



بازطراحی و ساخت یک نمونه بردار بیوسمپلر و ارزیابی راندمان جمع آوری آن

محمدهاشمی^۱، رضا یارمحمدی^۲، سعید یوسفی نژاد^۳، مرضیه غلامپور^۴، سعید جعفری^{۵*}

چکیده

مقدمه: درک ماهیت و غلظت ویروس‌های هوابرد مانند SARS-CoV-2، آنفولانزا و سرماخوردگی برای ارزیابی ریسک انتقال و تدوین اقدامات پیشگیرانه ضروری است. این مطالعه با هدف بررسی راندمان نمونه بردارهای بیوسمپلر و ایمپینجر در شناسایی این ویروس‌ها در هوای داخل مراکز درمانی یکی از شهرهای جنوبی ایران انجام شد. همچنین مراحل بازطراحی و ساخت نمونه بردار بیوسمپلر ارائه گردیده است.

روش بررسی: نمونه بردار بیوسمپلر با استفاده از منابع علمی بازطراحی و در یک مرکز تولید تجهیزات آزمایشگاهی ساخته شد. راندمان جمع آوری آن در فلوهای مختلف و حجم‌های متفاوت مایع جاذب بررسی گردید. نمونه برداری همزمان با ایمپینجر (۲ لیتر/دقیقه) و بیوسمپلر (۱۵ لیتر/دقیقه) انجام شد. از پمپ Munro L40 و سهرای برای اتصال همزمان دو نمونه بردار استفاده شد. آنالیز نمونه‌ها با RT-PCR صورت گرفت. در مجموع ۲۰ نمونه از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع آوری و پارامترهایی مانند دما، رطوبت، دبی جریان هوا و تعداد تعویض هوا اندازه گیری شد.

نتایج: میزان دبی هوا از مقدار ۵ L/min تا ۲۰ L/min ارزیابی گردید و از دبی ۱۵ Lit/min راندمان به حداکثر می‌رسید و افزایش آن بدون تأثیر بود. حجم مایع جمع آوری کننده از ۱۰ ml تا ۲۵ ml بررسی گردید و بهترین راندمان در مقدار حجم ۲۵ ml مشاهده گردید. همچنین در هیچ کدام از نمونه‌های هوا، RNA ویروس‌های SARS-CoV-2، آنفولانزا و سرماخوردگی شناسایی نشد.

نتیجه گیری: در هیچ کدام از نمونه‌های تهیه شده با بیوسمپلر و ایمپینجر ویروسی شناسایی نگردید که دلیل آن ممکن است به تأثیر دما و رطوبت هوای فضای نمونه برداری بر ماندگاری ویروس‌های هوابرد، تعداد اندک ذرات حاوی ویروس در هوا و عدم شناسایی توسط روش آنالیز باشد.

واژه‌های کلیدی: کیفیت هوای داخل، بیوسمپلر، ایمپینجر، بیوآئروسل، ویروس‌های منتقله از طرق هوا

^۱ کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^۲ کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^۳ دانشیار، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^۴ دکتر، گروه معماری، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

^۵ استادیار، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

* (نویسنده مسئول)؛ شماره تماس: ۰۹۱۷۷۰۳۳۵۶۹، پست الکترونیک: Jafari4514@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۳/۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۸/۶

مقدمه

آئروسول‌های زیستی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، گرده‌ها و فرآورده‌های جانبی آن‌ها در هوا، به‌عنوان آلاینده‌های بیولوژیکی شناخته می‌شوند. این آلاینده‌ها منجر به انتقال بیماری‌های عفونی در بیمارستان‌ها می‌شوند و طیف گسترده‌ای از اثرات سلامتی برای بیماران و کارکنان مراکز درمانی به دنبال دارند (۲،۱). محیط‌های داخلی بیمارستان‌ها می‌توانند مکانی بالقوه برای انتقال ویروس‌های منتقله از طریق هوا باشند. از آنجاکه پرستاران و کارکنان بخش درمان در مواجهه با فرد بیمار قرار دارند، ریسک ابتلای این افراد بسیار بالا است (۳).

ظهور بیماری‌های قابل انتقال از طریق هوا با دوره‌های کمون طولانی و امکان انتشار سریع در این دوره از فرد فاقد علائم شدید، همان‌طور که در همه‌گیری اخیر کووید-۱۹ مشاهده گردید، علاوه بر آزمایش‌های تشخیصی میزبان آلوده، اندازه‌گیری مستقیم ویروس‌ها در نمونه‌های هوا به یک نیازی ضروری تبدیل شده است (۴). آگاهی از ماهیت، غلظت و بیماری‌زایی ویروس‌های موجود در هوا و درک بهتر ریسک ناشی از این ویروس‌ها، در ارائه اقدامات پیشگیرانه مناسب‌تر مفید واقع خواهد شد. برای این منظور از روش‌های مختلف نمونه‌گیری هوا می‌توان بهره برد. اکثر دستگاه‌های نمونه‌برداری بیوآئروسول شامل تکنیک‌هایی هستند که ذرات را از جریان هوا جدا می‌کند و سپس آن‌ها را درون یا روی یک محیط از پیش انتخاب‌شده جمع‌آوری می‌کند. رایج‌ترین نمونه‌برداری بیوآئروسول‌ها به چهار گروه کلی شامل ایمپکتورها (Impactors)، فیلترها (Filters)، ایمپینجرها (Impinges) و سیکلون‌ها (Cyclones) طبقه‌بندی می‌شوند (۵-۷). برخی از سیستم‌های پایش بیوآئروسول نیز در دسترس هستند که نیازی به جداسازی ذرات بیوآئروسول قبل از تجزیه و تحلیل ندارند. هریک از این روش‌ها و نمونه‌بردارها معایب و مزایایی دارند. به طور کلی نمونه‌برداری مطلوب است که بتواند ذرات بیولوژیک هدف از جمله قطرات حاوی ویروس را با اندازه‌های مختلف در فضای موردنظر بدون آسیب رساندن به ساختار بیوآئروسول و با راندمان مناسب جمع‌آوری نماید و با روش آنالیز موردنظر سازگاری داشته باشد (۴).

مکانیسم جداسازی بیوآئروسول‌ها در ایمپکتورها به این شکل است که عبور جریان هوا از درون نازل‌هایی با اندازه

مشخص سبب شتاب گرفتن جریان می‌گردد و در نتیجه ذرات بیوآئروسول موجود در جریان به دلیل مقدار تکانه بالا از خطوط جریان منحرف شده و با صفحه جمع‌آوری که معمولاً یک فیلتر یا صفحه آگار است، برخورد می‌کنند. صفحات برخوردی را می‌توان پس از نمونه‌برداری شست و محلول شسته شده را آنالیز نمود. به طور کلی، کوچک‌ترین قطر برش یک نمونه‌بردار ایمپکتور حدود ۰/۲ تا ۰/۳ میکرومتر است که برای نمونه‌برداری از قطرات ریز هوابرد حاوی ویروس کافی است اما قادر به جمع‌آوری ذرات ویروس منفرد نیست (۴). ایمپکتورهای با قطر نازل کوچک‌تر، شتاب و در نتیجه تکانه بالاتری به بیوآئروسول‌ها اعمال می‌کنند و امکان جمع‌آوری ذرات کوچک‌تر را فراهم می‌کنند، اما ساخت چنین ایمپکتورهایی دشوار است و سرعت جریان برخوردی حاصل ممکن است سبب شود که به ذرات ویروس آسیب وارد شود (۸).

مکانیسم نمونه‌برداری توسط ایمپینجرها مشابه ایمپکتورها است با این تفاوت که ایمپینجرها حاوی یک مخزن مایع برای جمع‌آوری نمونه‌ها است. یکی از مزایای ایمپینجرها در مقایسه با ایمپکتورها، بازیابی بیولوژیکی بالاتر آن‌ها است، اگرچه ایمپینجرها راندمان جمع‌آوری فیزیکی پایینی برای ذرات کوچک مانند ویروس‌ها دارند. بیوسمپلر یکی از پرکاربردترین ایمپینجرها است که اخیراً به عنوان نمونه‌بردار مرجع برای بیوآئروسول‌ها در نظر گرفته شده است. ویروس‌های جمع‌آوری‌شده با بیوسمپلر دارای قدرت زیست‌پذیری تا حدود چهار برابر بیشتر از نمونه‌بردار NIOSH است (۹).

