



Assessment of SARS-CoV-2 in air and surfaces of ICU ward in one of the designated hospitals in Tehran

Seyed Mohammad Seyedmehdi, Assistant Professor, Chronic Respiratory Diseases Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Seyed Alireza Nadji, Professor of Virology Virology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Hamzeh Mohammadi, PhD Candidate, Department of Occupational Health, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Somayeh Farhang Dehghan, (*Corresponding author), Assistant Professor, Workplace Health Promotion Research Center, School of Public Health and Safety, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. somayeh.farhang@gmail.com

Mohammad Hossein Vaziri, Assistant Professor, Workplace Health Promotion Research Center, School of Public Health and Safety, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Hamidreza Jamaati, Professor of Medicine, Chronic Respiratory Diseases Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Mousa Jabbari, Associate Professor, Workplace Health Promotion Research Center, School of Public Health and Safety, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Mohammad Varahram, Assistant Professor Mycobacteriology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Sirvan Zareei, MSc Student, Department of Health, Safety and Environment (HSE), Young Researchers and Elites Club, Electronic Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and aims: Over the past year, millions of people around the world have infected with the COVID-19 virus. The SARS-CoV-2 replicates efficiently in the human upper respiratory tract. Infected people produce large amounts of the virus in their upper respiratory tract during an introductory period, which leads to more spread of the virus to other people. The World Health Organization (WHO) has suggested that acute respiratory syndrome SARS-CoV-2 is transmitted through person-to-person transmission and contact with contaminated surfaces. However, the rapid spread of the disease suggests that other routes, such as airborne transmission, may play a role. Several research studies have been performed to evaluate the possible transmission of the virus through the air. Although some studies have found no evidence of airborne transmission, recent work has confirmed the presence of SARS-CoV-2 even in public places. Experience and knowledge of the mechanism of similar viruses such as SARS-CoV also support this hypothesis. During COVID-19 pandemic, while the hospitals can be one of the most important centers in providing health care services, due to the inappropriate air ventilation and purification system, high traffic of people; some of them have been introduced themselves as one of the most high-risk sources of SARS-CoV-2 transmission. The present study aimed to assess the SARS-CoV-2 in the air and surfaces of ICU ward in one of the designated hospitals in Tehran. So that, in addition to determining the possibility of inhalation and contact exposure in ICU, which is the main ward for presenting special medical care to patients with severe acute respiratory infections, it aimed to assess a hypothesis of SARS-CoV-2 airborne transmission.

Keywords

SARS-CoV-2,
Airborne transmission,
Sampling,
ICU ward

Received: 2020-06-01

Accepted : 2020-11-30

Methods: This cross-sectional experimental study was performed on April 29, 2020 in the Covid-19 ICU ward in one of the designated hospitals, Tehran, Iran. The area of ward was 50 m² and has seven beds, all of which were occupied at the time of sampling, and five medical staff were involving there. All patients were equipped with oxygen masks and all the staff used all conventional personal protective equipment such as Honeywell-75FFP100NL respirators. On average, surface disinfection was performed three times a day. The general ventilation system included the ceiling diffuser to supply fresh air into the room and wall-mounted exhaust vent and did not use natural ventilation (such as opening the window). It should be noted that the exhaust system did not work well at the time of sampling. This study was carried out in two phases including surface and air sampling. Impinger method was applied to air sampling. Thus, at a distance of 1.5 to 1.8 meters from the ground, the air of the ICU ward was passed through a sampling pump with an flow rate of 1.5 l/min into the porous midget impeller-30 ml containing 15 ml of virus transmission medium (PVTM) for 45 minutes. To reverse the presence of SARS-CoV-2 in air samples, the reverse polymerase chain reaction (RT-PCR) reaction method was used. Sampling of surfaces was done with the help of swabs impregnated with the solution of the Viral Transport Medium from a certain area (25 cm²) from the desired part and putting it inside the vial containing the transfer medium (protein stabilizer, antibiotic and buffer solution). They are also were analyzed by RT-PCR technique. Prior to sampling, all laboratory equipment used was sterilized and autoclaved using a 70% alcohol solution according to the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) protocol. The air sampling was done at a distance of 1.5 to 2 meters from the patient's bed. The devices used to measure temperature, humidity and air velocity were multi-purpose anemometer (China BENETE, GM8910,) and air pressure, digital barometer (AIRFLOW, DB2, USA). The mean parameters of weather conditions included: air temperature 24 ° C, humidity 35%, air pressure 1005 mb and air velocity of 0.09 m / s.

Results: Of the ten air samples, 6 were positive (60%), with the highest RNA concentrations observed at the point between beds 6 and 7 (3913 copies per ml). Most of the reported negative air samples were from the middle of the ward, which was further away from the patients' beds. The mean RNA concentration of the virus was obtained 820 ± 2601 copies per milliliter. In addition, of ten samples taken from different surfaces of the ward, 4 samples were positive (40%) and the highest concentration (8318 copies per ml) was related to the table next to bed number 3. All positive samples were observed close to the patient's bed, and the mean RNA concentration of the virus was 3227 ± 3674 copies per milliliter.

Conclusion: The results of the study indicated that the virus was present in the inhaled air of the ward and its surfaces, especially in areas close to the bed of patients. These findings underscore the airborne transmission of the virus along with other ways of transmission, such as person-to-person contact and contact with contaminated surfaces. Due to the environmental pollution of the studied ICU ward to the SARS-CoV-2 virus, the effective implementation of air isolation methods such as the use of respiratory protection equipment (N95 mask) and powered air-purifying respirator as well as ensuring the correct function of hospital ventilation systems and improving it, is essential for the protection of health care staff. Health care workers need to be continuously monitored and screened from a COVID-19 perspective, and infection prevention and control protocols (IPCs), such as respiratory protection, regular cleaning of

the environment, and effective disinfection of areas have been implemented. In the case of the virus, the spread of the disease through both direct methods (drops and person-to-person) as well as indirect contact (contaminated objects and airborne transmission) has almost been proven, which reaffirms the need for precautionary measures regarding airborne isolation against the virus. It has been suggested that in order to more accurately assess the transmission behavior of the virus, similar studies but longitudinal ones have been done from the admission to discharge of the patients in different wards of the hospitals. Moreover, the role of natural and mechanical ventilation systems more comprehensively examined in the presence of airborne virus.

