

## بررسی بیوآئروسول‌های باکتریایی در یک شرکت دخانیات

مهدی قاسم‌خانی<sup>۱\*</sup>، مهسا سیدزاده<sup>۲</sup>، سعید اشراقی<sup>۳</sup>

۱. عضو هیأت علمی گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران
۲. کارشناس بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران
۳. عضو هیأت علمی گروه پاتوبیولوژی میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران

تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۸/۰۷

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۳/۰۶

### چکیده

مقدمه: بیو آئروسول‌ها ذرات هوابردی هستند که در فعالیت‌های شغلی و غیرشغلی تولید می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تراکم بیوآئروسول‌های باکتریایی در صنعت تولید دخانیات است.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی-تحلیلی تراکم بیوآئروسول‌ها در دو سالن سیگار سازی و بسته‌بندی و محیط خارجی آن با روش استاندارد ۰۸۰۰ سازمان NIOSH نمونه‌برداری و مورد سنجش قرار گرفت و سپس با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه بالاترین تراکم بیوآئروسول‌ها به مقدار  $27 \text{CFU}/\text{m}^3$  به باسیل‌های گرم منفی اختصاص یافت. همچنین بالاترین میانگین تراکم بیوآئروسول‌ها در سالن سیگار سازی به مقدار  $39 \pm 23/3 \text{CFU}/\text{m}^3$  بود. نتایج نشان داد اختلاف میانگین تراکم بیوآئروسول‌ها در سالن سیگار سازی با سایر محیط‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: در سالن سیگار سازی به علت انجام فرآیندهای مربوط به آماده‌سازی و فرآوری تنباکو میانگین تراکم بیوآئروسول‌ها از سایر مکان‌ها بالاتر بود. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان تراکم آلودگی بیوآئروسول‌های باکتریایی در سالن‌های سیگار سازی و بسته‌بندی از حدود مجاز راهنمای سازمان ACGIH پائین‌تر است و کیفیت هوای سالن‌های مورد بررسی در این کارخانه از نظر تراکم آلودگی بیوآئروسول‌های باکتریایی در شرایط مناسبی قرار دارد.

کلید واژه‌ها: بیوآئروسول‌های باکتریایی، سیگار سازی، تنباکو، باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت، رطوبت نسبی

\* نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، صندوق پستی: ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵ تلفن: ۰۲۱۸۸۹۵۱۳۹۰

پست الکترونیکی: ghasemkh@sina.tums.ac.ir

## مقدمه

تنباکو یک فرآورده کشاورزی است که از برگ‌های گیاهی به نام *Genus Nicotiana* به دست می‌آید (۱). بیوآئروسول‌ها ذرات هوابردی هستند که شامل ارگانسیم‌های زنده یا آزاد شده از ارگانسیم‌های زنده می‌باشند (۲). بیوآئروسول‌های زنده (Viable) مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و کپک‌ها در محیط منتشر می‌شوند و قابل کشت بوده و تحت شرایط کنترل شده تولیدمثل کرده و تکثیر می‌یابند و در محیط‌های داخلی نظیر محیط‌های صنعتی، اداری یا مسکونی و محیط‌های خارجی نظیر محیط‌های کشاورزی و هوای عمومی حضور دارند (۳). بیوآئروسول‌های غیرزنده (Nonviable) همچون گرده‌ها، تکه‌های بدن حشرات، ذرات ریز گیاهی در محیط پخش شده و باعث حساسیت و در مواردی بیماری در افراد می‌گردند (۴). معمولی‌ترین میکروب‌های موجود در خاک و گیاهان بیوآئروسول‌های باکتریایی هستند (۵). چای، قهوه و تنباکو محیط مناسبی جهت رشد باکتری و قارچ است (۶). پایش بیوآئروسول‌ها در محیط‌های کاری یکی از ابزارهای بهداشت حرفه‌ای در ارزیابی کیفیت هوای داخلی است.