مطابق با مطالعات انجام‌شده، نمونه‌بردارهای ایمپکتور جامد (Solid Impactors) مؤثرتر از نمونه‌بردارهای ایمپکتور مایع (Liquid Impactors) یا فیلترها هستند. استفاده از روش‌های ترکیبی نیز توصیه شده است (۱۰).

نمونه‌بردارهای سیکلونی یکی دیگر از تجهیزات جمع‌آوری بیوآئروسول‌ها است. سیکلون‌ها از یک بدنه استوانه‌ای تشکیل شده‌اند که مجهز به یک ورودی مماسی هستند. این ساختار سبب ایجاد جریان چرخشی داخل استوانه شده و نیروی گریز از مرکز تولیدشده سبب پرتاب ذرات از جمله بیوآئروسول‌های موجود در جریان به سمت دیواره می‌گردد. در سیکلون‌ها فقط ذرات بزرگ‌تر از قطر برش از خطوط جریان منحرف شده و به

سبب می‌گردد که مایع جمع‌آوری‌کننده درون مخزن روی دیواره بیوسمپلر پخش شده و این عمل باعث افزایش راندمان جمع‌آوری می‌گردد. همچنین روش نمونه‌برداری با بیوسمپلرها به نسبت ایمپینجرها کم مخرب‌تر است (۱۴). در مقایسه با نمونه‌بردار NIOSH میزان زنده ماندن ویروس‌های جمع‌آوری‌شده با بیوسمپلر حدود ۴ برابر بیشتر است (۹).

اگرچه سازمان NIOSH نمونه‌بردار اندرسن را برای نمونه‌برداری از بیوآئروسول‌های باکتریایی و قارچی توصیه کرده است، اما تاکنون هیچ روش نمونه‌برداری استاندارد برای ویروس‌های موجود در هوا وجود ندارد (۴).

ویروس‌های موجود در هوا هنگام نمونه‌برداری و آنالیز در معرض گستره وسیعی از تنش‌های محیطی مانند کم‌آبی، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند ازن، نور ماوراءبنفش و آسیب مکانیکی در زمان آئروسول شدن، تبدیل به ذرات هوابرد و نمونه‌برداری قرار دارند (۴).

راه‌های انتقال ویروس همیشه در محیطی با پارامترهای نامشخص به راحتی قابل تشخیص و شناسایی نیست. مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (Center for Disease Control and Prevention)، سه راه اصلی انتقال ویروس‌ها از طریق هوا را به شرح زیر معرفی کرده است: انتقال مستقیم قطرات بزرگ بین افراد با فاصله نزدیک از یکدیگر؛ رسوب غیرمستقیم قطرات تنفسی روی سطوح و اشیاء و انتقال بعدی از طریق محیط آلوده (فومیت)؛ انتقال از طریق هوا به وسیله ذرات آئروسول کوچک حاوی ویروس زنده (۱۵). نتایج برخی مطالعات (۱۶، ۱۷)، انتشار هوابرد آئروسول‌های زیستی در فضای داخل را تأیید می‌کند.

نمونه‌برداری از ذرات ویروس در هوای داخل بیمارستان‌ها در مطالعات متعددی صورت گرفته است. در مطالعات انجام‌شده در این زمینه، با روش‌های مختلف نمونه‌برداری، بیشتر به مقایسه تراکم ویروسی در بخش‌های مختلف بیمارستان پرداخته شده است.

اگرچه یافته‌های این مطالعات می‌تواند در تعیین مکان‌های بالقوه آلودگی مفید واقع شود، مطالعات بیشتری درباره مکانیسم‌های بالقوه انتشار ویروس‌های کووید-۱۹، آنفولانزا و سرماخوردگی ضروری به نظر می‌رسد. لازم به ذکر است که در بسیاری از مطالعات انجام‌شده، در هیچ‌یک از نمونه‌ها، ویروس شناسایی نشده است. باین‌حال، به تأثیر عملکرد نمونه‌بردار در

دیواره جمع‌آوری برخورد می‌کنند. از سیکلون‌ها می‌توان برای جمع‌آوری ذرات با حجم جریان بالا استفاده نمود اما راندمان جمع‌آوری آن‌ها پایین‌تر از ایمپکتورها است (۴).

NIOSH یک نمونه‌بردار سیکلون خشک دو مرحله‌ای قابل حمل همراه با یک فیلتر تعبیه‌شده در خروجی آن را توسعه داده است (۱۱).

مراحل اول و دوم نمونه‌بردار به ترتیب ذرات غیرقابل استنشاق بزرگ‌تر از ۴ میکرومتر و ذرات بین ۱ تا ۴ میکرومتر را جمع‌آوری می‌نمایند و در مرحله سوم ذرات کوچک‌تر از ۱ میکرومتر توسط فیلتر PTFE نمونه‌برداری شده و سپس بیوآئروسول‌های جمع‌آوری‌شده شسته می‌شوند (۱۲).

فیلتراسیون یک روش رایج برای نمونه‌برداری از ذرات هوابرد است که برای نمونه‌برداری از بیوآئروسول‌ها هم قابل استفاده است. فیلترها دارای راندمان نمونه‌برداری بالایی هستند و معمولاً برای طیف وسیعی از اندازه آئروسول‌ها راندمان آن‌ها بالاتر از ۹۵٪ است و به راحتی می‌توان از آن‌ها استفاده نمود. باین‌حال، خشک شدن نمونه‌های ویروسی و آسیب فیزیکی به نمونه‌ها در طی نمونه‌برداری و فرآیند استخراج سبب می‌گردد تا بازیابی بیولوژیکی آن‌ها به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار گیرد. رایج‌ترین فیلتر مورد استفاده برای نمونه‌برداری از آئروسول‌های ویروسی، فیلتر ژلاتینی است که می‌توان آن را به راحتی در محیط کشت حل کرد تا پس از گرفتن ویروس، انتقال ملایم از فاز گاز به مایع امکان‌پذیر شود. همچنین برای جلوگیری از کم‌آبی نمونه‌ها استفاده از فیلترهای ژلاتینی برای نمونه‌برداری در دوره‌های کوتاه مدت توصیه‌شده است (۱۳).

بیوسمپلر در واقع یک مدل ایمپینجر توسعه یافته است که مکانیسم جمع‌آوری ذرات در آن‌ها تا حدودی مشابه مکانیسم ایمپینجرها است. بیوسمپلر دارای یک لوله ورودی خمیده و یک مخزن حاوی مایع جمع‌آوری‌کننده است. تفاوت عمده بیوسمپلر و ایمپینجر در تعداد و موقعیت نازل‌ها است. در بیوسمپلرها به جای استفاده از یک نازل و هدایت هوا به درون مایع جمع‌آوری‌کننده، از سه نازل مماسی استفاده می‌شود که سرعت هوا درون این نازل‌ها به اندازه سرعت صوت است و بنابراین شبیه یک اوریفیس بحرانی عمل می‌نماید. حرکت چرخشی هوا درون نمونه‌بردار در اثر ورود مماسی هوا علاوه بر جداسازی ذرات به دلیل نیروی گریز از مرکز و پدیده برخورد،