Conflicts of interest: None

Funding: Workplace Health Promotion Research Center, Chronic Respiratory Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences.

How to cite this article:

Seyed Mohammad Seyedmehdi, Seyed Alireza Nadji, Hamzeh Mohammadi, Somayeh Farhang Dehghan, Mohammad Hossein Vaziri, Hamidreza Jamaati, Mousa Jabbari, Mohammad Varahram, Sirvan Zareei. Assessment of SARS-CoV-2 in air and surfaces of ICU ward in one of the designated hospitals in Tehran. *Iran Occupational Health*. 2020 (20 Dec);17: Special Issue: Covid-19.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence





ارزیابی SARS-CoV-2 در هوای سطوح بخش ICU یکی از بیمارستان‌های معین شهر تهران

سید محمد سیدمهدی: استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های مژمن تنفسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

سید علیرضا تاجی: استاد، مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

حمزة محمدی: دانشجوی دکتری، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

سمیه فرنگ‌دھقان: (* نویسنده مسئول) استادیار، گروه بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت محیط کار، دانشکده بهداشت و ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. somayeh.farhang@gmail.com

محمد حسین وزیری: استادیار، گروه سلامت، ایمنی و محیط زیست، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت محیط کار، دانشکده بهداشت و ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

حمدیرضا جماعتی: استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های مژمن تنفسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

موسى جباری قرباغ: دانشیار، گروه بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، مرکز تحقیقات ارتقای سلامت محیط کار، دانشکده بهداشت و ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

محمد ورهام: استادیار، گروه پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

سیروان زارعی: دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مدیریت بهداشت، ایمنی و محیط زیست (HSE)، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کامپیوکنیکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

کلیدواژه‌ها

SARS-CoV-2

انتقال هوایی،

نمونه برداری،

ICU بخش

زمینه و هدف: در حالی که بیمارستان‌ها یکی از نهادهای مهم در ارائه خدمات بهداشتی - درمانی محسوب می‌شوند، این روزها به علت نبود سیستم تبادل و تصفیه هوای کافی، میزان تهویه کم و تردد بیش از اندازه افراد، به یکی از کانون‌های خطر انتقال ویروس SARS-CoV-2 تبدیل شده‌اند. مطالعه حاضر به ارزیابی حضور SARS-CoV-2 در هوای سطوح بخش ICU در یکی از مهم‌ترین بیمارستان‌های معین در شهر تهران می‌پردازد تا از این طریق علاوه‌بر مشخص شدن امکان مواجهه استنشاقی و تماسی افراد در بخش ICU که اصلی‌ترین مرکز ارائه خدمات درمانی ویژه به بیماران با عفونت شدید حاد تنفسی محسوب می‌شود، به بررسی فرضیه انتقال هوایی SARS-CoV-2 نیز پرداخته باشد.

روش بررسی: به منظور نمونه‌برداری از هوای بخش، از روش ایمپینجر استفاده شد؛ به این ترتیب که در فاصله ۱/۵ m³-۰۰-۱۵ لیتر مخلخل- حاوی ۱/۵ میلی لیتر محیط انتقال ویروس، پاستوپرال ترانسپورت مدیوم (PVTM)، به مدت ۴۵ دقیقه عبور داده شد. برای تشخیص حضور SARS-CoV-2 در نمونه‌های هوای از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رونویسی معکوس (RT-PCR) استفاده گردید. نمونه‌برداری از سطوح قسمت‌های مختلف بخش با کمک سوپاً آغشته به محلول محیط انتقال (Viral Transport Medium) از یک سطح مشخص (۲۵ cm²) از محل‌های مورد نظر صورت گرفت و نمونه‌ها داخل ویال حاوی محیط انتقال (تثیت‌کننده پروتئین، آنتی‌پیوتیک و محلول بافر) قرار گرفتند و از طریق روش RT-PCR آنالیز شدند.

یافته‌ها: از ۱۰ نمونه جمع‌آوری شده از هوای اتاق، عدد آن مثبت (۶۰٪) بود که بیشترین علاظت RNA. ۳۹۱۳ کی بی می‌لیتر ثبت شد. اکثر نمونه‌های منفی اعلام شده مربوط به هوای عمومی وسط اتاق بود که فاصله بیشتری از تخت‌های بیماران داشتند. میانگین غلظت RNA ویروس در هوای اتاق مورد بررسی 2601 ± 820 کپی بر میلی لیتر بهداشت آمد. همچنین از ۱۰ نمونه تهیه شده از سطوح مختلف اتاق، ۴ نمونه آن (۴٪) مثبت بود که بالاترین غلظت، 8318 کپی بر میلی لیتر تعیین گردید. تمام نمونه‌های مثبت در کنار تخت بیماران مشاهده شد و میانگین غلظت RNA ویروس در سطوح مورد بررسی 3674 ± 2227 RT-PCR آنالیز شدند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه حاکی از حضور این ویروس در هوای و سطوح بخش ICU بهخصوص محل‌های نزدیک تخت بیماران مبتلا بود. این یافته‌ها بر اrah انتقال هوایی این ویروس در کنار سایر طرق انتقال، مانند تماس فرد به فرد و تماس با سطوح آلوهه، تأکید می‌کند. با توجه به آلودگی محیط بخش ICU مورد مطالعه به ویروس SARS-CoV-2. اجرای مؤثر روش‌های ایزو‌لاسیون هوایی مانند استفاده از تجهیزات حفاظت تنفسی (ماسک N95) و ماسک‌های الکترونیکی و همچنین اطمینان از صحیت عملکرد سیستم‌های تهویه بیمارستانی و بهبود آن جهت حفاظت از کارکنان مراقبت‌های بهداشتی کاملاً ضروری است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: مرکز تحقیقات ارتقاء سلامت محیط کار، مرکز تحقیقات بیماری‌های مژمن تنفسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

شیوه استناد به این مقاله:

Seyed Mohammad Seyedmehdi, Seyed Alireza Nadji, Hamzeh Mohammadi, Somayeh Farhang Dehghan, Mohammad Hossein Vaziri, Hamidreza Jamaati, Mousa Jabbari, Mohammad Varahram, Sirvan Zareei. Assessment of SARS-CoV-2 in air and surfaces of ICU ward in one of the designated hospitals in Tehran. Iran Occupational Health. 2020 (20 Dec);17: Special Issue: Covid-19.

* انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA صورت گرفته است

مقدمه

افراد بیمار، تحقیقات پزشکی و آموزش نیروهای مورد نیاز گروههای درمانی و پزشکی، نقش مهمی را ایفا می‌کند. وجود عوامل زیان‌آور در محیط بیمارستان بر سطح سلامتی بیماران تأثیر خواهد داشته و حتی ممکن است حضور آلاینده‌های بیولوژیک و میکرواورگانیسم‌ها بیماری افراد را تشدید کند. توجه به کیفیت هوای داخلی در بیمارستان‌ها بهدلایل متعددی حائز اهمیت است؛ زیرا مطالعات در بیمارستان‌های اروپایی نشان می‌دهد عفونت‌های بیمارستانی در افزایش میزان مرگ‌ومیر دخیل بوده و بسیاری از این عفونت‌ها توسط پاتوژن‌های موجود در هوای (هوابرد) منتقل می‌شوند. افزون بر این، بسیاری از بیماران مبتلا به عفونت‌هایی می‌گردند که از طریق هوای انتقالی اند که در این میان، بخش‌های مراقبت‌های ویژه (ICU) از پرخطرترین مکان‌ها برای ابتلا به عفونت بیمارستانی بهشمار می‌روند. (۷)

هوا نیز، به عنوان ضروری‌ترین نیاز بشر، حاوی ذرات و میکروارگانیسم‌های مختلفی است. این در حالی است که تنفس افراد در هر محیطی یک منبع گرمایزا و آلاینده‌ساز بوده و باعث می‌گردد مقدار زیادی از این ذرات معلق توسط سایر افراد استنشاق شود. سایر فعالیت‌های ریوی روزمره مانند سرفه، عطسه و صحبت کردن نیز منابع بی‌هوایی هستند که می‌توانند به عنوان عوامل بیماری‌زای مسئول انتقال بیماری‌های عفونی مطرح باشند. (۸) آلوده‌کننده‌های بیولوژیک هوابرد (بیوآئروسل) شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و... هستند. قطر این ذرات ۱۰۰/۰ تا ۱۰۰ میکرومتر است. آئروسل‌ها ذرات جامد، مایع یا ذرات معلق در هوای هستند و ۵ دقیقه صحبت کردن و سرفه کردن هر کدام ممکن است ۳۰۰۰ قطره تولید کند. همچنین عطسه کردن حدوداً ۴۰۰۰ قطره، عمدتاً با قطر حدود ۱۲/۵ میکرومتر ایجاد می‌نماید. (۷)

به طور کلی ۷۵٪ از میکروارگانیسم‌ها پتانسیل انتقال از طریق هوای دارند و به طور میانگین ۱۰٪ درصد از عفونت‌های بیمارستانی هوابرد هستند. همچنین به طور میانگین ۱۶٪ از عفونت‌های بخش مراقبت‌های ویژه درنتیجه انتقال پاتوژن‌های هوابرد است. (۹) عوارض تنفسی و تضعیف عملکرد ریه از مهم‌ترین اثرات بهداشتی ناشی از مواجهه با بیوآئروسل‌ها به حساب می‌آید. برای افراد شاغل در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی بیوآئروسل‌ها از جمله عوامل زیان‌آور شغلی محسوب می‌گردد و معضلاتی از قبیل کاهش بهره‌وری در محیط

در ۲۹ دسامبر ۲۰۱۹، پزشکان بیمارستانی واقع در شهر ووهان چین متوجه موارد غیرمعمولی از بیماران مبتلا به ذات‌الریه شدند. (۱) بررسی‌های بعدی نشان داد منشأ این بیماری از بازار غذایی دریایی، طیور و حیوانات زنده واقع در شهر ووهان واقع در استان هوبای در مرکز چین بوده است. (۲) پس از افزایش موارد ابتلا و گسترش جهانی این ویروس، سازمان جهانی بهداشت (WHO) در تاریخ ۳۰ ژانویه ۲۰۲۰ با انتشار بیانیه‌ای، شیوع کروناویروس جدید را ششمین عامل وضعیت اضطراری بهداشت عمومی در سرتاسر جهان اعلام نمود که تهدیدی نه فقط برای چین، بلکه برای تمام کشورها بهشمار می‌رفت. (۳) سازمان جهانی بهداشت در تاریخ ۱۱ فوریه ۲۰۲۰، نام رسمی را برای بیماری ویروس جدید کرونا تحت عنوان کووید ۱۹ (COVID-19) انتخاب نمود و کمیته بین‌المللی طبقه‌بندی ویروس‌ها^۱ (ICTV) نیز در همین روز، نام ویروس ایجاد‌کننده این بیماری را از 2019-nCoV به SARS-CoV-2 تغییر داد. (۴)

ویروس COVID-19 یک ویروس پوشش‌دار با ژنومی از نوع ریبونوکلئیک‌اسید به طول ۲۹/۸ کیلو باز است. ژنوم این ویروس دارای ۱۴ قالب خواندن باز^۲ (ORF) است که ۲۷ پروتئین را کد می‌کنند. (۵) ویروس جدید کرونا به طور کارآمدی در دستگاه تنفسی فوقانی تکثیر می‌شود. افراد آلوده در طول یک دوره مقدماتی، مقادیر زیادی از ویروس را در دستگاه تنفسی فوقانی خود تولید می‌کنند که این امر منجر به انتشار بیشتر این ویروس به سایر افراد می‌گردد. عفونت با ویروس جدید کرونا در مرحله مقدماتی با علائم غیراختصاصی و کلی نظیر احساس کسالت، خستگی و بدن‌درد، تب و سرفه خشک همراه است. بیماران کمی قبل از تب ممکن است در ابتداء علائمی از حالت تهوع و اسهال داشته باشند. تعداد کمی از بیماران ممکن است سرد در یا استفراغ خونی نیز داشته و حتی نسبتاً بدون علامت باشند. علاوه‌بر این، تب، سرفه، تنگی نفس و درد عضله و خستگی نیز به ترتیب جزو شایع‌ترین علائم بالینی این عفونت گزارش شده است. (۶) در این مقوله، بیمارستان یکی از نهادهای مهم در خدمات رسانی بهداشتی - درمانی است که با امکانات و تسهیلات خود در بازگرداندن سلامت جسمی و روحی