در دهه‌های اخیر مواجهه با بیوآئروسول‌ها در مشاغل و محیط‌های بسته افزایش یافته و این عوامل قادرند موجب بیماری‌های عفونی، اثرات حاد سمی و آلرژی‌ها شوند (۷،۸). در بررسی مواجهه بیوآئروسول‌ها که در میان کارگران صنعت تنباکو انجام گرفت گزارش شد که آمار شیوع آسم و برونشیت در بین آنها از مردم عادی بیشتر است (۹،۱۰). تراکم میکروبی در هوای صنایع تنباکو از سایر صنایع شناخته شده که آلودگی میکروبی دارند بسیار پائین‌تر است (۱۱). اما کارگران شاغل در صنعت بازیافت مواد، اغلب در معرض مواجهه با تراکم خیلی بالای میکروارگانسیم‌ها هستند (۱۲). در مطالعه Kgaergaard و همکاران بالاترین و پائین‌ترین میزان مواجهه کارگران تنباکو در مرحله آماده‌سازی برگ‌های تنباکو با گردوغبار به ترتیب ۱/۲۶ و در مرحله بسته‌بندی ۰/۳۱ میلی‌گرم در

مترمکعب گزارش شد (۱۳،۱۴). میزان تراکم گردوغبار تنفسی در کارگران فرآوری تنباکو در مطالعه‌ای که Ghosh و همکاران انجام دادند، ۰/۵۴ میلی‌گرم در مترمکعب به دست آمد (۱۵). در یک بررسی که در یک صنعت تولید خوراک طیور به عمل آمد نشان داد که تراکم بیوآئروسول‌ها در فصل زمستان نسبت به فصل تابستان کمتر است (۱۶). دما و رطوبت نسبی موجب افزایش رشد و تکثیر بیوآئروسول‌هاست (۱۷).

با توجه به اهمیت روزافزون مطالعات در مورد ارزیابی خطر و میزان مواجهه با بیوآئروسول‌های هوابرد در کیفیت هوای داخل و خارج محیط‌های کاری، از آنجایی که مطالعات خیلی کمی در صنعت سیگارسازی و مواجهه کارگران با بیوآئروسول‌های باکتریایی انجام پذیرفته است. لذا این بررسی در صنعت دخانیات با هدف ارزیابی تراکم بیوآئروسول‌های باکتریایی به صورت مقطعی - تحلیلی انجام گرفت.

## روش بررسی

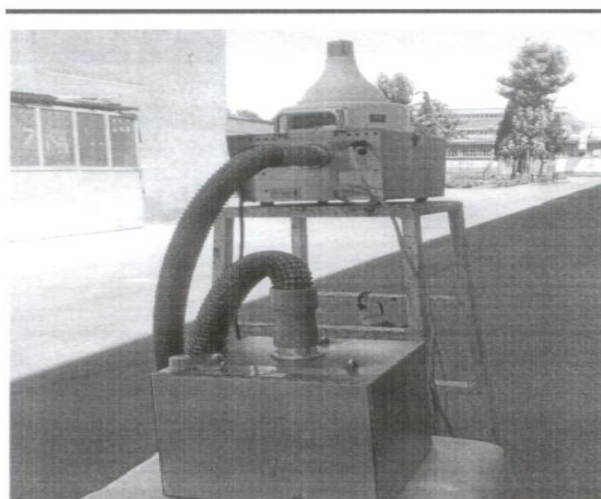
مطالعه حاضر به شکل مقطعی در یک کارخانه تولید سیگار انجام گردید. مکان مورد مطالعه سالن‌های سیگارسازی و بسته‌بندی با مساحت تقریباً یکسان و محیط خارجی در مجاورت سالن‌ها انتخاب شد. ارزیابی تراکم بیوآئروسول‌های باکتریایی با استفاده از روش استاندارد ۰۸۰۰ سازمان (National Institute NIOSH for Occupational Safety and Health) پذیرفت (۱۸). نمونه‌برداری بیوآئروسول‌های باکتریایی در اوایل تابستان با استفاده از پمپ نمونه‌بردار باکتریال سمپلر مدل (MK2-HB3109-02 Casella Ltd) و با توجه به دستورالعمل شرکت تولیدکننده نمونه‌بردار (۱۹)، دبی ۴۰ لیتر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و اندازه‌گیری دما و رطوبت نسبی با دماسنج و رطوبت‌سنج چرخان (M105350 Whirling Hygrometer) شرکت (Casella Ltd) انگلیس انجام شد. پیش از نمونه‌برداری،

سالن ۱۵ نمونه و در محوطه بیرونی سالن‌ها نیز ۱۵ نمونه در زمان‌های مختلف شیفت کاری صبح (ابتدا، وسط و آخر) و محل نمونه‌ها در ارتفاع منطقه تنفسی کارگران در نظر گرفته شد (شکل‌های ۱ و ۲).