در فلوهای مختلف و حجم‌های متفاوت مایع جمع‌آوری‌کننده مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین بر اساس مقادیر بهینه فلو و حجم مایع، تکرارپذیری (Repeatability) آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مطابق با شکل ۱، طرح اولیه بخش‌های اصلی بیوسمپلر، با اندازه‌های دقیق در نرم‌افزار اتوکد نسخه ۲۰۱۹ تهیه و براساس آن، شکل نهایی بیوسمپلر از جنس شیشه ساخته شد. بخش ورودی (شکل ۱ الف)، لوله‌ای شیشه‌ای با سطح مقطع دایره‌ای و با قطر ۱۰ میلی‌متر و طول ۲۰ میلی‌متر است که به‌طور مستقیم به زانویی ۹۰ درجه و با شعاع چرخش ۲۰ میلی‌متر متصل شده است. بعد از زانویی، این لوله به طول ۲۰ میلی‌متر دیگر به‌صورت مستقیم ادامه می‌یابد و نهایتاً به‌صورت تدریجی به استوانه‌ای با قطر ۲۳ میلی‌متر متصل می‌شود. بخش انتهایی و بیرونی این استوانه به صورت روداژدار ساخته‌شده و با بخش میانی بیوسمپلر جفت می‌شود تا امکان نشستی هوا وجود نداشته باشد. در شکل ۱ ب، طرح اولیه بخش میانی همراه با ابعاد و شکل نهایی ساخته‌شده از جنس شیشه نشان داده شده است. در این بخش، هوا از سه نازل، به قسمت انتهایی دستگاه که مایع جاذب درون آن قرار دارد، وارد می‌شود. نازل‌ها با زاویه ۱۲۰ درجه نسبت به عمود و به سمت دیواره دستگاه قرار گرفته‌اند. منفذ نازل‌ها دارای قطر داخلی ۰/۷ میلی‌متر هستند و جریان هوا از طریق این منافذ و به دلیل وجود فشار استاتیک منفی در اثر مکش پمپ، از دستگاه خارج می‌شود. هر کدام از نازل‌ها نسبت به خط مماس بر نقطه برخورد آن با دیواره دستگاه دارای زاویه ۳۰ درجه است. فاصله انتهای نازل‌ها تا دیواره دستگاه به‌صورت افقی برابر با ۵ میلی‌متر و نسبت به کف ظرف، دارای فاصله ۳۰ میلی‌متری است. در شکل ۱ ج، طرح اولیه بخش انتهایی همراه با ابعاد آن و شکل نهایی ساخته‌شده از جنس شیشه نشان داده شده است. این بخش دستگاه، به‌عنوان مخزنی برای نگهداری مایع جمع‌آوری‌کننده نمونه مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی راندمان

جمع‌آوری ذرات اتمسفری توسط نمونه‌بردار بیوسمپلر

برای ارزیابی میزان راندمان جمع‌آوری ذرات توسط بیوسمپلر از یک دستگاه دست‌ساز در آزمایشگاه استفاده گردید. طرح‌واره این دستگاه در شکل ۲ نمایش داده شده است.

تشخیص غلظت‌های ویروسی و همچنین تأثیر سایر پارامترهای محیطی مانند دما و رطوبت و کارایی سیستم تهویه بر تراکم ویروس روی سطوح و هوای تنفسی بیماران کمتر پرداخته شده است.

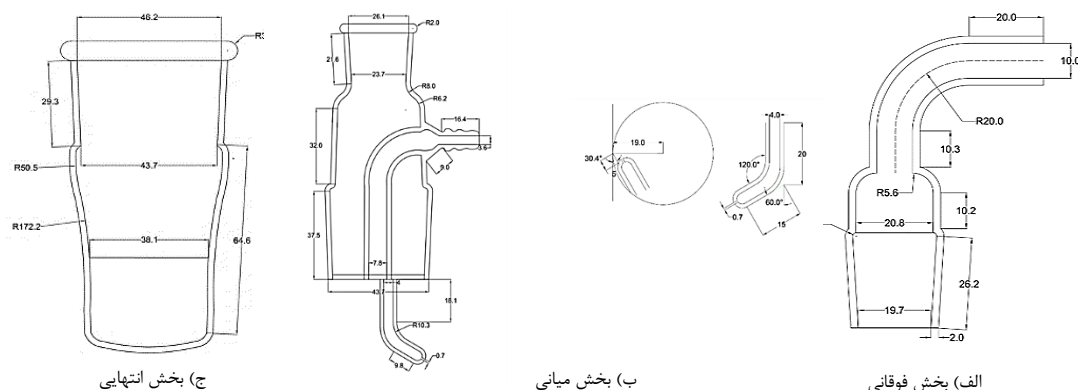
با توجه به موارد بیان‌شده، این مطالعه با هدف نمونه‌برداری از قطرات تنفسی هوابرد حاوی ویروس‌های کووید-۱۹، آنفولانزا و سرماخوردگی و بررسی تأثیر عوامل محیطی بر تراکم این آلاینده‌ها انجام گردید. همچنین کارایی دو نمونه‌بردار بیوسمپلر و ایمپینجر در جمع‌آوری ذرات حاوی ویروس در بخش‌های مختلف دو مرکز درمان بیماری‌های عفونی در یکی از شهرهای جنوبی ایران انجام شد. در راستای اهداف مطالعه و با توجه به عدم دسترسی به نمونه‌بردار بیوسمپلر تجاری، بر اساس جزئیات ساختاری آن در منابع علمی، در این مطالعه این نمونه‌بردار طراحی و ساخته شد و قبل از استفاده از آن به عنوان نمونه‌بردار در محیط بیمارستان، راندمان آن در جمع‌آوری ذرات اتمسفری در آزمایشگاه ارزیابی گردید.

روش بررسی

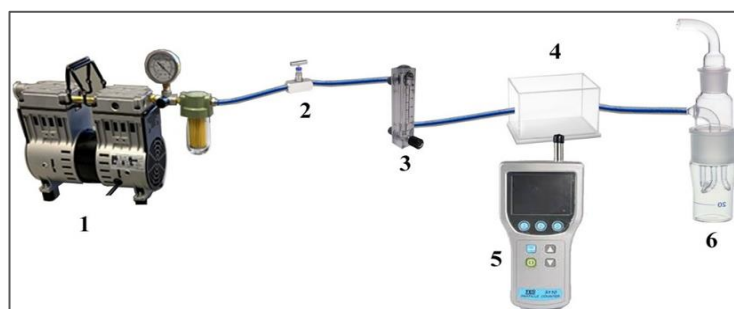
این مطالعه مقطعی در دو مرکز درمان بیماری‌های عفونی در یکی از شهرهای جنوبی ایران انجام شد. برای نمونه‌برداری از ویروس‌های کووید-۱۹، آنفولانزا و سرماخوردگی از نمونه-بردارهای بیوسمپلر و ایمپینجر به‌صورت همزمان استفاده شد. همچنین برای آنالیز نمونه‌ها از روش RT-PCR استفاده گردید. در این مطالعه اندازه‌گیری غلظت هوابرد ویروس‌های اشاره‌شده در بخش‌های بستری بیماران انجام شد. در مجموع تعداد ۴۰ نمونه، به فاصله ۲ متر از تخت بیماران، جمع‌آوری شد. پارامترهای دما، رطوبت، با دستگاه آنالیزر گاز مدل AQ-9901 اندازه‌گیری شد. مراحل و روش کار در ادامه تشریح شده است.

بازطراحی و ساخت نمونه‌بردار بیوسمپلر

با توجه به کمیاب بودن نمونه‌بردار بیوسمپلر و قیمت بالای آن در بازار و با هدف بومی نمودن امکان ساخت آن در داخل کشور بازطراحی آن با استفاده از منابع علمی که برای اولین بار این نمونه‌بردار را معرفی کرده و جزئیات ساختاری آن را ذکر نموده‌اند، انجام شد. طرح اولیه به منظور ساخت نمونه نهایی در اختیار یکی از مراکز تولید تجهیزات آزمایشگاهی قرار داده شد. راندمان جمع‌آوری نمونه‌بردار بیوسمپلر ساخته‌شده



شکل ۱: طرح اولیه بیوسمپلر از راست به چپ (الف) بخش فوقانی، (ب) بخش میانی و (ج) بخش انتهایی



شکل ۲: طرحواره دستگاه ارزیابی راندمان جمع‌آوری ذرات اتمسفری توسط بیوسمپلر طراحی شده (۱) پمپ خلأ، (۲) شیر تنظیم جریان، (۳) روماتر، (۴) محفظه نمونه‌برداری، (۵) شمارنده ذرات، (۶) بیوسمپلر

(شکل ۲)، تنظیم گردید. این شیر قادر به تنظیم فلو در مقادیر موردنظر بود. برای اندازه‌گیری مقادیر فلو از یک دستگاه روماتر استفاده گردید. فلوهای قابل اندازه‌گیری توسط فلو متر در محدوده فلوهای پیش‌بینی‌شده در مطالعه بود. جریان هوا با مقدار فلوی تنظیم‌شده وارد بیوسمپلر شده و بعد از عبور از آن، تعداد ذرات به تفکیک اندازه قطر آن‌ها، توسط دستگاه شمارنده ذرات اندازه‌گیری شد. دستگاه شمارنده ذرات مورد استفاده قادر است تعداد ذرات را به تفکیک قطر شمارش نماید. تعداد ذرات اندازه‌گیری‌شده در این مرحله، به‌عنوان تعداد ذرات بعد از بیوسمپلر در نظر گرفته شد و برای محاسبه راندمان جمع‌آوری بیوسمپلر طراحی‌شده استفاده گردید. برای اندازه‌گیری راندمان جمع‌آوری ذرات از رابطه ۱ استفاده گردید.