¹ International Committee on Taxonomy of Viruses

² Open reading frame

سیستم تهویه این بخش را مدنظر قرار داد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی - مقطعی در ۱۰ اردیبهشت ۱۳۹۹ در بخش ICU مختص بیماران مبتلا به کووید ۱۹ یکی از بیمارستان‌های معین تابع دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گردید. این بخش به ابعاد تقریبی ۵۰ مترمربع دارای ۷ تخت بستری است که به هنگام نمونه‌برداری هر ۷ تخت آن اشغال بود (شکل ۱) و ۵ پرسنل قادر درمانی در بخش درحال رفت‌وآمد بودند. همه بیماران مجهز به ماسک اکسیژن و تمام پرسنل مجهز به همه تجهیزات حفاظت فردی مرسوم مانند ماسک تنفسی مدل 75FFP100NL-Honeywell در ۷۵ بودند. به طور متوسط در طول شبانه‌روز، ۳ مرتبه ضدغونی سطوح در این بخش انجام می‌شد. سیستم تهویه عمومی این بخش شامل تعبیه مانند‌های از نوع شکافدار و شیاردار در سقف اتاق و حضور مکنده‌های شکافدار دیواری بود و از تهویه طبیعی (مانند باز کردن پنجره) نیز استفاده نمی‌کردند (شایان ذکر است سیستم مانند این بخش در زمان نمونه‌برداری غیر فعال بود). این مطالعه در دو فاز شامل نمونه‌برداری از سطوح و نمونه‌برداری از هوا انجام شد (شکل ۲) که جزئیات اجرای آن در ادامه آورده شده است.

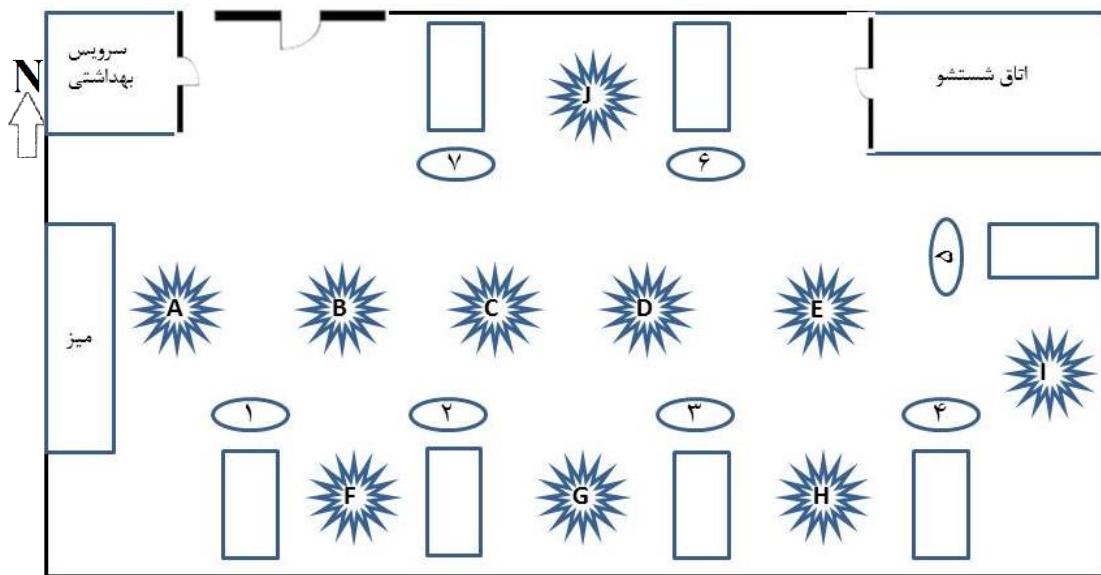
مطالعه حاضر دارای مصوبه اخلاق در پژوهش با شناسه IR.SBMU.PHNS.REC.1399.049 در کمیته اخلاق دانشکده بهداشت و ایمنی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است.

به منظور نمونه‌برداری از هوا اتاق، از روش نمونه‌برداری بهوسیله ایمپینجر استفاده شد (شکل ۲-الف) (۱۷)، به این ترتیب که در فاصله ۱/۵ تا ۱/۸ متری از سطح زمین، هوا بخش از طریق یک پمپ نمونه‌برداری با نرخ هواگذر ۱/۵ لیتر بر دقیقه به داخل ایمپینجر متخالخ-ml^{۳۰}-حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط انتقال ویروس، پاستوویرال ترانسپورت مدیوم (PVTM)، به مدت ۴۵ دقیقه عبور داده شد. قبل از نمونه‌برداری، تمام وسایل آزمایشگاهی مورد استفاده با محلول الکل ۷۰٪ براساس پروتکل مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های امریکا (CDC) استریل و اتوکلاو شد. محلهای نمونه‌برداری از هوا عمومی بخش (با رعایت فاصله ۱/۵ تا ۲ متری از تخت بیمار) (۱۷) با علامت ستاره در شکل ۱ مشخص است. دستگاه‌های مورد استفاده جهت سنجش دمای و رطوبت

کار و غیبت از کار و غیره را سبب می‌شود. (۱۰) به طور کلی نوع بیماران بستری در بیمارستان، میزان رطوبت، وسعت فضا و وضعیت تهویه از عوامل مؤثر بر تراکم بیوآئروسل‌ها است که برای کنترل آن باید نقش هر کدام از این عوامل بررسی و در برنامه کاهاش بار آولدگی به همه آن‌ها توجه شود. (۱۱) عوارض بهداشتی ناشی از استنشاق بیوآئروسل‌ها باعث ایجاد هزینه‌های سنگین به سیستم بهداشتی کشورها بهخصوص کشورهای در حال توسعه می‌شود. (۱۲)