ابتدا پلیت‌ها و کلیه وسایل نمونه‌برداری به وسیله الکل اتیلیک ۹۶٪ تمیز و استریل شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۳۴ درجه سانتی‌گراد درون اتوکلاو قرار گرفته تا استریل شوند. حجم نمونه برای برآورد میانگین از فرمول  $n = \frac{2(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 S^2}{d^2}$  به دست آمد (۲۰). تعداد نمونه‌های محیطی با استفاده از روش مذکور در هر



شکل ۱- دستگاه نمونه‌برداری در حال نمونه‌برداری از هوای داخل سالن



شکل ۲- دستگاه نمونه‌برداری در حال نمونه‌برداری از هوای محیط خارجی

رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌پذیری و مثبت یا منفی بودن گرم نیز مورد بررسی قرار گرفت و سپس خصوصیات مرفولوژی باکتری به لحاظ کوکسی یا باسیلی شکل بودن آنها مشخص گردید (۲۱). برای محاسبه تراکم کلنی‌های شمارش شده بر روی محیط کشت و ثبت آن در جدول

پس از نمونه‌برداری نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و روز بعد جهت تشخیص نوع کلنی، مورد بررسی قرار گرفتند. برای شمارش کلنی‌های تشکیل شده از وسیله شمارنده استفاده شد. در این مطالعه با استفاده از

### یافته‌ها

در جدول شماره ۱ مشخصات بیوآئروسول‌ها ارائه شده است. باسیل‌های گرم منفی در محیط‌های داخل سالن‌ها بالاترین نوع از بیوآئروسول‌ها را تشکیل می‌دهند، در صورتی که کوکسی گرم مثبت در محیط خارجی بیشتر از محیط داخل سالن‌ها مشاهده گردید. به طور کلی میزان تراکم کوکسی گرم منفی در کلیه محیط‌ها از سایر باکتری‌ها کمتر است.

مربوطه، ابتدا حجم هوای نمونه‌برداری با توجه به دما و فشار محیط تصحیح شده و سرانجام تراکم بر حسب  $CFU/m^3$  محاسبه گردید.

جهت تجزیه و تحلیل و مقایسه داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس ANOVA مدل Sheffe و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۱/۵ صورت پذیرفت. میزان سطح معنی‌داری برای تجزیه و تحلیل آماری ( $P < 0/05$ ) در نظر گرفته شد.

جدول ۱- تراکم بیوآئروسول‌های نمونه‌گیری شده ( $cfu/m^3$ ) بر اساس نوع باکتری

نوع بیوآئروسول	سالن سیگار سازی	سالن بسته‌بندی	محیط بیرونی
باسیل گرم مثبت	۱۶	۱۰	۲۰
باسیل گرم منفی	۲۷	۱۹	۱۷
کوکسی گرم مثبت	۱۸	۱۰	۲۳
کوکسی گرم منفی	۹	۶	۸

تراکم ( $39 \pm 23/3 CFU/m^3$ ) و در سالن بسته‌بندی کمترین میزان تراکم ( $16 \pm 9/5 CFU/m^3$ ) را داشت.

جدول شماره ۲ میانگین تراکم بیوآئروسول‌ها در واحدهای مختلف کارخانه را نشان می‌دهد. میانگین تراکم بیوآئروسول‌ها در سالن سیگار سازی بالاترین میزان

جدول ۲- میانگین تراکم بیوآئروسول‌های نمونه‌گیری شده ( $cfu/m^3$ ) با حدود اطمینان ۹۵٪

P value*	حدود اطمینان با ۹۵٪ اطمینان			انحراف معیار	میانگین تراکم بیوآئروسول ( $cfu/m^3$ )	دمای محیط ( $^{\circ}C$ )	رطوبت نسبی (درصد)	تعداد نمونه	مکان	
	۳	۲	۱							
۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	-	۳۹	۸	۲۳/۳	۳۹	۲۹/۵	۵۸	۱۵	سالن سیگار سازی (۱)
NS	-	۰/۰۰۲	۲۱	۱۰	۹/۵	۱۶	۲۸/۳	۶۹	۱۵	سالن بسته‌بندی (۲)
-	NS	-	۳۴	۳	۱۴/۵	۲۱	۳۵/۰	۴۰	۱۵	محیط خارجی (۳)