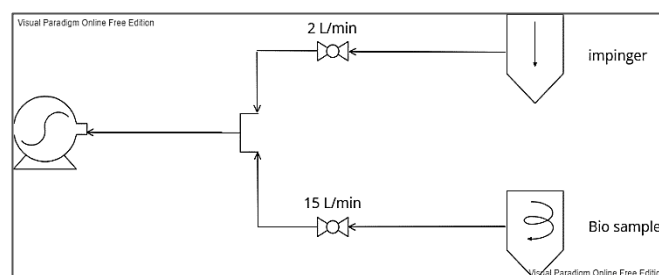
$$P = \frac{C}{C_0} \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این دستگاه امکان تنظیم جریان هوا با مقادیر فلوی موردنظر وجود داشت. برای تعیین میزان راندمان حذف آئروسول‌ها توسط بیوسمپلر از مقایسه تعداد ذرات اتمسفری، به تفکیک اندازه قطر، قبل و بعد از بیوسمپلر استفاده گردید. ابتدا تعداد ذرات اتمسفری، توسط دستگاه شمارشگر ذرات (Optical Particle Counter) مدل tes-5110، اندازه‌گیری شد و مقادیر آن به‌عنوان تعداد ذرات اولیه ثبت گردید. این دستگاه قادر به جداسازی و شمارش ذرات در اندازه‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۵ میکرون است. از یک دستگاه پمپ خلأ برای تأمین فشار استاتیک منفی و ایجاد جریان هوا در بخش‌های مختلف دستگاه استفاده گردید. فشار استاتیک منفی ایجادشده توسط پمپ، قادر بود تا تمامی فلوهای موردنظر برای ارزیابی عملکرد بیوسمپلر را ایجاد نماید. مقدار فلوی عبوری از دستگاه، توسط شیر تنظیم‌کننده جریان که قبل از پمپ خلأ قرار داشت

بیوسمپلر در آن حجم، دارای بالاترین مقدار جذب باشد. بعد از یافتن فلو و حجم مایع جاذب بهینه، عملکرد دستگاه در روزهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان راندمان محاسبه شده در روزهای مختلف، از لحاظ تکرارپذیری و نزدیکی نتایج به یکدیگر مقایسه شد.

نمونه برداری ویروس های هوا برد

برای نمونه برداری از قطرات حاوی ویروس از دو نمونه بردار ایمپینجر و بیوسمپلر به صورت پهلوی به پهلوی استفاده شد. با توجه به عدم وجود روش نمونه برداری استاندارد برای نمونه برداری از ذرات هوا برد حاوی ویروس ها پارامترهای نمونه برداری با توجه به نتایج ارزیابی راندمان جمع آوری ذرات هوا برد اتمسفری در آزمایشگاه برای بیوسمپلر و مقادیر توصیه شده توسط سازنده برای ایمپینجر انتخاب گردید. فلوی مورد نیاز نمونه برداری توسط پمپ نمونه بردار Large Volume Air Sampler مدل Munro L40 تأمین گردید. با استفاده از یک سه راهی پمپ به طور موازی به ایمپینجر و بیوسمپلر متصل گردید (شکل ۳).



شکل ۳: نحوه اتصال پمپ به نمونه بردارهای بیوسمپلر و ایمپینجر

نمونه بردارها مدت زمان نمونه برداری ۱۵ دقیقه انتخاب شد. پس از هر نمونه برداری، محلول VTM به فالكون های استریل منتقل شده و بلافاصله پس از شماره گذاری، درون فلاسک یخ (دمای حدود ۴ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. نمونه ها در هر روز بعد از جمع آوری به آزمایشگاه تشخیصی منتقل و با روش RT-PCR آنالیز شدند. بنابراین نمونه ها قبل از آنالیز نیاز به فریز کردن و نگهداری در دماهای پایین تر نداشتند.

آنالیز نمونه ها با روش RT-PCR

آنالیز نمونه ها طی دو مرحله اصلی انجام شد. در مرحله اول، عملیات جداسازی محتویات RNA ویروس ها با خلوص بالا انجام گردید. برای این منظور از کیت استخراج RNA شرکت به ژن استفاده گردید. در این کیت بافرهای لازم برای

در این رابطه P راندمان جمع آوری ذرات توسط بیوسمپلر است. مقدار C تعداد ذرات شمارش شده بعد از بیوسمپلر و C₀ تعداد ذرات شمارش شده قبل از بیوسمپلر است. با توجه به اینکه مقدار فلوی عبوری از بیوسمپلر در راندمان جمع آوری ذرات به خصوص ذرات با اندازه های کوچک بسیار تأثیرگذار است، برای انجام نمونه برداری های واقعی، باید مقدار فلوی بهینه را تعیین نمود. برای این منظور، مقدار ۱۵ سی سی آب مقطر، براساس حجم مایع جاذب توصیه شده برای نمونه بردار تجاری، درون مخزن بیوسمپلر ریخته شد. فلوهای مختلف توسط دستگاه تنظیم و از بیوسمپلر عبور داده شد. مقدار راندمان جمع آوری ذرات برای هر فلو مشخص گردید. فلویی که دستگاه، راندمان جمع آوری بالاتری برای آن داشت، به عنوان فلو بهینه انتخاب گردید. برای یافتن میزان حجم بهینه مایع جاذب، مقادیر مشخص آب مقطر در دفعات متوالی درون دستگاه ریخته شد. در مقدار فلوی ثابت و بهینه که در قسمت فوق توضیح داده شد، راندمان دستگاه، اندازه گیری گردید. مقدار حجم مایع جاذب بهینه، حجمی است که

توسط دو شیر کنترل جریان، دبی مناسب هر نمونه بردار تنظیم و با فلومتر حباب صابون کالیبره شد. دبی ورودی به بیوسمپلر ۱۵ لیتر بر دقیقه، و دبی هوای ورودی به ایمپینجر ۲ لیتر بر دقیقه تنظیم گردید. به منظور جمع آوری قطرات ویروس معلق در هوا، برای هر نمونه، ۲۵ میلی لیتر محلول VTM به بیوسمپلر و ۱۰ میلی لیتر از این محلول، به ایمپینجر اضافه شد. مکان نمونه برداری در بخش های بستری بیماران مبتلا به بیماری های ویروسی و در فاصله ۲ متری از بیمار و در ارتفاع ۱/۵ متری از سطح زمین انتخاب گردید. با توجه به فاصله کم محل نمونه برداری تا منابع انتشار و احتمال غلظت بالای آلاینده و همچنین تبخیر مایع جمع آوری در طی دوره نمونه برداری و تأثیر آن بر راندمان جمع آوری

به منظور اندازه گیری دما و رطوبت نسبی هوا، از دستگاه آنالیزر گاز مدل AQ-9901 ساخت شرکت Lutron کشور تایوان استفاده شد. این دستگاه دارای ۴ سنسور مجزا است. برای اندازه گیری، دستگاه در محل مورد نظر قرار داده شد و پس از شروع به کار و گذشت مدت زمان ۱۰ دقیقه (زمان لازم برای آماده شدن سنسورهای دستگاه)، نمونه برداری متوقف گردید. میانگین داده های قرائت شده بعد از سه بار اندازه گیری متوالی به عنوان داده اصلی مدنظر قرار گرفت.

نتایج

بهینه سازی دبی و حجم مایع بیوسمپلر

نتایج اندازه گیری مقدار بهینه دبی و حجم مایع بیوسمپلر، در شکل های ۴ و ۵ ارائه شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، میزان دبی بهینه هوا برای نمونه بردار، ۱۵ تا ۲۰ لیتر بر دقیقه است. در این دبی، راندمان جمع آوری ذرات با اندازه کمتر از ۵ میکرون نزدیک به ۱۰۰ درصد است. همچنین با توجه به شکل ۵، میزان مایع بهینه در بیوسمپلر برای جمع آوری ذرات ۲۵ میلی لیتر است. شکل ۶، تکرارپذیری روش، با دبی ۱۵ لیتر بر دقیقه و حجم مایع ۲۵ میلی لیتر، برای سه بار تکرار را نمایش می دهد. طبق این نمودار، روش مورد نظر از تکرارپذیری خوبی طی روزهای مختلف برخوردار است.