سازمان جهانی بهداشت پیشنهاد کرده است که سندروم حاد تنفسی SARS-CoV-2 از طریق انتقال فرد به فرد و تماس با سطوح آلوده منتقل می‌شود. با این حال، گسترش سریع این بیماری نشان می‌دهد ممکن است مسیرهای دیگری مانند انتقال هوایی در این خصوص نقش داشته باشد. چند مطالعه تحقیقاتی برای ارزیابی انتقال احتمالی این ویروس از طریق هوا انجام شده است. اگرچه برخی از پژوهش‌ها شواهدی مبنی بر انتقال هوابرد پیدا نکرده‌اند، کارهای اخیر جدید حضور SARS-CoV-2 حتی در اماكن عمومی را اثبات کرده است. همچنین تجربیات و دانش گذشته درباره مکانیسم ویروس‌های مشابه مانند-SARS-CoV از این فرضیه پشتیبانی می‌کند. (۱۳)

اهمیت استنشاق هوا پاک و توجه به آنچه از طریق تنفس وارد بدن می‌شود، روزبه‌روز نمود بارزتری پیدا می‌کند. از سوی دیگر وضعیت بحرانی ناشی از ویروس کرونا بر کسی پوشیده نیست. (۱۴) این در حالی است که سیستم ناکافی تبادل و تصفیه هوا، میزان تهویه کم و تردد بیش از اندازه افراد، از عوامل خطرساز در هوا داخل بیمارستان‌هاست (۱۵)، به طوری که در این محیط‌های محصور، کارکنان، کادر درمانی، خدماتی، بیماران و ملاقات‌کنندگان در معرض ریسک استنشاق بیوآئروسل‌ها و تماس با سطوح آلوده به آن‌ها قرار دارند. (۱۶) لذا مطالعه حاضر به ارزیابی حضور SARS-CoV-2 در هوا و سطوح اتاق ICU بیماران مبتلا در یکی از مهم‌ترین بیمارستان‌های معین در سطح کشور می‌پردازد تا این طریق علاوه‌بر مشخص شدن امکان مواجهه استنشاقی و تماسی افراد در بخش ICU که اصلی‌ترین مرکز ارائه خدمات درمانی ویژه به بیماران با عفونت شدید حاد تنفسی محسوب می‌شود، به بررسی فرضیه انتقال هوابرد SARS-CoV-2 نیز پرداخته باشد. ضمن اینکه با نتایج این مطالعه، می‌توان در گام بعدی، ارزیابی و بهبود عملکرد



شکل ۱ - طرح شماتیک از محل نمونهبرداری

۰/۵ میکرولیتر از پرایمیرها و پروب مخصوص Mix SARS-CoV-2 پیشنهادشده توسط WHO، ۲ لیتر آب PCR برای RNA راقد نوکلئاز بود. در آخر، ۵ لیتر از نمونه آماده شده قرائت مستقیم آماده سازی گردید. واکنش های آماده شده با شرایط اولیه ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه و بدنبال آن ۴۵ چرخه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه اجرا شد. مقادیر CT^۳ (حد آستانه) بالاتر از ۳۸ به عنوان نتایج منفی در نظر گرفته شد. (۱۷)

نمونه برداری از سطوح قسمت های مختلف بخش مورد مطالعه مانند میز گزارش نویسی، میز کنار تخت بیمار، سرویس بهداشتی، میز قابل حمل و ظرف شویی صورت گرفت (شکل ۲- ب). برای این منظور با کمک سوپا آگشته به محلول محیط انتقال Viral Transport Medium، YOCON, China (cm²) نمونه ها از محل های مورد نظر گرفته شد (۱۸) و داخل ویال حاوی محیط انتقال (تبیت کننده پروتئین، آنتی بیوتیک و محلول بافر) قرار گرفت و با استفاده از باکس یخ به آزمایشگاه های ویروس شناسی فرستاده شد. برای آنالیز این نمونه ها از روش RT-PCR (همانند نمونه های هوا) استفاده گردید. (۱۹) حد پایین تشخیص (LOD) روش آنالیز حدود ۱۰۰ کپی در میلی لیتر محیط انتقال بود. (۲۰)

^۳ Cycle threshold

و سرعت هوا، دستگاه آنومومتر چندمنظوره (China) (BENETE, GM8910, AIRFLOW, DB2, USA) بود. میانگین پارامترهای شرایط جوی به نگام نمونه برداری شامل دمای هوا: ۲۴ درجه سانتی گراد، رطوبت ۳۵٪، فشار هوا ۱۰۰.۵ میلی بار و سرعت هوا ۰/۰۹ متر بر ثانیه به دست آمد.

ماده داخل ایمپینجر حاوی ۱۵ میلی لیتر بافر هنکس، آنتی بیوتیک، فنل رد (نشانگر pH) بود. نمونه های جمع آوری شده بعد از اتمام نمونه برداری داخل باکس یخ قرار داده و به آزمایشگاه ویروس شناسی انتقال داده شد. در آزمایشگاه، نمونه ها به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. برای تشخیص حضور SARS-CoV-2 در نمونه های هوا، از آغازگر (پرایم) خاص و پروب واکنش زنجیره ای پلیمراز رونویسی معکوس (RT-PCR) با هدف تشخیص پلیمراز وابسته به (RdRp) RNA و ژن های پوششی برای تعیین ژنوم ویروسی استفاده شد. با استفاده از یک کیت استخراج اسیدهای نوکلئیک ویروسی (DNA/RNA)، RT-PCR RNA ویروسی از ماده نمونه استخراج و قبل از PCR در داخل یک بافر شستشو جمع آوری شد. تقویت SuperScript RT-PCR یک مرحله ای با سیستم III Platinum™ Taq DNA Polymerase با Invitrogen 2X Master شامل ۱۲/۵ میکرولیتر انجام شد. هر واکنش شامل