\*آزمون آماری ANOVA از نوع Scheffe

NS: Not significant (معنی‌دار نیست)

شده و قطعیت دارد، اما تاکنون برای این دسته از آلاینده‌های هوا برد حدود مجاز خاصی توصیه نشده و مقادیر ارائه شده هنوز در قالب پیشنهاد می‌باشد. مقادیر پیشنهاد شده نیز دارای طیف گسترده‌ای است. مهم‌ترین علت این موضوع را می‌توان به تنوع بیوائروس‌ها و پتانسیل متفاوت آنها در بیماری‌زایی نسبت داد. راهنمای سازمان (ACGIH) American Conference of Governmental Industrial Hygienists، مقادیر بیوائروس‌های باکتریایی در محیط‌های داخلی را  $50 \text{ CFU/m}^3$  پیشنهاد کرده است (۲۴). وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران نیز فاقد حدود مجاز بیوائروس‌های باکتریایی می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان تراکم آلودگی بیوائروس‌های باکتریایی در سالن‌های سیگار سازی و بسته‌بندی از مقادیر پیشنهادی راهنمای سازمان ACGIH پائین‌تر است. ممکن است یکی از دلایل کاهش میزان تراکم آلودگی استفاده از آفت‌کشها در مزارع پرورش تنباکو برای مبارزه با آفات نباتی باشد. در یک مطالعه تراکم میکروبی در برخی سیگارهای تولیدی در چین، کره و ویتنام خیلی کمتر از سیگارهای بین‌المللی بود. به هر حال آفت‌کشها میزان رشد میکروب‌ها را کاهش می‌دهند (۲۲). میانگین میزان تراکم بیوائروس‌ها در یک شرکت تنباکو  $137 \text{ CFU/m}^3$  و میانگین رطوبت نسبی ۵۷٪ به دست آمد در حالی که میزان تراکم بیوائروس‌ها در محیط خارجی آن  $18 \text{ CFU/m}^3$  و رطوبت نسبی ۲۱٪ گزارش شد (۱۳، ۱۴) که با نتایج مطالعه ما شباهت نزدیکی دارد. از طرفی در یک بررسی دیگر Lander و همکارش نشان دادند که میزان تراکم بیوائروس‌ها در کارگران تنباکو  $4990 \text{ CFU/m}^3$  است (۹).

در سالن سیگار سازی کلیه فرآیندهای مربوط به آماده‌سازی و فرآوری تنباکو از جمله باز شدن برگ‌های تنباکو و رطوبت‌زنی انجام می‌گیرد. در این بررسی بالاترین میزان تراکم بیوائروس‌ها در سالن سیگار سازی ثبت شد، ولی در سالن بسته‌بندی به علت

اختلاف میانگین تراکم بیوائروس‌ها در سالن سیگار سازی با سالن بسته‌بندی و محیط خارجی با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ از نظر آماری معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ). در صورتی که میانگین تراکم در سالن بسته‌بندی با محیط خارجی از نظر آماری معنی‌دار نیست، همچنین پائین‌ترین میزان تراکم اندازه‌گیری شده در نمونه‌های بیوائروس‌لی، در محیط خارجی به میزان  $3 \text{ CFU/m}^3$  و بالاترین آن در سالن سیگار سازی به میزان  $39 \text{ CFU/m}^3$  ثبت گردید. شرایط جوی محیط از نظر میانگین رطوبت نسبی در سالن بسته‌بندی (۶۸/۷٪) بالاترین و در محیط خارجی (۴۰٪) کمترین و نیز میانگین میزان درجه حرارت در محیط خارجی (۳۵ درجه سانتیگراد) بالاترین و در سالن بسته‌بندی (۲۸ درجه سانتیگراد) کمترین مقادیر را به خود اختصاص دادند.