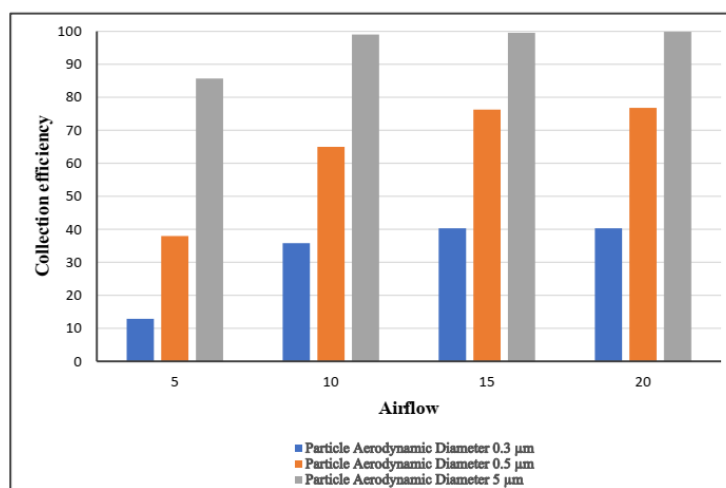
لیز شدن ویروس ها و آزادسازی RNA و ستون های مورد نیاز برای حذف ناخالصی ها و بازیابی RNA خالص موجود بود. استخراج RNA ویروس ها بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. در مرحله دوم آنالیز، به منظور تشخیص مولکولی با روش RT-PCR از کیت تشخیص مولکولی برند COVITECH استفاده شد. مکانیسم شناسایی این کیت بر اساس روش تکثیر همزمان بیش از یک توالی هدف (Multiplex One Step q-Real Time PCR) در دو ناحیه E با رنگ FAM و ناحیه S با رنگ ROX و کنترل داخلی RNaseP با رنگ HEX در یک لوله آزمایش بود. وجود کنترل مثبت به همراه کیت با تعداد کپی مشخص امکان بررسی کارایی روش و رسم منحنی استاندارد و تعیین کمی ویروس در نمونه ها وجود داشت. به منظور آنالیز نمونه ها ابتدا عملیات آماده سازی پرایمر و پروب طبق دستورالعمل سازنده انجام شد و سپس نمونه RNA استخراج شده از مرحله قبل به آن افزوده و کاملاً مخلوط شد و سپس بر اساس برنامه دمایی و زمانی مشخص درون دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. به منظور شناسایی آلودگی یا تکثیر غیراختصاصی روش از کنترل منفی که شامل RNA استخراج شده از افراد سالم بود استفاده گردید. نتایج حاصل از آنالیز نمونه ها بر اساس جدول شماره ۱ تفسیر گردید.

اندازه گیری دما و رطوبت نسبی

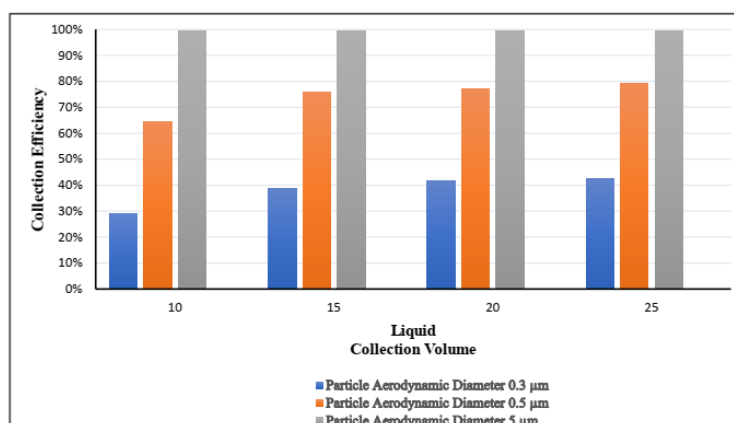
جدول ۱: تفسیر نتایج آنالیز PCR نمونه های ویروسی

نتایج				ژن		
-	+/-	-	-	Ct* < 40	+	E
-	+/-	-	-	Ct < 40	+	S
Ct < 30	+/-	-	+/-	+/-	+/-	کنترل داخلی
-	+	-	-	-	-	کنترل منفی
تفسیر		نتیجه مثبت		تکرار آزمایش در صورت اخذ نتایج یکسان نتیجه مثبت		
نتیجه منفی		آلودگی سیستم آزمایش		تکرار آزمایش در صورت اخذ نتایج یکسان نتیجه مثبت		
		نتایج غیر قابل اعتماد		تکرار آزمایش در صورت اخذ نتایج یکسان نتیجه مثبت		

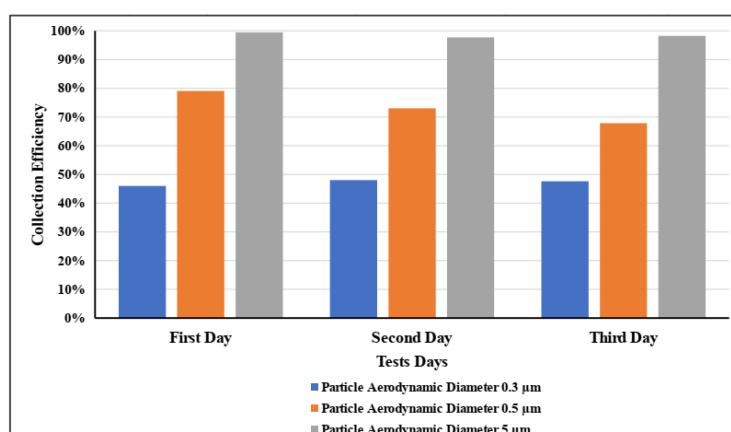
* (Cycle threshold) Ct : چرخه ای است که سیگنال فلورسانس حاصل از تکثیر DNA از آستانه عبور می کند.



شکل ۴: راندمان جمع‌آوری ذرات توسط بیوسمپلر در دبی‌های مختلف



شکل ۵: راندمان جمع‌آوری ذرات توسط بیوسمپلر در حجم‌های مختلف مایع جمع‌آوری‌کننده



شکل ۶: تکرارپذیری روش در راندمان جمع‌آوری ذرات توسط بیوسمپلر در روزهای مختلف

نتایج اندازه‌گیری غلظت هوابرد ویروس‌های مورد مطالعه و مقدار دما و رطوبت نسبی

در جدول ۲، نتایج نمونه‌برداری از هوای بخش‌های بستری بیماران که احتمالاً قطرات حاوی ویروس‌های مورد مطالعه در آن وجود داشت و همچنین مقدار دما و رطوبت نسبی اندازه‌گیری شده گزارش شده است. جمع‌آوری نمونه‌ها در ۲۰

نقطه مختلف بیمارستان‌های مورد مطالعه انجام شد. دبی هوا برای بیوسمپلر و ایمپینجر به ترتیب، ۲ و ۱۵ لیتر بر دقیقه بود. پس از آنالیز نمونه‌ها، در هیچ‌یک از آن‌ها، RNA ویروس شناسایی نشد. میانگین دما و رطوبت نسبی در بخش‌های مختلف مراکز درمانی برابر با ۲۳/۸ سانتی‌گراد و ۲۰/۷ درصد اندازه‌گیری بود.