^۱ Reverse transcription -Polymerase Chain Reaction
^۲ Envelop (E) genes

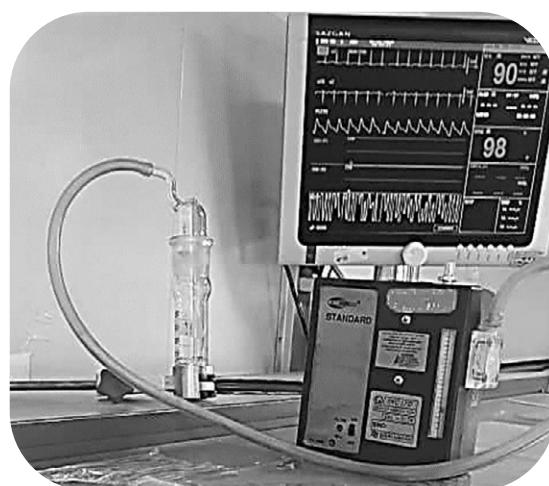
غلظت RNA ثبت شده ویروس در هوای بخش مورد بررسی 2601 ± 820 کپی بر میلی لیتر به دست آمد. مطابق جدول ۲، از ۱۰ نمونه تهیه شده از سطوح مختلف بخش، ۴ نمونه آن (۴۰٪) مثبت بود که بالاترین غلظت ۸۳۱۸ کپی بر میلی لیتر) مربوط به میز کنار تخت شماره ۳ است. همان طور که جدول ۲ نشان می‌دهد، تمام نمونه‌های مثبت در کنار تخت بیماران مشاهده شد. میانگین غلظت RNA ثبت شده ویروس در سطوح مورد بررسی 3227 ± 3674 کپی بر میلی لیتر تعیین گردید.

یافته‌ها

نتایج نمونه‌برداری از هوای سطوح مختلف بخش ICU به ترتیب در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است. مطابق جدول ۱، از ۱۰ نمونه جمع‌آوری شده از هوای اتاق، ۶ عدد آن مثبت (۶۰٪) بود که بیشترین غلظت RNA مشاهده شده مابین تخت شماره ۶ و ۷ بود (۳۹۱۳ کپی در میلی لیتر). همان طور که جدول ۱ نشان می‌دهد، بیشتر نمونه‌های منفی اعلام شده مربوط به هوای عمومی وسط بخش است که فاصله بیشتری از تخت‌های بیماران داشتند. میانگین



ب- نمونه برداری از سطوح



الف- نمونه برداری از هوای

شکل ۲- تصاویری از نحوه نمونه‌برداری از بخش ICU. شکل الف: تصویری از ستاپ نمونه‌برداری از هوای شامل پمپ نمونه‌برداری و ایمپینجر حاوی محیط انتقال؛ شکل ب- و شکل ب: تصویری از نحوه نمونه‌برداری از سطوح آغشته به محلول محیط انتقال با کمک را در محل مورد مطالعه نشان می‌دهد.

جدول ۱- نتایج نمونه‌برداری SARS-CoV-2 از هوای

محل نمونه‌برداری	نتیجه	غلظت RNA ویروس (کپی در میلی لیتر)
A	مثبت	۲۲۲۶
B	منفی	-
C	منفی	-
D	منفی	-
E	مثبت	۲۳۹۰
F	مثبت	۲۸۲۲
G	مثبت	۲۸۲۲
H	منفی	-
I	مثبت	۱۴۳۴
J	مثبت	۳۹۱۳

جدول ۲- نتایج نمونه برداری SARS-CoV-2 از سطوح

محل نمونه برداری	نتیجه	غایله RNA ویروس (کپی در میلی لیتر)
میز گزارش نویسی بخش	منفی	-
میز کنار تخت شماره ۱	ثبت	۱۵۲۲
ترالی تخت شماره ۲	منفی	-
میز کنار تخت شماره ۳	ثبت	۸۳۱۸
مانیتور کنار تخت شماره ۴	منفی	-
میز کنار تخت شماره ۵	منفی	-
کنار ظرفشویی	منفی	-
میز کنار تخت شماره ۶	ثبت	۱۴۴۳
میز کنار تخت شماره ۷	ثبت	۳۴۱۳
شیرآلات سرویس بهداشتی	منفی	-

آئروسل‌های حاوی ویروس وجود داشته باشد. از علت‌های اختلاف نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر می‌توان به وجود سیستم‌های تهویه مکانیکی و طبیعی فعال در بخش‌های مورد بررسی مطالعه فریدی و همکاران، تفاوت در حجم و نوع مدیای نمونه برداری دو مطالعه و بزرگ بودن فضاهای مورد بررسی نسبت به تعداد بیماران (برای مثال ۳۳۵ مترمربع برای ۹ بیمار) پژوهش فریدی و همکاران اشاره کرد.

نتایج نمونه برداری از سطوح مختلف بخش ICU حاکی از آن بود که در ۴۰٪ از آن‌ها حضور SARS-CoV-2 تأیید شده بود که تمام نمونه‌های مثبت در کنار تخت بیماران مشاهده گردید که این موضوع هم راستا با نتایج نمونه‌های هوای بخش بود. با این حال، تعداد نمونه‌های مثبت هوای بخش مورد بررسی از تعداد نمونه‌های مثبت سطوح آن بیشتر بود. از دلایل آن می‌توان به این موضوع اشاره کرد که سطوح مورد نظر طی شبانه‌روز ۳ مرتبه ضدغونی می‌شوند و این در حالی است که اتاق در زمان نمونه برداری فاقد تهویه طبیعی بود و سیستم‌های مکنده آن نیز فعال نبود و صرفاً دمدمش هوای از طریق دمنده‌های سقفی و خروج هوای‌نگام باز و بسته شدن در ورودی اتاق صورت می‌گرفت و این چنین تعداد جایه‌جایی هوای به حد کفایت نبود و تعویض هوای به خوبی در بخش مورد نظر انجام نمی‌شد.

