نتایج حاصل از نمونه‌برداری فعال و غیرفعال اولین بار در مطالعات صورت پذیرفته توسط اُملیانسکی[1] نشان داده‌شد و همبستگی موجود با فرمولی بیان گردید (آواد و عبدالمولا، ۲۰۱۲، صص ۱۵۳۹-۱۵٤۱)؛ که برای محاسبه و بیان نتایج بررسی آلودگی بیولوژیک هوا برحسب CFU/m^3 در مطالعات برخی از محققین مورداستفاده قرارگرفته است؛ اما به اظهار برخی از این پژوهشگران اطلاعات قابل استنادی، در خصوص ارتباط و همبستگی داده‌های حاصل از انجام محاسبات با فرمول ابداعی دانشمند یادشده و نتایج حاصل از نمونه‌گیری هوا با دستگاه Air sampler موجود نیست و داده‌های حاصل از این فرمول فقط برای بحث و مقایسهٔ فراوانی میکروبی مکان‌های مختلف قابل‌استفاده است (بورگو و همکاران، ۲۰۱۰، ص ۱٤۰، ۲۰۱۲، ص ۲).

در مطالعات دیگری با انجام نمونه‌برداری فعال با وقفه‌های منظم در طول زمان (مشابه با تکنیک به کار گرفته‌شده در این تحقیق)، همبستگی بین دو روش نمونه‌برداری مورد

1. Omeliansky

تأیید قرار گرفت. چون فقط یک‌بار کشیده شدن هوا به داخل دستگاه در طول مدت‌زمانی کوتاه، آلودگی را فقط در آن بازهٔ زمانی شناسایی می‌کند بنابراین قادر به تشخیص آلودگی شناسایی‌شدهٔ توسط روش غیرفعال در طول بازهٔ زمانی کامل نیست (ناپولی و همکاران، ۲۰۱۲، ص٦؛ پردلی و همکاران، ۲۰۰۰، ص۳۷۸).

باوجوداینکه هیچ استاندارد بین‌المللی برای تعیین آلودگی یا آلوده نبودن فضای داخلی[1] وجود ندارد؛ به پیشنهاد برخی از محققین، بهتر است محیط‌های با شیوع میکروارگانیسم‌ها به میزان بالاتر از ۱۰۰۰ CFU/m^3 آلوده در نظر گرفته شوند (نِوالیان و موراواسکا، ۲۰۰۹، ص ٦۲). به نظر نویسندگان دیگری مجموع میزان آلودگی (با احتساب میزان قارچ‌ها و باکتری‌ها) نباید از ۷۵۰CFU/m^3 تجاوز نماید و مقادیر بالاتر از این عدد در فضاهای داخلی مختلف ازجمله مخازن آرشیو و کتابخانه‌ها آلوده حساب می‌شود (رادلر و همکاران، ۲۰۰۰، صص۵٤۹-۵۵۳). برخی دیگر از محققین بر این عقیده‌اند که مقدار ۳۰۰ CFU/m^3 باید به‌عنوان سطح هشدار آلودگی قارچی در نظر گرفته شود (کاپیتِلی و همکاران، ۲۰۰۹، ص۱۱۱). از طرفی به تصویب وزارت فرهنگ کشور ایتالیا میزان آلودگی بیولوژیک هوا در مخازن آرشیو، کتابخانه‌ها و موزه‌های این کشور نباید از ۷۵۰ CFU/m^3 برای باکتری‌ها و ۱۵۰ CFU/m^3 برای قارچ‌ها، بالاتر باشد (بورگو و دیگران، ۲۰۱۲، ص ٦).

سطح هشدار آلودگی بیولوژیک هوای مخازن نگهداری از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای در اداره کل حفاظت و نگهداری سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی ج.ا.ا. ، با استفاده از استانداردهای پایش و کنترل فضاهای حساس (از قبیل GMP[2] وISO) ۱۰۰ CFU/m^3 تعیین گردیده است (WHO، ۲۰۱۱، ص ۲٦۸؛ ISO 14644-1:2015). کنترل و حفظ تراکم میکروارگانیسم‌ها در محدودهٔ مجاز، برای تضمین حفاظت پیشگیرانه از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای و تأمین سلامت کارکنان و مراجعه‌کنندگان بسیار مؤثر است؛ که با پایش مستمر پارامترهای محیطی و آلودگی بیولوژیک هوای مخازن، اجرای دستورالعمل‌های غبارزدایی و ضدعفونی، کنترل راه‌های ورود آلودگی و رعایت اصول بهداشتی و حفاظتی توسط کارکنان، تأمین می‌گردد.