## بحث

طبق بررسی به عمل آمده در این مطالعه، انواع باکتری‌ها از جمله باسیل‌ها و کوکسی‌های گرم منفی و مثبت در محیط کارخانه شناسایی شد. باسیل‌های گرم منفی در محیط‌های داخل سالن‌ها بالاترین ولی کوکسی‌های گرم منفی در تمام مکان‌های اندازه‌گیری کمترین تعداد بیوائروس‌ها را تشکیل می‌دهند. Reiman و همکاران گزارش کردند که باکتری گرم منفی در غلظتی کم در صنعت سیگار سازی مشاهده شد (۱۰). Larsson و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ترکیبات میکروبیولوژیکی دود تنباکو به عنوان یک بیوائروس مشاهده کردند که در همه برگ‌های توتون بالاخص و تقریباً در نیمی از سایر برگ‌ها باکتری گرم منفی وجود دارد و باکتری گرم مثبت کوکسی در اغلب برگ‌ها یافت گردید (۲۲).

پایش بیوائروس‌ها اغلب به منظور مقایسه با راهنماهای عمومی و حدود توصیه شده در محیط‌های تحت کنترل انجام می‌شود زیرا حدود مواجهه شغلی برای ارگانسیم‌های زنده هوا برد وجود ندارد (۲۳) و علیرغم اینکه خطرات بهداشتی مواجهه با بیوائروس‌ها شناسایی

در سالن بسته‌بندی به علت تنوع کاری کم، پراکندگی پائین‌تر است که با مطالعه Reiman و همکاران هم‌خوانی دارد (۱۰). اما پراکندگی در محیط خارجی ناشی از تنوع زیاد منابع و تولیدکننده‌های نامشخص خارجی از جمله باد، خاک و گیاهان است (۲۶).

### نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که انواع باکتری‌ها از جمله باسیل‌ها و کوکسی‌های گرم منفی و مثبت در این کارخانه شناسایی شده و باسیل‌های گرم منفی در محیط‌های داخل سالن‌ها بالاترین تعداد بیوآئروسول‌ها را تشکیل می‌دهد. بالاترین میزان تراکم بیوآئروسول‌ها در سالن سیگار سازی است. میزان تراکم آلودگی بیوآئروسول‌های باکتریایی در سالن‌های سیگار سازی و بسته‌بندی از مقادیر پیشنهادی راهنمای سازمان ACGIH پائین‌تر است. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، کیفیت هوای سالن‌های مورد بررسی در این کارخانه از نظر تراکم آلودگی بیوآئروسول‌های باکتریایی در شرایط مناسب و قابل قبولی قرار دارد.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری و مساعدت به عمل آمده توسط مسئولین محترم کارخانه که شرایط این مطالعه را فراهم کردند سپاسگزاری می‌گردد

محدود بودن منابع تولید میکروبی علیرغم رطوبت بالا تراکم بیوآئروسول‌ها کمتر است. Reiman و همکاران نیز گزارش کردند که بالاترین میزان تراکم گردوغبار تنباکو (۴/۵ میلی‌گرم بر مترمکعب) در صنعت سیگار در بخش‌های اولیه خط تولید و باز کردن عدل‌های تنباکو بوده به طوری که همبستگی بین میزان تراکم گردوغبار تنباکو با تراکم میکروبی در این کارخانه بالا می‌باشد (۰/۹۹) (r=۰/۱۰). Dutkiewicz در مطالعه خود گزارش کرد که هوای گرم و رطوبت نسبی بالا شرایط را برای رشد و تکثیر باکتری‌های گرم منفی افزایش می‌دهد (۵). میزان تراکم آلودگی بیوآئروسول‌های محیط خارجی در این مطالعه که مجاور سالن سیگار سازی قرار داشت از سالن سیگار سازی کمتر بود. این اختلاف شاید ناشی از رطوبت نسبی کمتر (۴۰٪) و دمای بالا (۳۵ درجه سانتی‌گراد) و تابش نور خورشید نسبت به سالن سیگار سازی باشد. میزان تراکم این پژوهش با نتایج مطالعه Robertson مبنی بر اینکه ۱۰٪ نمونه‌های محیط‌های خارج دارای تراکمی کمتر از ۱۰۰ CFU/m<sup>3</sup> هستند تشابه نزدیکی دارد (۲۵). دامنه تغییرات و پراکندگی تراکم آلودگی بیوآئروسول‌های باکتریایی در سالن سیگار سازی و محیط خارجی بالاست. دلیل پراکندگی در سالن سیگار سازی ناشی از تنوع کاری در فرآیند تولید و تفاوت حجم کار در دوره‌های زمانی کار در طول یک شیفت و شیفت‌های مختلف بوده در حالی که