سانترارپیا^۳ و همکاران در سال ۲۰۲۰ به بررسی پتانسیل انتقال SARS-CoV-2 در مرکز پزشکی دانشگاه نبراسکا^۴ پرداختند. (۱۹) آن‌ها سه نوع نمونه را مورد ارزیابی قرار

بحث

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کیفی و کمی SARS-CoV-2 در هوای سطوح بخش ICU، به عنوان اصلی ترین مرکز ارائه خدمات درمانی ویژه به بیماران با عفونت شدید حاد تنفسی، در یکی از بیمارستان‌های معین شهر تهران انجام شد. این تحقیق برآن بود که امکان مواجهه استنشاقی و تماسی افراد حاضر در بخش ICU را بررسی نماید و همچنین به این فرضیه پردازد که آیا امکان انتقال هوای برداشته این ویروس وجود دارد. مطابق یافته‌های مطالعه، حضور SARS-CoV-2 در ۶۰٪ نمونه‌های هوای گرفته شده از این بخش تأیید شد که عمدهاً مربوط به نقاط اندازه‌گیری نزدیک تخت بیماران می‌شوند. فریدی و همکاران در ۱۷ مارس ۲۰۲۰ (۱۳۹۸) به بررسی SARS-CoV-2 در هوای اتاق‌های مختلف ICU در مجتمع بیمارستانی امام خمینی پرداختند. (۱۷) نمونه‌های هوای در ایمپینجر استریل استاندارد حاوی ۲۰ میلی لیتر DMEM^۱ با ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر استرپتومایسین، ۱۰۰ U/mL^۲ پنی‌سیلین و ۰.۱٪ معرف ضد کف به مدت ۱ ساعت جمع‌آوری شده بود. در این مطالعه، تمام نمونه‌های هوای که در فاصله ۲ تا ۵ متری از تخت بیماران مبتلا جمع‌آوری شده بود، منفی گزارش شد. با اینکه که جواب تمام نمونه‌های هوای منفی بود، نویسنده‌گان مقاله پیشنهاد دادند آزمایش‌های درون‌تنی^۲ با بهره گیری از شرایط واقعی حالت‌های بیمار مثل سرفه، عطسه و تنفس انجام شود تا امکان بررسی تولید

³ Santarpia
⁴ Nebraska

¹ Dulbecco's Modified Eagle's medium
² In Vivo

برای چندین ساعت در هوای برای ۲ روز بر روی سطوح باقی بماند. (۲۲) با توجه به آلودگی محیط بخش ICU مطالعه به ویروس SARS-CoV-2، اجرای مؤثر روش‌های ایزولاسیون (جداسازی) هوایی مانند استفاده از تجهیزات حفاظت تنفسی (ماسک N95) و ماسک‌های الکتریکی تصفیه کننده هوایی و همچنین اطمینان از صحت عملکرد سیستم‌های تهویه بیمارستانی و بهبود آن جهت حفاظت از کارکنان مراقبت‌های بهداشتی امری کاملاً ضروری است. لازم است کارکنان مراقبت‌های بهداشتی به طور پیوسته از نظر COVID-19 مورد بررسی و غربالگری قرار گیرند و پروتکل‌های پیشگیری و کنترل عفونت (IPC)، مانند حفاظت تنفسی، تمیز کردن منظم محیط و ضدغونی کردن مناطق مراقبت از بیمار و محیط‌های اطراف به طور مؤثر اجرا شود. در مورد این ویروس، انتشار بیماری از طریق هر دو روش مستقیم (قطره و فرد به فرد) و همچنین تماس غیرمستقیم (اشیای آلوده و انتقال هوایی) تقریباً به اثبات رسیده که این موضوع تأکید مجددی بر لزوم اتخاذ اقدامات احتیاطی درخصوص ایزولاسیون هوایی در برابر این ویروس است. (۱۹)

نتیجه‌گیری

این پژوهش به صورت مقطعی در یکی روزهای اردیبهشت ۱۳۹۹ در بخش ICU یکی از بیمارستان‌های معین ویروس کووید ۱۹ در شهر تهران انجام شد. نتایج آن حاکی از حضور این ویروس در هوای عمومی بخش و سطوح آن، به خصوص محل‌های نزدیک تخت بیماران مبتلا، بود. نتایج این مطالعه بر راه انتقال هوایی این ویروس در کنار سایر طرق انتقال، مانند تماس فرد به فرد و تماس با سطوح آلوده، تأکید می‌کند. با این حال، پیشنهاد می‌گردد به منظور ارزیابی دقیق‌تر رفتار انتقالی این ویروس، مطالعاتی مشابه ولی به صورت طولی از زمان بستری بیماران مبتلا تا زمان تخریص، علاوه‌بر اتفاق ICU در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های معین صورت گیرد؛ ضمن آنکه به صورت جامع‌تر نقش سیستم‌های تهویه طبیعی و مکانیکی در حضور هوایی این ویروس بررسی گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مشترک بین سه مرکز تحقیقات ارتقای سلامت محیط کار، مرکز

دادند: نمونه‌های سطوح (سطح مشترک اتفاق‌ها، وسائل شخصی و سرویس بهداشتی)، نمونه‌های هوای با حجم بالا (نمونه‌برداری محیطی) و نمونه‌های هوای با حجم پایین (نمونه‌برداری فردی). نمونه‌های هوای محیطی با دبی ۵۰ لیتر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه بر روی فیلتر ژلاتینی ۸۰ میلی‌متری و نمونه‌های فردی با دبی ۴ لیتر بر دقیقه بر روی فیلتر ژلاتینی ۲۵ میلی‌متری جمع‌آوری گردید. نمونه‌های سطوح و آتروسل با استفاده از RT-PCR با هدف قرار دان ژن E مربوط به ویروس SARS-CoV-2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه، ۷۵٪ نمونه‌های سطوح مربوط به میز کناری تخت‌های بیماران (با متوسط غلظت حدود ۲۰۰ کپی بر میلی‌لیتر)، ۱۰۰٪ نمونه‌های فردی اتفاق‌های بستری (با متوسط غلظت حدود ۴۰۰ کپی بر میلی‌لیتر) و حدود ۶۷٪ نمونه‌های هوای محیطی راهروها (با متوسط غلظت حدود ۱۰۰ کپی بر میلی‌لیتر) مثبت ارزیابی شد که نشان‌دهنده انتقال ذرات حاوی ویروس از اتفاق‌های بستری به سمت راهروها طی فعالیت‌های نمونه‌برداری بود. مطالعه سانتارپیا و همکاران نیز مشابه پژوهش حاضر، حضور ویروس SARS-CoV-2 در سطوح و هوای اتفاق‌های مربوط به بستری بیماران مبتلا را نشان می‌دهد. با این حال، غلظت‌های گزارش شده در بررسی سانتارپیا و همکاران کمتر از غلظت‌های به دست آمده در مطالعه پیش‌رو است که از دلایل آن می‌توان به روش‌های مختلف نمونه‌برداری، متفاوت بودن عملکرد سیستم‌های تهویه در بیمارستان‌های مورد بررسی و همچنین متفاوت بودن بخش‌های مورد بررسی در بیمارستان و نسبت تعداد بیماران به فضای اتفاق اشاره نمود.