جدول ۲. محل نمونه‌برداری، تعداد نمونه‌ها، نوع نمونه‌بردار، دما و رطوبت نسبی در زمان نمونه‌برداری هوابرد ویروس‌های مورد مطالعه

بیمارستان	محل نمونه‌برداری	شماره نمونه	نمونه‌بردار	نتیجه	دما (°C))	رطوبت نسبی (%)
بیمارستان ۱	سطح ۲	Im-۱	Impinger	-	۲۴/۹	۱۷/۹
		Bio-۱	Bio sampler	-		
	سطح ۳ و ۴	Im-۲	Impinger	-	۲۴/۸	۱۸/۵
		Bio-۲	Bio sampler	-		
	داخلی مردان	Im-۳	Impinger	-	۲۳/۶	۲۲/۳
		Bio-۳	Bio sampler	-		
		Im-۴	Impinger	-		
		Bio-۴	Bio sampler	-		
	داخلی زنان	Im-۵	Impinger	-	۲۳/۸	۲۲/۴
		Bio-۵	Bio sampler	-		
		Im-۶	Impinger	-		
		Bio-۶	Bio sampler	-		
	دیالیز	Im-۷	Impinger	-	۲۴/۱	۲۱/۸
		Bio-۷	Bio sampler	-		
	ICU 1	Im-۸	Impinger	-	۲۳/۹	۱۹/۸
		Bio-۸	Bio sampler	-		
	ICU 2	Im-۹	Impinger	-	۲۳/۴	۲۰
		Bio-۹	Bio sampler	-		
	نورولوژی	Im-۱۰	Impinger	-	۲۳/۴	۱۹/۸
		Bio-۱۰	Bio sampler	-		
	جراحی ۲	Im-۱۱	Impinger	-	۲۲/۹	۲۰/۳
		Bio-۱۱	Bio sampler	-		

		-	Impinger	Im-۱۲		بیمارستان ۲
		-	Bio sampler	Bio-۱۲		
۱۹/۵	۲۵/۴	-	Impinger	Im-۱۳	داخلی قدیم ۳	
		-	Bio sampler	Bio-۱۳		
		-	Impinger	Im-۱۴		
		-	Bio sampler	Bio-۱۴		
۱۹/۸	۲۳/۱	-	Impinger	Im-۱۵	نورولوژی	
		-	Bio sampler	Bio-۱۵		
		-	Impinger	Im-۱۶		
		-	Bio sampler	Bio-۱۶		
۲۴/۶	۲۲/۵	-	Impinger	Im-۱۷	ICU 2	
		-	Bio sampler	Bio-۱۷		
		-	Impinger	Im-۱۸		
		-	Bio sampler	Bio-۱۸		
۲۲/۸	۲۴/۲	-	Impinger	Im-۱۹	Fast	
		-	Bio sampler	Bio-۱۹		
۲۱/۶	۲۳/۲	-	Impinger	Im-۲۰	راهرو تریاژ	
		-	Bio sampler	Bio-۲۰		

بحث

براساس نتایج به دست آمده، در تمامی نمونه های هوای جمع آوری شده به وسیله بیوسمپلر و ایمپینجر که با روش RT-PCR آنالیز گردیدند RNA ویروس شناسایی نگردید. در مطالعات مشابه که با هدف اندازه گیری میدانی ویروس های کرونا در هوای اتاق های بستری بیماران در بیمارستان کشورهای مختلف از جمله ایران صورت گرفته است، نتایج آنالیز همه نمونه ها منفی به دست آمده است. برای مثال، در تمام مواردی که در ادامه معرفی شده اند، تمام نمونه ها منفی شده اند: نمونه برداری هوا در ده بخش بیمارستان امام خمینی تهران با ایمپینجر (۱۸)؛ نمونه برداری از هوای اتاق های ایزوله سه بیمار مبتلا به کووید-۱۹ با پنومونی شدید بیمارستانی در چین با استفاده از بیوسمپلر SKC و آنالیز به روش RT-PCR (۱۹)؛ نمونه برداری هوا در ۳۳ نقطه از اتاق بیماران مبتلا به کووید ۱۹ در بیمارستان امام خمینی شهر اردبیل با

ایمپینجر (۲۰)؛ نمونه برداری هوا در ۳۱ نقطه از بخش های مختلف بیمارستان با ایمپینجر و آنالیز نمونه ها به روش RT-PCR در یک بیمارستان ۶۳۰ تخته در شهر تهران (۲۰)؛ بررسی ۴۵ نمونه هوا از بخش های مختلف بیمارستانی در شهرکرد با ایمپینجر به روش RT-PCR که تنها ۶ نمونه مثبت شدند (۲۱).

از میان ۱۴ نمونه هوای بررسی شده از بخش های بستری بیمارانی با تست مثبت تأیید شده در بیمارستان امام خمینی شهر ایلام با بیوسمپلر SKC (۲۲)، تنها ۲ نمونه در بخش ICU مثبت شدند. مقادیر دما در مطالعه مذکور، با مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر مشابه بوده است. رطوبت نسبی در مطالعه مذکور بین ۴۰ تا ۵۰ درصد گزارش شده است. از آنجاکه در مطالعات، دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد، و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۵۰ درصد، به عنوان مناسب ترین شرایط

از دیدگاه تعیین توزیع اندازه قطرات تولیدشده توسط افراد مبتلا به عفونت‌های تنفسی هنگام تنفس، سرفه، عطسه و صحبت کردن، مطالعات متعددی انجام شده است. نتایج این مطالعات نشان‌دهنده گستره اندازه قطرات از حدود مقادیر کمتر از یک میکرومتر تا چند ده میکرومتر متغیر است. به عنوان مثال در مطالعه فنلی و همکاران مشخص شد که توزیع اندازه آئروسول‌های ویروسی تولیدشده ناشی از تنفس و سرفه توسط بیماران مبتلا به عفونت‌های تنفسی مختلف، دارای شباهت‌های زیادی است و نسبت مقادیر کمتر از ۵ میکرومتر غالب است (۲۹).

نتایج مطالعه‌ای دیگر نشان داد که توزیع اندازه ذرات RNA ویروس‌های عامل SARS-CoV-2 که در بیمارستان‌های ووهان چین اندازه‌گیری شد دارای دو پیک در محدوده اندازه‌های ۰/۲۵ تا ۱ میکرومتر و ۲/۵ > میکرومتر هستند (۳۰).

همین اندازه‌گیری‌ها در یک مطالعه دیگر در هوای بخش‌های مختلف یک بیمارستان نشان داد که بیوآئروسول‌های حاوی ویروس سارس کووید ۲ دارای محدوده اندازه‌های ۱ تا ۴ میکرومتر و ۴ > میکرومتر بودند (۳۱).

این نتایج نشان می‌دهد که نمونه‌بردارهای استفاده‌شده در این مطالعه، با توجه به راندمان جمع‌آوری نسبت به اندازه ذرات، توانایی جمع‌آوری نمونه‌های حاوی ویروس با راندمان قابل‌قبول را دارند. همچنین ثابت‌شده که میزان زنده ماندن ویروس‌های جمع‌آوری‌شده با بیوسمپلر نسبت به تجهیزات نمونه‌برداری دیگر بسیار بالاتر است به عنوان نمونه این مقدار حدود ۴ برابر بیشتر از نمونه‌بردار NIOSH است (۹).

آئروسول‌های ویروسی نمونه‌برداری شده را می‌توان با استفاده از روش‌های مبتنی بر رشد، تکنیک‌های مبتنی بر اسید نوکلئیک یا ایمونواسی‌ها شناسایی و یا اندازه‌گیری نمود. با استفاده از تکنیک‌های رشد فقط می‌توان ویروس‌های فعال را تشخیص داد، اما ایمونواسی‌ها می‌توانند نه تنها ویروس‌های زنده، بلکه ویروس‌های غیرزنده را نیز با شناسایی پروتئین‌های دست‌نخورده خاص تشخیص دهند. انتخاب روش اندازه‌گیری به شدت به میزان آسیب ویروس‌ها بستگی دارد. در واقع، استرس‌های محیطی مانند دما و رطوبت محیط، ROS و نور ماوراءبنفش و همچنین فرآیند منجر به آئروسول شدن ویروس‌ها می‌تواند سبب آسیب فیزیکی و بیولوژیکی به

برای زنده ماندن ویروس کووید-۱۹ معرفی شده است، شناسایی ویروس SARS-CoV-2 در مطالعه مذکور را می‌توان به رطوبت نسبی محیط نسبت داد که شرایط را برای زنده ماندن ویروس فراهم می‌کند. اگرچه در این مطالعه میانگین دما و رطوبت نسبی اندازه‌گیری شده در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های مورد مطالعه به ترتیب ۲۳/۸ و ۲۰/۷ سانتی‌گراد بوده است که به وضوح کمتر از شرایط مطلوب، دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۵۰ درصد، برای فعال ماندن ویروس است. لازم به ذکر است که در بخش‌های بستری مورد مطالعه برای مطبوع‌سازی هوا از سیستم‌های تهویه با تأمین هوای چرخشی استفاده نمی‌شد.