بررسی نمودارهای مقایسهٔ درصد فراوانی گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها در این مطالعه نشان‌دهندهٔ میزان بالاتر سه جنس قارچی Cladosporium، Penicillium و Aspergillus در هر دو روش نمونه‌برداری از هوا است. این سه جنس قارچی به‌عنوان جنس‌های غالب میکروارگانیسم‌ها در مخازن تحت بررسی در جاهای دیگر هم مطرح می‌باشند؛ که نشان می‌دهد نتایج این تحقیق با نتایج حاصل از سایر مطالعات صورت پذیرفته در خصوص آلودگی بیولوژیک هوای مخازن منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای (بورگو و دیگران، ۲۰۱۰، ص ۱٤۲، ۲۰۱۲،

1. Indoor
2. Good manufacturing Practice: شامل مباحث مدیریت تولید و کنترل کیفیت تولیدات غذایی، صنایع داروسازی و پزشکی است

ص ٦ ؛ گویامت و دیگران، ۲۰۱۱، ص۲۳۱؛ والنتین، ۲۰۱۰، ص٤) مشابهت دارد.

از طرفی نمودار درصد فراوانی قارچ‌ها (نمودار ۱)، نشان‌دهندهٔ قابلیت جداسازی تنوع بالاتری از جنس‌های قارچی با روش نمونه‌برداری فعال است؛ داده‌های حاصل از مطالعات دیگر نیز مؤید مناسب بودن نمونه‌برداری به روش فعال، در مقایسه با روش پلیت گذاری، برای جمع‌آوری گونه‌های قارچی است (آصفا و دیگران، ۲۰۰۹، ص۹۹۸).

بررسی درصد فراوانی گروه‌های باکتریایی (نمودار ۲)، نشانگر غالب بودن باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در هوای مخازن است؛ که با سایر مطالعات صورت پذیرفته در خصوص پایش هوای آرشیوها و کتابخانه‌ها همسو است (والنتین، ۲۰۰۷، ص ۸ ؛ بورگو و همکاران، ۲۰۱۰، ص ۱٤۱، ۲۰۱۲، ص ٤).

باکتری‌های اسپوردار شناسایی‌شده در این مطالعه، از قبیل گونه‌های جنس Bacillus و Streptomyces دارای توزیع وسیعی در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای می‌باشند؛ به نظر می‌رسد مقاومت اسپور باکتری‌ها به تغییرات شرایط محیطی مهم‌ترین عامل فراوانی این میکروارگانیسم‌ها در فضاهای موردبحث باشد (والنتین، ۲۰۱۰ ، ص ۱۰). جنس‌های Staphylococcus و Streptococcus شناسایی‌شده در این مطالعه به‌صورت گسترده‌ای در طبیعت پراکنده‌اند و از اعضای اصلی فلور میکروبی طبیعی پوست انسان نیز محسوب می‌گردند؛ که می‌تواند دلیلی بر حضور قابل‌توجه آن‌ها در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای نیز باشد.

برخی از گونه‌های Nocardia، Clostridium، Streptococcus، Staphylococcus و Bacillus از عوامل بیماری‌زا برای انسان می‌باشند (بورگو و دیگران، ۲۰۱۰، ص ۱٤۳)؛ علاوه بر آن گونه‌های جنس Streptomyces به دلیل ایجاد مشکلات تنفسی برای انسان، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ریسک در محیط کار مطرح است (رینتالا و همکاران، ۲۰۰۸، صص۱۰۲-۱۰۳).

برخی از باکتری‌های گرم منفی شناسایی‌شدهٔ در این بررسی، از قبیل Moraxella، Enterobacter، Pseudomonas، Serratia و Acinetobacter، در سایر مطالعات انجام شده در فضاهای کتابخانه‌ای و آرشیوی نیز وجود داشته است (والنتین،۲۰۰۷، صص ٦-۱۱؛ بورگو و دیگران، ۲۰۱۰، ص ۱٤۱). باکتری‌های گرم منفی، به علت تولید اِندوتوکسین[1]، احتمال بروز التهاب در سیستم تنفسی، تب و لرز، بی‌قراری و سردرد را فراهم می‌نمایند؛ همچنین قرارگیری مستمر در معرض این ترکیبات منجر به بروز برونشیت و آسم می‌گردد (بورگو و دیگران، ۲۰۱۰، صص ۱٤۰-۱٤۱).

مجموعهٔ باکتری‌های جداشده از هوای مخازن (شامل گونه‌هایی از جنس‌های: Bacillus، Cellulomonas، Arthrobacter، Nocardia، Streptomyces، Clostridium و Pseudomonas)

1. Endotoxin

مشابه با ترکیب باکتری‌ها و اکتینومیست‌های (باکتری‌های رشته‌ای) خاک است (میشرا، ۱۳۸۵، صص ۳۵–۴۰)؛ با توجه به مجهز نبودن سیستم تهویهٔ مطبوع مخازن به فیلترهای دارای کارایی بالا، حضور این باکتری‌ها در هوای مخازن را می‌توان به گردوغبار و ذرات معلق واردشده از طریق سیستم تهویهٔ مرکزی ارتباط داد.

