

Prevalence of bacteria resistance to antiseptic and antibiotic agents in the air at several Tehran subway stations

Sepideh Raihani, Jamileh Norouzi *, Abas Akhavan Sepahi

Department of Microbiology, School of Biology Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, IR Iran

(Received: 2015/12/27 Accept:2016/07/2)

Abstract

Background: Bioaerosols are suspended particles in air that contain organic compounds or microorganisms which moved by air flow or other physical factors and can transmit microorganisms, especially pathogens. The purpose of this study was to survey of resistance bacteria to disinfectants and antibiotics in the air at several subway stations.

Materials and Methods: In this study, sampling was performed in the air subway stations. After bacterial species identification, antibiotic resistance against various antimicrobial agents was performed by disk diffusion and broth dilution methods. The presence of *qacA/B* gene was studied in sensitive and resistant *S. aureus* and *E. coli* strains by PCR methods.

Results: In the current study, the prevalence of gram negative strains were lower than gram positive strains. Moreover, most strains were *S. aureus* and *E. faecalis* and the latest isolates were *E. coli*, respectively. The highest and lowest prevalence of *qacA/B* genes were *S. aureus* (23%) and *E. coli* (7%).

Conclusion: Due to the presence of pathogenic strains that can cause illness, it is necessary that cleaning to be done in subway stations using combinations of strong disinfectant. With regard to the availability and ease of use of sodium hypochlorite, is recommended that 5% sodium hypochlorite to be used and the other detergents be used periodically in order to prevent resistant of bacteria.

Keywords: Bacteria, Antiseptic, Antibiotics, Subway.

* Corresponding authors: Jamileh Norouzi
E-mail: alm3370@yahoo.com

فراوانی باکتری‌های مقاوم به مواد ضد عفونی کننده و آنتی بیوتیک‌ها در هوای ایستگاه‌های مترو در شهر تهران

سپیده ریحانی، جمیله نوروزی*، عباس اخوان سپه‌پی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۴/۱۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۰۶

چکیده:

سابقه و هدف: ذرات ریز زیستی، ذرات معلق و موجود در هوا است که حاوی میکروارگانیسم‌ها یا ترکیب‌های آلی هستند که با جریان باد، تغییرهای جریان هوا و عوامل دیگر فیزیکی جابه جا می‌شوند و می‌توانند باعث انتقال میکروارگانیسم‌ها به خصوص عوامل بیماری‌زا شوند. هدف از این مطالعه، بررسی باکتری مقاوم به مواد ضد عفونی کننده و آنتی بیوتیک‌ها در هوای ایستگاه‌های مختلف مترو بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از هوای جاری در ایستگاه مترو و از سطوح سکو و صندلی، نمونه برداری انجام شد. پس از تعیین جنس و گونه باکتری‌های به دست آمده، مقاومت آنتی بیوتیکی در برابر عوامل ضد میکروبی مختلف با استفاده از روش انتشار از ژل و رقت‌سازی در لوله انجام شد. وجود ژن *qacA/B* در سویه‌های حساس و مقاوم *S. aureus* و *E. coli* با روش *PCR* بررسی شد.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر فراوانی سویه‌های گرم منفی کمتر از سویه‌های گرم مثبت بود به طوری که بیشترین سویه‌ها به ترتیب *S. aureus* و *E. faecalis* و کمترین آن‌ها *E. coli* بود. ۲ درصد از سویه‌های *S. aureus* در آزمون کربی باثر به‌عنوان *MRSA* در نظر گرفته شدند. بیشترین و کمترین فراوانی ژن *qacA/B* به ترتیب در سویه‌های *S. aureus* (۳۲ درصد) و *E. coli* (۷ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: وجود باکتری‌های مقاوم که می‌توانند ایجاد بیماری کنند، جای نگرانی دارد و اقدام‌های لازم برای کاهش آلودگی به این باکتری‌ها توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: باکتری، مواد ضد عفونی کننده، آنتی بیوتیک، مترو

مقدمه:

گازهای منواکسیدکربن، هیدروکربن‌های آروماتیک (PAHs) و فلزات سنگین سنجش شدند (۸-۷). مطالعه‌های کمی و کیفی زیادی در رابطه با آلاینده‌های بیولوژیک منتقل شده از هوا در محیط‌های مختلفی مانند بیمارستان‌ها، مدارس، خانه‌های مسکونی و سایر مناطق انجام شده است، اما مطالعه‌ها و اطلاعات محدودی در رابطه با اندازه‌گیری این آلاینده‌ها در هوای درون ایستگاه‌های مترو وجود دارد (۱۰-۹). به طور کلی، آلاینده‌های بیولوژیکی انتقال یافته از طریق هوا شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و ریزگردها هستند (۱۲-۱۱). از بین این آلاینده‌های بیولوژیکی، باکتری‌ها به دلیل توانایی تشکیل اسپور و تحمل شرایط نامطلوب محیطی و بنابراین بقا در این شرایط می‌توانند موجب بیماری‌های

امروزه در شهرهای بزرگ، سیستم‌های مترو برای بهبود کیفیت حمل و نقل، کاهش بار ترافیک، کاهش آلودگی هوا و ... بسیار رایج شده است و به‌عنوان شاخص مدیریتی جای خود را در برنامه‌ریزی‌های کلان شهری باز کرده است (۳-۱). مترو به دلیل دارا بودن ویژگی‌هایی از قبیل محصور بودن، تهویه محدود، منابع خاص انتشار آلاینده‌ها و شرایط محیطی ویژه فضای بسته به حساب می‌آیند (۵-۴). مطالعه‌های اولیه در رابطه با مواجهه مسافران مترو با آلاینده‌ها در اواخر دهه ۱۹۸۰ در ایالت بوستون آمریکا انجام شد (۶). پس از گذشت نزدیک به یک دهه از تحقیق‌ها، آلاینده‌های مختلفی مثل ذرات معلق، ترکیب‌های آلی فرار (VOCs)،

نویسنده مسئول: جمیله نوروزی

پست الکترونیکی: alm3370@yahoo.com

Agar (ساخت شرکت مرک کشور آلمان) به عنوان محیط کشت پایه استفاده شد. نمونه‌های برداشت شده به آزمایشگاه منتقل شدند و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای 35 ± 0.5 درجه سلسیوس قرار داده و سپس از نظر رشد باکتری‌ها بررسی شدند. تعداد کلنی‌ها، شمارش و به صورت واحد تشکیل‌دهنده کلنی CFU/m³ (Colony Forming Unit) ثبت شد. همچنین نمونه‌برداری از سطوح، در ابعاد 10×10 سانتی متر انجام شد. برای شناسایی کلنی‌های رشد یافته از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژی مانند رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، DNase، بایل اسکولین، اوره‌از، مقاومت به دیسک نوویوسین و باسیتراسین، مصرف قندها استفاده شد.

آزمون انتشار از دیسک برای آنتی‌بیوتیک‌های ونکوماپسین، اریتروماپسین، آمپی‌سیلین، سفنازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، آموکسی‌سیلین همراه با اسیدکلاولانیک (کوآموکسی‌کلاو) و سفنازیدیم همراه با اسیدکلاولانیک (Mast, UK) روی محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) و براساس دستورالعمل استاندارد آزمایشگاه و بالین (CLSI) انجام شد. برای بررسی ماده ضد عفونی‌کننده از هیپوکلریت سدیم (سفیدکننده خانگی) استفاده شد. به این ترتیب که از این ماده، غلظت‌های 0.2 درصد، 0.5 درصد، 1 درصد، 2 درصد، 5 درصد، 10 درصد تهیه شد. از کاغذهای واتمن به اندازه یک دیسک بریده و هر یک به یکی از غلظت‌های 0.2 درصد، 0.5 درصد، 1 درصد، 2 درصد، 5 درصد، 10 درصد سفیدکننده خانگی آغشته شد (16 و 17).