### منابع

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Tobacco>
2. Wathes CM, Cox CB. Bioaerosols handbook. Chelsea, Mich: Lewis Publishers 1995.
3. Yang CS, Heinsohn PA. Sampling and analysis of indoor microorganisms. John Wiley & Sons, Inc 2007:123-132.
4. Bahrami A. Methods of sampling and analysis of pollutants in air Vol.3 Nashre Fan Avaran 1385: 110.[Persian]
5. Dutkiewicz J. Bacteria, fungi, and endotoxin as potential agents of occupational hazard in a potato processing plant. Am J Ind Med 1994; 25: 43-46.
6. London L. Agrichemical safety practices on farms in the Western Cape. S Afr Med J 1994; 84:273-278.
7. Lewis FA. Regulating indoor microbes, the OSHA proposed rule on IAQ a focus on microbial contamination, in Fungi and Bacteria in Indoor Air Environments, Health Effects, Detection and Remediation. In: Johanning E and Yang C, Eds. Eastern New York Occupational Health Program, Albany, NY 1995:5-9.

8. Husman T. Health effects of indoor-air microorganisms. *Scand J Work Environ Health* 1996; 22: 5-13.
9. Lander F, Gravesen S. Respiratory disorders among tobacco workers. *Br J Ind Med* 1988; 45: 500-502.
10. Reiman M, Uitti J. Exposure to microbes, endotoxins and total dust in cigarette and cigar manufacturing: an evaluation of health hazards. *Ann occup Hyg* 2000; 44(6): 467-473.
11. Kolmodin-Hedman B, Blomquist G, Lofgren F. Chipped wood as a source of mould exposure. *European J Respiratory Diseases* 1987; 71 (suppl.154): 44-51.
12. Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D. Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects *Ann occup Hyg* 2003; 47(3): 187-200.
13. Kjaergaard SK, Pedersen OF, Frydenberg M, Schonheyder H, Andersen P, Bonde GJ. Respiratory disease and lung function in a tobacco industry. *Arch Environ Health* 1989; 44: 164-70.
14. Kjaergaard SK, Pedersen OF. Dust exposure, eye redness, eye cytology, and mucous membrane irritation in a tobacco industry. *Int Arch Occup Environ Health* 1989; 61: 519-25.
15. Ghosh SK, Parikh JR, Gokani VN, et al. Occupational health problems among tobacco processing workers: a preliminary study. *Arch Environ Health* 1985; 40: 318-21.
16. Ghasemkhani M, Karimi Daini A, Eshraghi S. Assessment of exposures to bioaerosols among poultry feed plant workers. *J Appl Sci* 2006; 9: 2051-5.[Persian]
17. Lange JL, Thorne PS, Kullman GJ. Determinants of culturable bioaerosol concentrations in dairy barns. *Ann Agric Environ Med* 1997; 4: 187-194.
18. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), 4th ed., (January, 1998). Bioaerosol Sampling (Indoor Air), Method No. 0800
19. Bacteria sampler, user's handbook. HB 3109-05 Casella Cel Ltd October 2002
20. Haghdoost AA. Do you want to gain a profound insight into sample size and statistical power? *Iran J Epidemiol* 2009; 5(1): 57-63.
21. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Mosby 2009; 9.
22. Larsson L, Szponar B, Ridha B, Pehrson C, Dutkiewicz J, Krysińska-Traczyk E, Sitkowska J. Identification of bacterial and fungal components in tobacco and tobacco smoke. *Tob Induc Dis* 2008; 4(4): 1-8.
23. Bisesi MS. Bisesi and Kohn's industrial hygiene evaluation methods 2nd ed. CRC Press LLC; 2004: 1-15, 12-15.
24. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). American Conference of Governmental Industrial Hygienists Bioaerosol Committee: Guidelines for the Assessment of Bioaerosols in the Indoor Environment. Cincinnati, OH 1989.
25. Robertson LD. Monitoring viable fungal and bacterial bioaerosol concentrations to identify acceptable levels for common indoor environments. *Proceedings of the Eleventh Symposium on Improving Building Systems in Hot and Humid Climates*; 1998 June 1-2 Fort Worth, TX.
26. Chatigny MA. Sampling airborne microorganisms. In: Cohen BS, Hering SV, Eds. *Air sampling instruments for evaluation of atmospheric contaminants*. 8<sup>th</sup> ed. ACGIH, Cincinnati, Ohio; 1995; E-3