بسیاری از گونه‌های باکتریایی شناسایی‌شده در این مطالعه، از قبیل: Bacillus، Strep-tomyces، Cellulomonas، Nocardia و Pseudomonas با تولید انواع آنزیم‌های هیدرولیتیک و تجزیه‌کنندهٔ ترکیبات آلی (از قبیل سلولز و همی سلولز) قادر به تخریب زیستی مواد آرشیوی و کتابخانه‌ای موجود در مخازن می‌باشند (رامیرز و کوها، ۲۰۰۳، صص ۷۰–۷۱؛ میشرا، ۱۳۸۵، صص ۱۰۲–۱۰۸).

نتیجه

کیفیت میکروبیولوژیک هوا در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای یک پارامتر دارای اهمیت در کنترل آسیب‌های ناشی از عوامل بیولوژیک است و پایش میکروبی منظم ابزاری سودمند در ارزیابی محیطی برای حفاظت پیشگیرانه و شناسایی وضعیت‌های بحرانی نیازمند اقدامات اصلاحی است.

محتوای میکروبیولوژیک هوا از طریق دو روش اصلی، یعنی روش فعال و غیرفعال، قابل پایش است. باوجوداین، در حال حاضر پروتکلی اختصاصی برای نمونه‌برداری از هوا در مخازن نگهداری از منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای در استانداردهای بین‌المللی وجود ندارد. به‌علاوه، مطالعات قبلی به علت تفاوت در دستگاه‌های نمونه‌بردار مورد استفاده، مکان‌های نمونه‌برداری و پارامترهای متفاوت (حجم هوای نمونه‌برداری شده، مدت‌زمان نمونه‌برداری، نقاط نمونه‌برداری و ...) نتایج متناقضی را به همراه داشته‌اند. بر اساس مطالعهٔ کنونی، درصورتی‌که از یک پروتکل سخت‌گیرانه پیروی شود، نتایج نمونه‌برداری به روش فعال و غیرفعال با یکدیگر همبستگی دارند. به‌منظور تأیید نتایج حاصل‌شده لازم است مطالعات بیشتری انجام شود.

نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر امکان استفاده از هر دو روش برای ارزیابی کلی آلودگی هوا، به شکل پایش‌های ادواری، است. باوجوداین، به‌منظور دستیابی به اطلاعات اختصاصی، لازم است یکی از این دو روش انتخاب گردند؛ به‌عنوان‌مثال، اگر نمونه‌برداری هوا به‌منظور بررسی ریسک آلودگی منابع موجود در مخزن انجام می‌شود، نمونه‌برداری غیرفعال، روش بهتری نسبت به نمونه‌برداری بر پایهٔ حجم‌سنجی است؛ چون این روش تعداد میکروارگانیسم‌های قرارگرفته بر روی سطوح را اندازه‌گیری می‌نماید؛ در مقابل، اگر

نمونه‌برداری به‌منظور دستیابی به اطلاعات تمامی ذرات زندهٔ قابل استنشاق انجام می‌شود، بهتر است روش فعال ترجیح داده شود.

منابع

کتاب‌های فارسی

رئیس‌نیا، نگار(۱۳۹۰). ***اطلس قارچ‌شناسی (قارچ‌های آسیب‌رسان به منابع آرشیوی و کتابخانه‌ای)***. تهران: انتشارات سازمان اسناد و کتابخانهٔ ملی.

گالو، فوستاو(۱۳۷۱). ***نقش عوامل بیولوژیک در فرسایش کاغذ***. (عابدی استاد، عباسعلی، مترجم). مشهد: انتشارات کتابخانهٔ مرکزی آستان قدس رضوی.

میشرا، آر. آر.(۱۳۸۵). ***میکروبیولوژی خاک***. (فلاح، علیرضا، مترجم). تهران: انتشارات آییژ.

منابع لاتین

Asefa, D.T.; Gjerde, R.O.; Sidhu, M.S.; Langsrud, S.; Kure, C.F.; Nesbakken, T. & Skaar, I.(2009). "The performance of SAS-super-180 air sampler and settle plates for assessing viable fungal particles in the air of dry-cured meat production facility". ***Food Control***, 20, pp997–1001.

Awad, A. & Abdel Mawla, H. (2012). "Sedimentation with the Omeliansky Formula as an Accepted Technique for Quantifying Airborne Fungi". ***Enviromental Studies***, 21(6), pp1539-1541.

Borrego, S.; Gomez de Saravia, S.; Lavin, P.; Perdomo, I. & Guiamet, P.(2012)."Determination of Indoor Air Quality in Archives and Biodeterioration of Documantary Heritage". ***International Scholary Research Network, ISRN Microbiology***, Article ID 680598.