برای انجام آزمایش‌های مولکولی، DNA ژنومی سویه‌ها از کشت 24 ساعته در محیط لوریا برتانی برات (مرک، آلمان) در 37 درجه سلسیوس طبق دستورالعمل کیت استخراج سینازن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) (البرز، ایران) استخراج شد. در نهایت با استفاده از روش PCR و پرایمرهای اختصاصی جلوبی $3'$ -CTATGGCAATAGGAGATATGGTGT- $5'$ و وجود ژن qacA/B برگشتی در سویه‌ها ارزیابی شد (18). برای تایید درجه خلوص DNA استخراج شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA) استفاده شد. در نهایت واکنش PCR به حجم نهایی 25 میکرولیتر شامل $5/5$ میکرولیتر PCR master mix (سیناکلون، ایران) حاوی 0.05 U/ μ l Taq DNA polymerase، 0.05 mM MgCl₂، 0.4 mM (سیناکلون، ایران)، 0.6 میکرولیتر از DNA الگو (10 نانو گرم) و $17/3$ میکرولیتر آب دیونیزه استریل با استفاده از گرادینات ترموسایکلر (ایندورف، آلمان) برای 30 سیکل به صورت زیر انجام شد. مرحله واسرشتگی در دمای 95 درجه سلسیوس به مدت 45 ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها در 58 درجه سلسیوس به مدت 60 ثانیه و مرحله طولی‌سازی در 72 درجه سلسیوس به مدت 75 ثانیه. برای مشاهده نتیجه تکثیر ژن qacA/B الکتروفورز روی ژل آگارز 1.5 درصد در شرایط 150 ولت در بافر $10 \times$ TBE تجاری (Fermentase) انجام شد. در تمامی مراحل آزمون از اشریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۲ و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

مختلف از جمله بیماری‌های تنفسی شوند (12). آلودگی هوا به صورت ذرات معلق مواد شیمیایی، بیولوژی و سایر مواد مضر است که در هوا پراکنده هستند (13). مواد ضد عفونی‌کننده برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها که روی اشیاء زندگی می‌کنند به کار می‌رود. مواد ضد عفونی، لزوماً همه میکروارگانیسم‌ها به خصوص اسپور باکتری‌ها را از بین نمی‌برند (14). ضد عفونی‌کننده‌ها از دیگر عوامل ضد میکروبی مانند آنتی بیوتیک‌ها که میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برند، متفاوت هستند، همچنین از آفت کش‌ها نیز متفاوت هستند. ضد عفونی‌کننده‌ها با از بین بردن دیواره سلولی میکروب‌ها یا تداخل با متابولیسم آن‌ها، فعالیت می‌کنند (15). استفاده زیاد مردم از مترو و ابتدای برخی از افراد به بیماری‌های مختلف تنفسی و سایر بیماری‌ها و همچنین به علت تراکم جمعیت در فضای واگن مترو که با عطسه همراه است، موجب می‌شود که میکروارگانیسم‌های مختلف به راحتی در هوا پراکنده شوند و دیگران را مبتلا کنند. میکروارگانیسم‌های قابل انتقال از طریق هوا همچون استافیلوکوکوس، اشریشیا کلی و اکتینومیسیت‌ها ممکن است واکنش‌های آلرژی را در افراد مستعد به آسم ایجاد کنند. مطالعه‌هایی که در مورد باکتری‌های موجود در هوای ایستگاه‌های مترو انجام می‌شود، برای تعیین کیفیت هوا است که ممکن است مورد علاقه و استفاده در مطالعه‌های بهداشت عمومی و ارزیابی ایمنی قرار گیرد. با توجه به نبود مطالعه‌ای در رابطه با سنجش باکتری‌ها در هوای درون ایستگاه‌های مترو شهر تهران، این پژوهش با هدف مشخص کردن کیفیت هوای ایستگاه‌های مترو تهران از نظر آلاینده‌های باکتریایی انتقال یافته از هوا انجام شد و هدف آن شناسایی باکتری اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در ایستگاه‌های مختلف شهر تهران در سال 1394 بوده است.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه از نوع توصیفی مقطعی و در یک بازه زمانی شش ماهه از ابتدای خرداد تا انتهای آبان 1394 در چهار ایستگاه مترو در حال بهره‌برداری واقع در شهر تهران انجام شد و وجود بیوایروس هر شش روز یک‌بار بررسی شد. ایستگاه امام خمینی به دلیل قرار گرفتن در نقطه مرکزی مسیر خطوط یک و دو که پر رفت‌وآمدترین خطوط در حال بهره‌برداری سیستم مترو تهران هستند و بنابراین بر شلوغی و ازدحام بیش از حد این ایستگاه تأثیر گذار است، به عنوان یک ایستگاه زیرزمینی انتخاب شد. ایستگاه صادقیه، تجریش و تهرانپارس نیز به دلیل ازدحام و قرار گرفتن در موقعیت روزمینی و ایستگاه‌های ابتدایی به عنوان محل دیگر نمونه‌برداری انتخاب شد. محل نمونه‌برداری شامل سکو و سالن محوطه اداری در داخل ایستگاه‌ها بود. در هر سری نمونه برداری در ایستگاه‌های مترو، پنج پلیت از جریان هوا و پنج پلیت از سطوح، نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری در این تحقیق با دستگاه نمونه‌بردار میکروبی هوا (Quick Take) مدل 30 ساخت شرکت SKC با دبی $28/3$ لیتر در دقیقه با مدت زمان نمونه‌برداری دقیق به قرار دادن دستگاه در ارتفاع تنفسی (حدوداً $1/5$ متری) انجام شد. همچنین پنج پلیت نیز در هربار، به صورت در باز به فواصل زمانی پنج دقیقه، 20 دقیقه و یک ساعت در محیط پر رفت‌وآمد قرار داده شد. در این مطالعه از محیط کشت Tryptic Soy