نتایج تحقیقات اخیر که آتروسل‌های انتشاریافته از طریق انسان را ارزیابی کرده‌اند، نشان می‌دهند بخش قابل توجهی از ذرات معلق در هوای منتشرشده از طریق انواع فعالیت‌های انسانی (مانند تنفس، سرفه و صحبت کردن) دارای قطر کمتر از ۱۰ میکرون هستند و وجود بیماری‌های تنفسی فوقانی باعث افزایش تولید این ذرات معلق در هوای می‌شود. (۲۱) درمجموع نتایج این مطالعات حاکی از آن است که ویروس از افراد مبتلا، حتی با میزان خفیف بیماری، منتشر می‌شود و می‌تواند در محیط اطراف حتی در صورت عدم سرفه یا سایر روش‌های تولید آتروسل منتقل گردد. (۱۹) به علاوه مطالعه‌ای جدید در مورد آتروسل SARS-CoV-2 و میزان تهنشست آن بر روی سطوح حاکیز از آن است که این آتروسل عفونی می‌تواند

- infection control in health-care settings: World Health Organization; 2009.
13. Hadei M, Hopke PK, Jonidi A, Shahsavani A: A Letter about the Airborne Transmission of SARS-CoV-2 Based on the Current Evidence. *Aerosol and Air Quality Research*. 2020; 20(5): 911-914.
14. Sadeghi Hasanvand Z, Sekhavatjo MS: Assessment the bio-aerosols type and concentration in various wards of Valiasr Hospital, Khorramshahr during 2011. *Iranian journal of health and environment*. 2013; 6(2): 201-210.
15. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, Meng J, Zhu Z, Zhang Z, Wang J: Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell host & microbe*; 2020.
16. Dehdashti A, Sahranavard N, Rostami R, Barkhordari A, Banayi Z: Survey of bioaerosols type and concentration in the ambient air of hospitals in Damghan, Iran. *Occupational medicine quarterly Journal*. 2013; 4(3): 41-51.
17. Faridi S, Niazi S, Sadeghi K, Naddafi K, Yavarian J, Shamsipour M, Jandaghi NZS, Sadeghniat K, Nabizadeh R, Yunesian M: 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.
18. Surface sampling of coronavirus disease (COVID-19): A practical “how to” protocol for health care and public health professionals [<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331058>]
19. Santarpia JL, Rivera DN, Herrera V, Morwitzer MJ, Creager H, Santarpia GW, Crown KK, Brett-Major D, Schnaubelt E, Broadhurst MJ: Transmission Potential of SARS-CoV-2 in Viral Shedding Observed at the University of Nebraska Medical Center. *MedRxiv*; 2020.
20. Arnaout R, Lee RA, Lee GR, Callahan C, Yen CF, Smith KP, Arora R, Kirby JE: SARS-CoV2 Testing: The Limit of Detection Matters. *bioRxiv : the preprint server for biology* 2020:2020.2006.2002.131144.
21. Lee J, Yoo D, Ryu S, Ham S, Lee K, Yeo M, Min K, Yoon C: Quantity, size distribution, and characteristics of cough-generated aerosol produced by patients with an upper respiratory tract infection. *Aerosol and Air Quality Research*. 2018; 19(4): 840-853.
22. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, Tamin A, Harcourt JL, Thornburg NJ, Gerber SI: Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*. 2020; 382(16): 1564-1567.

تحقیقات بیماری‌های مزمن تنفسی و مرکز تحقیقات وبروس‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (کد طرح: 23698) می‌باشد که با حمایت مالی این دانشگاه اجرا شده است.

References

1. Yang Y, Lu Q, Liu M, Wang Y, Zhang A, Jalali N, Dean N, Longini I, Halloran ME, Xu B: Epidemiological and clinical features of the 2019 novel coronavirus outbreak in China. *MedRxiv* 2020.
2. Heymann DL, Shindo N: COVID-19: what is next for public health? *The Lancet*. 2020; 395(10224): 542-545.
3. Zu ZY, Jiang MD, Xu PP, Chen W, Ni QQ, Lu GM, Zhang LJ: Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a perspective from China. *Radiology*. 2020: 200490.
4. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X: Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506.
5. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qiu Y, Wang J, Liu Y, Wei Y: Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*. 2020; 395(10223): 507-513.
6. Xu J, Zhao S, Teng T, Abdalla AE, Zhu W, Xie L, Wang Y, Guo X: Systematic comparison of two animal-to-human transmitted human coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Viruses*. 2020; 12(2): 244.
7. Hasanvand Z, Sekhavatjo M, Zakavat R: Assessment the Bio-Aerosols Type and Concentration in Various Wards of Valiasr Hospital, Khorramshahr during 2011. *Iranian Journal of Health and Environment*.
8. Wu Z, McGoogan JM: Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Jama*; 2020.
9. Harison: Infectious Diseases, vol. 12. Tehran: ayene book; 1990 .
10. Bisesi M, Kohn P: Industrial hygiene evaluation methods michaels. In.: Lewis; 2004.
11. Günal MM, Pidd M: DGHPSIM: generic simulation of hospital performance. *ACM Transactions on Modeling and Computer Simulation (TOMACS)*. 2011; 21(4): 1-22.
12. Chartier Y, Pessoa-Silva C: Natural ventilation for