Borrego, S.; Guiamet, P.; Gomez de Saravia, S.; Batistini, P.; Garcia, M.; Lavin, P. & Perdomo, I.(2010). "The quality of air at archives and biodeterioration of photographs". ***International Biodeterioration & Biodegradation,*** 64, pp139-145.

Cappitelli, F.; Fermo, P.; & Vecchi, R.(2009). "Chemical-physical and microbiological measurements for indoor air quality assessment at the ca' granda historical archive". ***Water, Air, and Soil Pollution,*** 201(1), pp109–120.

Florian, M. L. E.(2004). Fungal Facts. ***Solving Fungal Problems in Heritage Collections.*** London: Archetype Publications.

Guiamet, P.; Borrego, S.; Lavin, P.; Perdomo, I. & Saravia, S. G. D.(2011). "Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba". ***Colloids and Surfaces,*** 85(2), pp229–234.

Huttunen, K.; Hyvarinen, A.; Nevalainen, A.; Komulainen, H. & Hirvonen, M. R.(2003). "Production of proinflammatory mediators by indoor air bacteria and fungal spores in mouse and human cell lines". ***Environmental Health Perspectives,*** 111(1), pp85–92.

ISO 14644-1.(2015). Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration Classification of air cleanliness.

ISO 14698-1.(2003). Clean rooms and associated controlled environments -Biocontamination control. Part 1. General principles and methods.

Napoli, C.; Marcotrigiano, V. & Montagna, M. T.(2012). "Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres". ***BMC Public Health,*** 12 (594), pp1471-1478.

Nevalainen, A. & Morawaska, L.(2009). "Biological Agents in Indoor Environments. Assessment of Health Risks". Work conducted by a WHO Expert Group between 2000–2003, QUT, 2009, http://www.ilaqh.qut.edu.au/Misc/BIOLOGICALAGENTS,2009.pdf

Pasquarella, C.; Albertini, R.; Dall'aglio, P.; Saccani, E.; Sansebastiano, GE. & Signorelli, C.(2008). "Air microbial sampling: the state of the art". ***Ig Sanita Pubbl,*** 64, pp79–120.

Pasquarella, C.; Pitzurra, O.; Savino, A.(2000). "The index of microbial air contamination". ***J. Hosp. Infect,*** 46, pp241–256.

Pasquarella, C.; Saccani, E.; Sansebastino, G. E.; Ugolotti, M.; Pasquariello, G. & Albertini, R.(2012). "Proposal for a biological environmental monitoring approach to be used in libraries and archives". ***Annals of agricultural and Environmental Medicine*** 19 (2), 209-212.

Perdelli, F.; Sartini, M.; Orlando, M.; Secchi, V. & Cristina, ML.(2000). "Relationship between settling microbial load and suspended microbial load in operating rooms". ***Ann. Ig,*** 12, pp373–380.

Petti, S.; Iannazzo, S.; Tarsitani, G.(2003). "Comparison between different methods to monitor the microbial level of indoor air contamination in the dental office". ***Ann. Ig,*** 15, pp725–733.

Pinzari, f.; Pasquariello, G. & De Mico, A.(2006). "Biodeterioration of paper: A SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions". ***Macromolecular Symposia,*** 238, pp57–66.

Radler de Aquino, F. & de G´ oes, L. F.(2000). "Guidelines for indoor air quality in offices in Brazil". ***Proceedings of Healthy Buildings,*** 4, pp549–553.

Ramirez, P. & Coha, J. M.(2003). "Enzymatic degradation of cellulose for thermophilic actinomycete: isolation, characterization and cellulolytic activity determination". ***Revista Peruana de Biología,*** 10, pp67-77.

Rintala, H.; Pitk¨aranta, M.; Toivola, M.; Paulin, L. & Nevalainen, A.(2008). "Diversity and seasonal dynamics of bacterial community in indoor environment". ***BMC Microbiology,*** 8(56), pp1-13.

Sterflinger, K.; Pinzari, F.(2012). "The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment". ***Environmental Microbiology,*** 14(3), pp559-566.

Valentın, N.(2010). "Microorganisms in museum collections". ***Coalition,*** 19, pp2–6.

Valentın, N.(2007). "Microbial Contamination in Archives and Museums: Health Hazards and Preventive Strategies Using Air Ventilation Systems". ***Contribution to the Experts' Roundtable on Sustainable Climate Management Strategies.*** Retrieved from The Getty conservation institute website:_http://www.getty.edu/conservation/our_projects/science/climate/paper_valentin.pdf.

WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products, WHO Technical Report Series, No. 961,)2011),pp 261- 284. from http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js19959en/

WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Dampness and Mould". In: World Health Organization, (2009), pp13-20. from http://www.who.int/indoorair/publications/7989289041683/en/