جدول ۱- تعداد کلنی‌های باکتریایی در ایستگاه‌های مختلف مترو

شاخص آماری		حداقل	حداکثر	میانگین
امام خمینی	هوا	۲۴	۳۵	۳۰
	سطوح	$1/8 \times 10^5$	$3/4 \times 10^5$	$2/8 \times 10^5$
صادقیه	هوا	۲۰	۲۸	۲۶
	سطوح	$2/0 \times 10^5$	$3/0 \times 10^5$	$2/2 \times 10^5$
تجریش	هوا	۲۴	۳۴	۲۸
	سطوح	$2/2 \times 10^5$	$2/6 \times 10^5$	$2/8 \times 10^5$
تهرانپارس	هوا	۱۸	۲۸	۲۴
	سطوح	$2/0 \times 10^5$	$3/0 \times 10^5$	$2/6 \times 10^5$

تعداد کلنی‌ها در هر پلیت از محیط کشت

یافته‌ها:

۴۱۷ در ژل آگارز نشان‌دهنده وجود ژن qacA است. آنالیز مولکولی ژن qacA/B نشان داد که ۲۳ درصد سویه‌های S. aureus دارای این ژن بودند در حالی که تنها ۷ درصد سویه‌های E. coli حامل ژن مذکور بودند.

بحث:

با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیشترین آلودگی جریان هوا مربوط به سکوی ایستگاه‌های امام خمینی با ۲۴ CFU/m³ و تجریش با ۲۴ CFU/m³ بوده است. کمترین میزان آلودگی مربوط به سکوی ایستگاه تهرانپارس با ۱۸ CFU/m³ و صادقیه با ۲۰ CFU/m³ بوده است. دلیل بالا بودن غلظت آلودگی باکتریایی در سکوی ایستگاه‌های ذکر شده را می‌توان به بالا بودن تراکم جمعیت در این نقاط دانست و این واقعیت که سکوی این ایستگاه‌ها در عمق بیشتری در زیر زمین واقع شده است، نسبت داد. عمق زیاد ایستگاه‌های متروی امام خمینی و تجریش موجب تهویه نامناسب و جابه‌جایی کم هوا در این قسمت‌ها است. پایین بودن غلظت آلودگی در سکوی ایستگاه تهرانپارس و صادقیه به دلیل کم بودن عمق روزمینی بودن سکوی این ایستگاه‌ها و بالطبع، جابه‌جایی آزادانه هوا در این نقاط است. مطالعه‌های محدودی در رابطه با سنجش آلودگی باکتریایی در ایستگاه‌های مترو انجام شده است. در مطالعه حاضر میانگین غلظت آلودگی در چهار ایستگاه مورد مطالعه ۲۴ - ۱۸ تخمین زده شد. در مطالعه مشابهی که در دو ایستگاه مترو در قاهره مصر انجام شده است، میانگین غلظت