به طور کلی مطالعات اندکی در خصوص ارزیابی میزان غلظت ویروس‌های موجود در هوا انجام شده است (۲۳-۲۶).

یکی از دلایل آن می‌تواند ناشی از پیچیدگی تعیین کمی غلظت کلی ویروس‌ها در نمونه‌های هوا باشد زیرا جمع‌آوری مؤثر ویروس‌ها از هوا دشوار است؛ علاوه بر این، ویروس‌ها برخلاف باکتری‌ها، فاقد یک ژن مشترک حفاظت‌شده هستند که بتوان از آن برای تعیین کمیت در آنالیز PCR استفاده نمود (۲۷).

علاوه بر این ویروس‌های موجود در هوا هنگام نمونه‌برداری و آنالیز در معرض گستره وسیعی از تنش‌های محیطی مانند کم‌آبی، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند ازن، نور ماوراءبنفش و آسیب مکانیکی در زمان آئروسول شدن، تبدیل به ذرات هوابرد و نمونه‌برداری قرار می‌گیرند (۴).

به همین دلیل در اغلب مطالعاتی که با هدف شناسایی و تعیین کمی ژنتیکی ویروس‌ها در هوا با استفاده از نمونه-بردارهای فعال مانند ایمپینجر، بیوسمپلر و ایمپکتورها و تشخیص به روش RT-PCR انجام شده است، در هیچ‌یک از نمونه‌ها ویروس‌های مذکور شناسایی نشده است و یا به‌طور میانگین ۸۸/۲ درصد از نمونه‌ها منفی بوده است (۲۸). این امر بیانگر احتمال پایین شناسایی RNA ویروس‌های ذکرشده در نمونه‌بردارهای هوا است. تاکنون، هیچ روش استاندارد برای نمونه‌برداری، نگهداری و آنالیز نمونه‌های ویروسی جمع‌آوری‌شده از هوا ارائه نشده است. باین‌حال مجموعه داده‌های با نتیجه آنالیز مثبت، از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از انواع مختلف فیلترها و بسترهای ژلاتینی به دست آمده‌اند (۲۸).

بالای این تجهیزات، استفاده از آن‌ها در این مطالعه امکان‌پذیر نبود. برای حصول نتایج دقیق‌تر، استفاده از آن‌ها در مطالعات آینده برای نمونه‌برداری از ویروس توصیه می‌شود.

پیشنهادهات

به‌منظور بالا بردن دقت و بررسی مناسب‌تر انتقال هوابرد ویروس‌ها، پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات آینده تعداد بیشتری نمونه جمع‌آوری شود و نمونه‌برداری در مدت‌زمان‌های متفاوت و طولانی‌تری انجام شود تا در صورت مؤثر بودن این متغیرها بر نتایج، مقادیر بهینه آن‌ها تعیین گردد. همچنین مقایسه نتایج نمونه‌برداری در فصول مختلف، برای مطالعات آینده توصیه می‌شود.

سپاس‌گزاری

از دانشگاه علوم پزشکی شیراز / مرکز تحقیقات علوم بهداشتی که با حمایت مالی و همکاری همه جانبه امکان انجام این پژوهش را میسر نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله اظهار می‌نمایند که فاقد تعارض منافع در گزارش نتایج هستند.

حامی مالی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی غیرپایان‌نامه‌ای مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز / مرکز تحقیقات علوم بهداشتی با کد ۲۱۶۲۰ است و از آن حمایت مالی شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز با کد اخلاق IR.SUMS.REC.1399.846 تایید شده است. تمامی مراحل پژوهش مطابق با اصول اخلاقی در پژوهش انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

تدوین پروپوزال: سعید جعفری و سعید یوسفی‌نژاد، اجرای طرح: سعید جعفری، سعید یوسفی‌نژاد، محمدهاشمی، رضا یارمحمدی، مرضیه غلامپور و نوشتن مقاله: سعید جعفری، سعید یوسفی‌نژاد، محمدهاشمی، رضا یارمحمدی و مرضیه غلامپور. مقاله نهایی به تایید کلیه نویسندگان مقاله رسیده است.

بخش‌های مختلف ویروس‌ها مانند اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های سطحی و یا درونی شود و در نتیجه باعث غیرفعال شدن آن‌ها شود.

روش‌های بر پایه تشخیص اسید نوکلئیک مانند PCR در اکثر مطالعات مربوط به اندازه‌گیری ویروس‌های موجود در هوا مورد استفاده قرار گرفته است، زیرا ویروس‌ها در زمان هوابرد شدن و همچنین در طی عملیات نمونه‌برداری، به‌ویژه زمانی که از نمونه‌بردارهای بر پایه اینرسی استفاده می‌شود، در معرض آسیب قرار می‌گیرند و در مقادیر بسیار کمی وجود دارند. PCR در حال حاضر روش استاندارد طلایی برای اندازه‌گیری ویروس‌ها در نمونه‌های بالینی و هوا است. این روش مؤثرترین شیوه تشخیص غلظت‌های پایین ویروس‌ها می‌باشد. در روش PCR امکان تشخیص ۴ تا ۸ نسخه از SARS-CoV-2 را با فاصله اطمینان ۹۵٪ وجود دارد (۳۲). به نظر می‌رسد خطر انتقال هوابرد ویروس‌ها به کمیت حجم هوای مطبوع و کیفیت تصفیه آن توسط سیستم‌های تهویه محیط‌های داخلی که بر غلظت هوابرد ویروس‌ها مؤثر هستند، وابستگی بالایی داشته باشد. علاوه بر این، اقدامات پیشگیرانه مناسب، مانند استفاده از تجهیزات حفاظت فردی باید مدنظر قرار گیرد.

عدم شناسایی هوابرد ویروس‌ها در نمونه‌ها، می‌تواند بیانگر تأثیر کنترل شرایط محیطی از جمله دما و رطوبت نسبی بر ماندگاری ویروس در محیط نیز باشد. به نظر می‌رسد که ماندگاری ویروس‌ها به‌ویژه ویروس کرونا در هوا کم بوده و در صورت نامناسب بودن شرایط محیطی برای ماندگاری ویروس، از جمله دما و رطوبت کمتر از ۲۰ درصد و همچنین وجود سیستم تهویه کارآمد (دارای تعداد تعویض بیشتر از ۶ بار در ساعت بر اساس توصیه برخی سازمان‌ها مانند اشری)، احتمال شناسایی و تعیین غلظت آن بسیار پایین باشد.

محدودیت‌های مطالعه

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر، تعداد نمونه‌های ویروسی جمع‌آوری شده بود که با توجه به هزینه‌های آنالیز نمونه‌های ویروسی، افزایش تعداد این نمونه‌ها میسر نبود. به نظر می‌رسد مکانیزم لوله‌های رشددهنده جمع‌آوری بیوآئروس، راندمان مناسب‌تری برای نمونه‌برداری از ویروس‌ها به‌خصوص ویروس کووید-۱۹ دارند. با توجه به هزینه‌های