از هر یک از چهار نقطه نمونه‌برداری شده، تعداد ۳۵۴ پلیت به‌دست آمد. کلنی‌های رشد کرده در هر پلیت نمونه‌برداری شده از جریان هوا، شمارش مستقیم شده و میانگین آن‌ها ثبت شد. شمارش کلنی در هر پلیت نمونه‌برداری شده براساس ۱۰۰ سانتی‌متر مربع بیان شد. تراکم باکتری‌ها در هوای آزاد به طور میانگین در چهار ایستگاه ۲۸ CFU/m³ و بیشترین تراکم باکتری که مربوط به هوای آزاد ایستگاه امام خمینی بود. حداکثر تعداد کلنی نمونه‌برداری شده از سطح همین ایستگاه ۳۵ CFU/m³ بود. نتایج مربوط به غلظت باکتری‌ها به روش پلیت‌گذاری در جدول ۱- نشان داده شده است. براساس آزمایش‌های افتراقی انجام شده، در مجموع ۱۰ جنس و گونه مختلف از باکتری‌ها شناسایی شدند.

انواع جنس‌های باکتریایی جداسازی شده و میانگین آن‌ها بر حسب CFU/m³ در طول دوره نمونه‌برداری به تفکیک نقاط نمونه‌برداری در جدول ۲- آورده شده است. بیشترین درصد جنس باکتری‌های ایزوله شده به ترتیب استافیلوکوکوس اورئوس (۲۲/۴۴ درصد)، انتروکوکوس فکالیس (۱۴/۳۷ درصد)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۹/۸۴ درصد)، کورینه باکتریوم‌ها (۹/۶۴ درصد) بود. سویه‌های دیگری که در این مطالعه با فراوانی کمتر از ۴ درصد مشاهده شدند، به ترتیب عبارتند از S. epidermidis، Bacillus spp، Micrococcus spp، E. coli، Klebsiella spp، Enterobacter spp..

جدول ۲- میانگین تعداد کلنی باکتریایی ایزوله شده در متر مکعب هوا در نقاط نمونه‌برداری شده مترو

تعداد کلنی در متر مکعب هوا و در سواب گرفته شده از سطوح								جنس باکتریایی ایزوله شده
تهرانپارس		تجریش		صادقیه		امام خمینی		
سوطح	هوا	سوطح	هوا	سوطح	هوا	سوطح	هوا	
۲/۴×۱۰ ^۵	۲۸	۳×۱۰ ^۵	۲۴	۲/۸×۱۰ ^۵	۲۸	۳×۱۰ ^۵	۲۴	S. aureus
۳/۲×۱۰ ^۲	۱۸	۲/۸×۱۰ ^۴	۱۸	۳/۰×۱۰ ^۴	۱۶	۱/۸×۱۰ ^۴	۱۸	E. faecalis
۱/۲×۱۰ ^۲	۱۲	۲/۲×۱۰ ^۲	۱۲	۲/۲×۱۰ ^۳	۱۲	۲/۶×۱۰ ^۳	۱۰	S. saprophyticus
۲/۴×۱۰ ^۵	۶	۳/۰×۱۰ ^۵	۶	۲/۰×۱۰ ^۵	۸	۲/۵×۱۰ ^۵	۶	E. coli
۲/۵×۱۰ ^۲	۴	---	---	۱/۵×۱۰ ^۳	۴	۲/۰×۱۰ ^۲	۴	Klebsiella spp

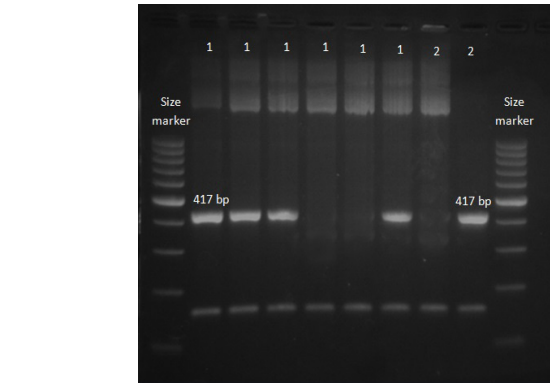
آلودگی در ایستگاه زیرزمینی ۲/۹۴×۱۰^۳ CFU/m³ و در ایستگاه روزمینی CFU/m³ ۲/۸۱×۱۰^۳ بوده است (۱۹). در مطالعه دیگری که در یکی از معابر زیرزمینی شهر توکیو ژاپن انجام شده است، محدوده غلظت باکتری‌ها در محدوده CFU/m³ ۱۲۸۰-۱۵۰ بوده است (۲۰). همچنین مطالعه‌ای در هنگ‌کنگ روی هوای دفاتر اداری سیستم تهویه مطبوع انجام شد که میانگین بار باکتریایی را CFU/m³ ۵۸۰ گزارش کرد (۲۱). مقدار آلودگی در مطالعه حاضر، خیلی پایین‌تر از مطالعه قاهره است. این تفاوت تراکم باکتری‌ها بین مطالعه‌های انجام شده و مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از وضعیت بهداشت و سیستم تهویه موجود در ایستگاه‌های مترو و همچنین ناشی از تفاوت در تجهیزات مورد استفاده در نمونه‌گیری و تفاوت مدت زمان نمونه‌گیری باشد. در مطالعه حاضر، سویه استافیلوکوکوس اورئوس با

نتایج آزمون انتشار از ژل نشان داد که ۲ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس MRSA و بقیه حساس به اریترومیسین بودند. تمام سویه‌های انتروکوکوس به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مقاوم بودند. طبق دستورالعمل CLSI در سال ۲۰۱۴، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس که نسبت به سفوکسیتین مقاوم بودند، سویه‌های MRSA تشخیص داده شدند. ۲ درصد سویه‌های E. coli، به ESBL مقاومت نشان دادند و بقیه نسبت به آمپی‌سیلین حساس بودند. سویه‌های کلبسیلا نیز به همه داروها حساسیت نشان دادند. میزان حساسیت سویه‌های جدا شده نسبت به غلظت‌های ۲/۲۰ درصد، ۱ درصد، ۲ درصد، ۵ درصد و ۱۰ درصد از محلول سفیدکننده خانگی یا هیپوکلریت سدیم در جدول ۳ آمده است. وجود ژن qacA/B در تعدادی از سویه‌های مقاوم و حساس انجام شد. وجود ژن مذکور با ایجاد باند bp

جدول ۳. حساسیت سویه‌های مورد ارزیابی در رقت‌های متفاوت هیپوکلریت سدیم

غلظت	۰/۰۴ g/ml (درصد ۰/۲)	۰/۲۱۹ g/ml (درصد ۱)	۰/۴۳۸ g/ml (درصد ۲)	۱/۰۹۷ g/ml (درصد ۵)	۲/۱۹۴ g/ml (درصد ۱۰)
S. aureus	مشاهده رشد	مشاهده رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
E. faecalis	مشاهده رشد	مشاهده رشد	مشاهده رشد	عدم رشد	عدم رشد
E. coli	مشاهده رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
Klebsiella. Spp	مشاهده رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد

CFU/m³ ۲۶، برای چهار ایستگاه مورد مطالعه سویه غالب در فضای بسته ایستگاه‌های متروی مورد مطالعه بود. غالب بودن باکتری‌های گرم مثبت در جریان هوا، در محیط‌های بسته طی مطالعه‌های مختلفی گزارش شده است. در مطالعه انجام شده در ایستگاه‌های مترو قاهره، Avad و همکاران گونه‌های استافیلوکوکوس را گونه‌های غالب ذکر کردند (۱۹). در مطالعه حاضر، ۲ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس MRSA و بقیه حساس به اریترومايسین بودند. تمام سویه‌های انتروکوکوس به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مقاوم بودند. در مطالعه Genet و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که ۱۰۰ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در محیط بسته، به متی‌سیلین و ۸۲/۸ درصد آن‌ها به آمپی‌سیلین مقاومت داشتند (۲۲). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد غلظت موثر هیپوکلریت سدیم بر سویه‌های *S. aureus*، *E. coli* و *Klebsiella spp.* همان ۲ درصد است، در حالی که غلظت موثر هیپوکلریت سدیم برای انتروکوکوس فکالیس ۵ درصد و بیشتر است. در سال ۲۰۰۸، Fernandez و همکارانش، نشان دادند که غلظت ۲۵ میکرومول در میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم که معادل یک فنجان هیپوکلریت سدیم در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب است استافیلوکوک‌های MRSA را بعد از پنج دقیقه نابود می‌کند (۲۳). در مطالعه دیگری Altieri و همکارانش در سال ۲۰۱۳، اثر ضد عفونی کردن مایکروویو و هیپوکلریت سدیم را روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بررسی کردند. مطالعه آن‌ها نشان داد که غلظت‌های ۱ درصد و ۲ درصد هیپوکلریت سدیم روی بیوفیلم سویه‌های MRSA موثر هستند (۲۴). در مطالعه Berber و همکارانش در سال ۲۰۰۶ که روی اثر ضد میکروبی غلظت‌های متفاوت هیپوکلریت سدیم روی انتروکوکوس فکالیس مطالعه می‌کردند، نشان داد که هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد روی انتروکوکوس فکالیس موثر است (۲۵). در مطالعه حاضر، در ۲۳ درصد استافیلوکوک‌هایی که در غلظت ۵-۲ درصد رشد کرده بودند، دارای ژن qacA/B بودند. در مطالعه حاضر، ۲۳ درصد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس که در غلظت ۲ درصد هیپوکلریت سدیم، رشد کمی داشتند، ژن qacA/B را حمل می‌کردند. مطالعه حاضر بر اساس نتایج به دست آمده هم‌عرض مطالعه دیگران بوده است. ژن qacA/B از گروه ژن‌های qac است که مسئول بیان پمپ‌های دفعی (Efflux pump) در غشای سلولی هستند. بنابراین در معرض قرار گرفتن ترکیب‌های ضد عفونی کننده می‌تواند باعث بیان این ژن، در نتیجه دفع ترکیب‌های مذکور از سلول شود. در نتیجه آن سلول باکتری نسبت به غلظت‌های قبلی که رشدش متوقف می‌شد می‌تواند رشد کند و برای عمل مهاری ضد عفونی کننده باید از غلظت‌های بالاتر استفاده شود.



تصویر ۱. نتیجه تکثیر ژن qacA/B در سویه‌های تحت بررسی. C+؛ اشریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۲ چاهک‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب سویه اشریشیا کلی جداسازی شده از ایستگاه مترو امام خمینی (ره)، صادقیه، تهرانپارس و تجریش، چاهک‌های شماره ۵، ۶ به ترتیب سویه استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از ایستگاه مترو امام خمینی (ره)، صادقیه، C+؛ استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ و M؛ مارکر ۱۰۰ جفت بازی (Fermentas, GmbH, Germany). ۱۰۰-۳۰۰۰ bp.

ضد عفونی کننده ماده‌ای باشد که به راحتی تهیه شده، مصرف شود و کمترین ضرر را برای محیط زیست (Biodegradation و Biocompatible) داشته باشد. آموزش کارکنان مرتبط با نظافت و انجام دوره‌های بازآموزی برای جلوگیری از انتشار سویه‌های پاتوژن ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله تمامی مولفان از مدیریت و پرسنل ایستگاه‌های مترو امام خمینی (ره)، تجریش، صادقیه و تهرانپارس که ما را در انجام این پروژه یاری رساندند و همچنین از گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال تقدیر و تشکر می‌شود.

ملاحظات اخلاقی:

تمامی اقدام‌ها برای رعایت اخلاق در تهیه و استفاده از اطلاعات مقاله‌های دیگر برای به کارگیری در پژوهش فعلی از سوی نویسندگان اتخاذ شد. این مقاله کد اخلاقی ندارد.

تضاد و تعارض (Conflict of interest)

در بین نویسندگان مقاله هیچ گونه تضاد و تعارضی وجود ندارد.

نتیجه گیری:

با توجه به غلظت آلودگی باکتریایی در فضای بسته ایستگاه‌ها (به طور میانگین CFU/

منابع:

1. Nieuwenhuijsena MJ, Go mez-Perales N. "Levels of particulate air pollution, its elemental composition, determinants and health effects in metro systems". *Atmospheric Environment* 2007; 41(37): 7995-8006.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for exposure management and antimicrobial therapy. *JAMA* 2001. 286(18): 2226-2232.
3. Dong S. Yao M. "Exposure assessment in Beijing, China: biological agents, ultrafine particles, and lead". *Environ Monit Assess* 2010; 170(1-4): 331-343.
4. Hirvonen MR, Huttunen K, Roponen M. "Bacterial strains from moldy buildings are highly potent inducers of inflammatory and cytotoxic effects". *Indoor Air* 2005; 15 (9): 65-70.
5. <http://www.cliffsnotes.com/sciences/biology/microbiology/control-of-microbial-growth/chemical-methods-of-control>
6. Salma I, Weidinger T, Maenhaut W. "Time-resolved mass concentration, composition and sources of aerosol particles in a metropolitan underground railway station". *Atmospheric Environment* 2007; 41(37): pp.8391-8405.
7. Fouchier RA, Bestebroer TM. "Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene". *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(11): 4096-4101.
8. Hawkey PM. "The growing burden of antimicrobial resistance". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008; 62 1:1-9.
9. Jeffrey PO, Lim SF. "Airborne concentration of Bactria in a hospital environment in Singapore". *Water, Air, & Soil Pollution* 2003; 144(1-4): 333-341.
10. Chillrud SN, Grass D, Ross JM, Coulibaly D, Slavkovich V, Epstein D, Sax SN, Pederson D, Johnson D, Sprengler JD, Kinney PL, Simpson HJ, Brandt-Rauf P. "Steel dust in the New York City subway system as a source of manganese, chromium, and iron exposures for transit workers". *Journal of Urban Health* 2005; 82(1): 33-42.
11. Haqqi T, Zhao X. "Sequencing in the presence of betaine: Improvement in sequencing of the localized repeat sequence regions". *Journal of Biomolecular Techniques* 2002; 13(4): 265- 271.
12. Stevens DL, Bisno AL. "Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections". *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41(10): 1373-1406.
13. Duflo E, Hanna R.: Indoor air pollution, health and economic well-being. SAPIEN S Retrieved 2008; 20(10):108-24
14. Shiohara N, Fernandez-Bremauntz A, Blanco S, Yanagisawa Y. "The commuters' exposure to volatile chemicals and carcinogenic risk in Mexico City". *Atmospheric Environment* 2005; 39(19): 3481-3489.
15. Seaton A, Cherrie J, Dennekamp M, Donaldson K, Hurley F, Tran L. "The London underground: dust and hazards to health". *Occupational and Environmental Medicine* 2005; 62(6): 355-62.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. M100-S25. 2015; 35(3): 44-50.
17. Regnault B. "Universal ribotyping methods using a chemically labelled oligonucleotide probe mixture". *Research in Microbiology* 1997; 148: 649-659.
18. Noguchi N, Hase M, Kitta M, Sasatsu M, Deguchi K, Kono M. "Antiseptic susceptibility and distribution of antiseptic-resistance genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*". *FEMS microbiology letters* 1999; 172(2):247-53
19. Awad A, Hameed A. "Environmental study in subway metro stations in Cairo, Egypt". *Journal of Occupational Health* 2002; 44: 112-118.
20. Kaoruko S, Takehito T, Keiko N, Masafumi W. "An evidential example of airborne bacteria in a crowded, underground public concourse in Tokyo". *Atmospheric Environment* 2005; 39(2): 337-341.
21. Chan LY, Chan CY, Qin Y. "The effect of commuting microenvironment on commuter exposures to vehicular emission in Hong Kong". *Atmospheric Environment* 1999; 33(11): 1777-1787.
22. Genet C, Kibru G, Tsegaye W. "Indoor air bacterial load and antibiotic susceptibility pattern of isolates in operating rooms and surgical wards at Jimma University specialized hospital, Southwest Ethiopia. *Ethip*". *Journal of Health Science* 2011; 21(1): 9-13.
23. Fernandez-Bremauntz AA, Ashmore MR. "Exposure of commuters to carbon monoxide in Mexico City Measurement of in-vehicle concentrations". *Atmospheric Environment* 199529(4):525-532.
24. Altieri K, Sanita F, Machado A, Giampaolo E, Pavarina A. "Eradication of a mature methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilm from acrylic surface". *Brazilian Dental journal* 2013; 24(5): 487-491.
25. Berber VB, Gomes A, Sena NT, Vianna ME, Feroz CC. "Efficacy of various concentrations *Enterococcus faecalis* within root canals and dental tubules". *International Endodontic Journal* 2006; 39: 10-17.