References

1. Ghanizadeh F, Godini H. A review of the chemical and biological pollutants in indoor air in hospitals and assessing their effects on the health of patients, staff and visitors. *Reviews on environmental health*. 2018;33(3):231-45.
2. Correia G, Calheiros D, Rosa N, Rodrigues L, Cunha S, Santiago LM, et al. Indoor air quality and airborne transmission under the One Health lens: A scoping review. *One Health*. 2025:101160.
3. Sadeghi S, Aminossadati SM, Leonardi C. A Critical Review of Critical Factors Influencing Airborne Particle Transmission in Indoor Environments Under Stationary and Dynamic Scenarios. *Archives of Computational Methods in Engineering*. 2025:1-31.
4. Bhardwaj J, Hong S, Jang J, Han C-H, Lee J, Jang J. Recent advancements in the measurement of pathogenic airborne viruses. *Journal of hazardous materials*. 2021;420:126574.
5. Sung G, Ahn C, Kulkarni A, Shin WG, Kim T. Highly efficient in-line wet cyclone air sampler for airborne virus detection. *Journal of Mechanical Science and Technology*. 2017;31(9):4363-9.
6. Borges JT, Nakada LYK, Maniero MG, Guimaraes JR. SARS-CoV-2: a systematic review of indoor air sampling for virus detection. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28(30):40460-73.
7. Lindsley WG, Green BJ, Blachere FM, Martin SB, Law BF, Jensen PA, et al. Sampling and characterization of bioaerosols. National Institute for Occupational Safety and Health. 2017.
8. Pan M, Lednicky JA, Wu CY. Collection, particle sizing and detection of airborne viruses. *Journal of applied microbiology*. 2019;127(6):1596-611.
9. Lindsley WG, Blachere FM, Thewlis RE, Vishnu A, Davis KA, Cao G, et al. Measurements of airborne influenza virus in aerosol particles from human coughs. *PloS one*. 2010;5(11):e15100.
10. Blanchere FM, Green BJ, Jensen PA, Law BF, Lindsley WG, Martin Jr SB, et al. Sampling and characterization of bioaerosols. 2017.
11. Lindsley WG, Schmechel D, Chen BT. A two-stage cyclone using microcentrifuge tubes for personal bioaerosol sampling. *Journal of Environmental Monitoring*. 2006;8(11):1136-42.
12. Boles C, Brown G, Park JH, Nonnenmann M. The optimization of methods for the collection of aerosolized murine norovirus. *Food and environmental virology*. 2020;12(3):199-208.
13. Li J, Leavey A, Wang Y, O'Neil C, Wallace MA, Burnham C-AD, et al. Comparing the performance of 3 bioaerosol samplers for influenza virus. *Journal of aerosol science*. 2018;115:133-45.
14. Willeke K, Lin X, Grinshpun SA. Improved aerosol collection by combined impaction and centrifugal motion. *Aerosol Science and technology*. 1998;28(5):439-56.
15. Kyle J, Popovich M, MS, David P, Calfee, MD, Payal K, Patel, MD, MPH, Shelby Lassiter, BSN, RN, CPHQ, Andrew J, Rolle, MPH, Louella Hung, MPH, Sanjay Saint, MD, MPH, and Vineet Chopra, MD, MSc. The Centers for Disease Control and Prevention STRIVE Initiative: Construction of a National Program to Reduce Health Care-Associated Infections at the Local Level. *Annals of Internal Medicine*. 2019;171(7_Supplement):S2-S6.
16. Yogeswaran K, Azmi L, Bhassu S, Isa HN, Aziz MA. Physical parameters influence the microbial quality of indoor air in research laboratories: A report from Malaysia. *Kuwait Journal of Science*. 2023;50(4):665-73.
17. Baboli Z, Neisi N, Babaei AA, Ahmadi M, Sorooshian A, Birgani YT, et al. On the airborne transmission of SARS-CoV-2 and relationship with indoor conditions at a hospital. *Atmospheric Environment*. 2021;261:118563.
18. Faridi S, Niazi S, Sadeghi K, Naddafi K, Yavarian J, Shamsipour M, et al. A field indoor air measurement of SARS-CoV-2 in the patient rooms of the largest hospital in Iran. *Science of the Total Environment*. 2020;725:138401.
19. Ahn JY, An S, Sohn Y, Cho Y, Hyun JH, Baek YJ, et al. Environmental contamination in the isolation rooms of COVID-19 patients with severe pneumonia requiring mechanical ventilation or high-flow oxygen therapy. *Journal of Hospital Infection*. 2020;106(3):570-6.
20. Vosoughi M, Karami C, Dargahi A, Jeddi F, Jalali KM, Hadisi A, et al. Investigation of SARS-CoV-2 in hospital indoor air of COVID-19 patients' ward with impinger method. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28(36):50480-8.

21. Hemati S, Mobini GR, Heidari M, Rahmani F, Soleymani Babadi A, Farhadkhani M, et al. Simultaneous monitoring of SARS-CoV-2, bacteria, and fungi in indoor air of hospital: a study on Hajar Hospital in Shahrekord, Iran. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28(32):43792-802.
22. Kenarkoohi A, Noorimotlagh Z, Falahi S, Amarloei A, Mirzaee SA, Pakzad I, et al. Hospital indoor air quality monitoring for the detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) virus. *Science of the Total Environment*. 2020;748:141324.
23. Prussin AJ, Marr LC, Bibby KJ. Challenges of studying viral aerosol metagenomics and communities in comparison with bacterial and fungal aerosols. *FEMS microbiology letters*. 2014;357(1):1-9.
24. Yang W, Elankumaran S, Marr LC. Concentrations and size distributions of airborne influenza A viruses measured indoors at a health centre, a day-care centre and on aeroplanes. *Journal of the Royal Society Interface*. 2011;8(61):1176-84.
25. Whon TW, Kim M-S, Roh SW, Shin N-R, Lee H-W, Bae J-W. Metagenomic characterization of airborne viral DNA diversity in the near-surface atmosphere. *Journal of virology*. 2012;86(15):8221-31.
26. Jensen PA, Schafer MP. Sampling and characterization of bioaerosols. *NIOSH manual of analytical methods*. 1998;1(15):82-112.
27. Prussin AJ, Garcia EB, Marr LC. Total virus and bacteria concentrations in indoor and outdoor air. *Environmental science & technology letters*. 2015;2(4):84.
28. Dinoi A, Feltracco M, Chirizzi D, Trabucco S, Conte M, Gregoris E, et al. A review on measurements of SARS-CoV-2 genetic material in air in outdoor and indoor environments: Implication for airborne transmission. *Science of the Total Environment*. 2022;809:151137.
29. Fennelly KP. Particle sizes of infectious aerosols: implications for infection control. *The lancet respiratory medicine*. 2020;8(9):914-24.
30. Liu Y, Ning Z, Chen Y, Guo M, Liu Y, Gali NK, et al. Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature*. 2020;582(7813):557-60.
31. Team SNCOR. Detection of air and surface contamination by SARS-CoV-2 in hospital rooms of infected patients. *Nature communications*. 2020;11(1):2800.
32. Rahmani AR, Leili M, Azarian G, Poormohammadi A. Sampling and detection of corona viruses in air: A mini review. *Science of the Total Environment*. 2020;740:140207.

Redesign and Development of a Biosampler and Evaluation of Its Collection Efficiency

Hashemi M^{1,2}, Yarmohammadi R^{1,2}, Yousefinejad S², Gholampour M³, Jafari S^{2*}

¹ Student research committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

² Department of Occupational Health and Safety Engineering, School of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

³ Department of Architecture, Faculty of Art and Architecture, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Abstract

Introduction: Understanding the nature and concentration of airborne viruses such as SARS-CoV-2, influenza, and the common cold is essential for assessing transmission risk and developing preventive measures. This study aimed to evaluate the efficiency of BioSampler and impinger samplers in detecting these viruses in indoor air of healthcare centers in a southern city of Iran. In addition, the redesign and fabrication process of the BioSampler are presented.

Methods and Materials: The biosampler was redesigned based on scientific literature and manufactured at a laboratory equipment production center. Its collection efficiency was evaluated at different flow rates and varying volumes of absorbing liquid. Simultaneous air sampling was conducted using an impinger (2 L/min) and a BioSampler (15 L/min). A Munro L40 pump and a T-connector were used to operate both samplers concurrently. Sample analysis was performed using RT-PCR. In total, 20 air samples were collected from different hospital wards. Environmental parameters, including temperature, relative humidity, airflow rate, and air change rate, were measured.

Results: Airflow rates ranging from 5 to 20 L/min were evaluated. Collection efficiency reached its maximum at 15 L/min, and further increases in flow rate did not improve performance. The volume of collection liquid was examined from 10 to 25 mL, with the highest efficiency observed at 25 mL. No RNA of SARS-CoV-2, influenza, or common cold viruses was detected in any of the air samples.

Conclusion: No viruses were detected in samples collected using either the BioSampler or the impinger. This may be attributed to the effects of temperature and humidity on the viability of airborne viruses, the low concentration of virus-containing particles in the air, and potential limitations of the analytical method.

Key words: Indoor air quality, Biosampler, Impinger, Bioaerosol, Airborne Viruses transmitted via aerosols

This paper should be cited as:

Hashemi M, Yarmohammadi R, Yousefinejad S, Gholampour M, Jafari S. *Redesign and Development of a Biosampler and Evaluation of Its Collection Efficiency*. Occupational Medicine Quarterly Journal. 2026; 18(2): 8-22.

* Corresponding Author:

Email: Jafari4514@gmail.com

Tel: +98 9177033569

Received: 28.10.2025

Accepted: 30.5.2026