مترجم: امین رضایی

منسوجات فنی

ارزیابی یک پارچه بی‌بافت زیست فعال برای حفاظت تنفسی

چکیده

مقررات قانونی در رابطه با حفاظت کارگرانی که در محل کار خود در معرض تهدید عوامل بیولوژیکی هستند و تهدید جهانی حملات تروریستی، نیاز به بهبود خواص تجهیزات حفاظتی و روش‌هایی برای ارزیابی آن‌ها را تحت تاثیر قرار داده است. این مقاله روشی برای تولید بی‌بافت‌های با خواص ضد باکتری که برای دستگاه‌های حفاظت تنفسی (RPD) در برابر بیو آئروسل‌ها طراحی شده‌اند ارائه می‌دهد. این مواد باید دو معیار اصلی راندمان بالای فیلتراسیون در برابر بیو آئروسل‌ها و توانایی از بین بردن میکرو ارگانیزم‌های مسدود شده در بی‌بافت را داشته باشند. یک راه‌اندازی آزمایشی که امکان کنترل جریان بیو آئروسل‌ها را به وسیله نمونه‌های بی‌بافت فراهم می‌کرد ساخته شد، که امکان ارزیابی کارایی فیلتراسیون را نیز با استفاده از یک شمارنده ذرات ممکن کرد. میکرو ارگانیزم‌های با قطر آیرودینامیکی کمتر از ۱ میکرومتر و شکل‌های مختلف برای این مطالعه انتخاب شدند که همگی جزء دو نوع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بودند. محاسبات بر اساس جریان بیو آئروسل عبوری از یک فیلتر با ضخامت ۸۰ میلی‌متر، با نرخ جریان حجمی ۳۰ لیتر بر دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. فیلترهای بسته‌بندی شده برای مدت‌های ۲، ٤ و ۸ ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شدند. به منظور ارزیابی بقای باکتری‌ها بعد از تماس با بی‌بافت زیست فعال، آن‌ها آبکشی شده و در یک تکاننده با سرعت چرخش ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه تکان داده شدند. بعد از رقیق‌سازی در محلول نمک استریل، میکرو ارگانیزم‌ها در یک پتری دیش استریل ریخته شدند. آن‌ها سپس در دمای ۳۷°C و به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شدند و بعد از پایان این زمان کولنی‌های رشد کرده شمارش شدند. با بکارگیری روش گفته شده، کارایی فیلتراسیون در برابر بیو آئروسل‌ها و همچنین زیست فعالی بی‌بافت‌های ذوب‌ریسی شده از پلی لاکتیک اسید و اصلاح شده توسط ترکیبات ضد باکتری تائید شد.

مقدمه

قانون اساسی در ایجاد شرایط کاری و زندگی خارج از محیط کاری ایمن، از بین بردن خطرات و یا کاهش تبعات آن‌ها است. برای خطرات بیولوژیکی که از طریق هوا منتقل می‌شوند، این نه تنها به معنای فیلتراسیون کارآمد هوای استنشاقی و تمیز کردن ذرات بیولوژیکی، بلکه به معنای جلوگیری از پیشرفت آن‌ها در هنگام استفاده از تجهیزات حفاظتی است. این اساساً نتیجه‌ای از این حقیقت است که بی‌بافت‌ها به عنوان پایه اصلی این تجهیزات ممکن است منجر به ایجاد مشکلی با نام «منبع ثانویه عفونت» شوند. این پدیده ممکن است نتیجه جدا شدن ذرات میکرو ارگانیزم‌های بیماری‌زای ساکن شده در بی‌بافت و مهاجرت آن‌ها داخل کالا باشد. این فرآیند در اثر جریان پویای هوای استنشاقی به وجود می‌آید. علاوه بر این خرد اقلیم نامساعد در RPD (رطوبت و دمای هوای بالاتر) هیچ تاثیری روی ادامه حیات میکروارگانیزم‌ها یا اندوسپور آن‌ها ندارد. مشکلات اشاره شده موجب ترغیب دانشمندان و تولیدکنندگان بی‌بافت‌ها برای بهبود مداوم این مواد، به خصوص بهبود دائمی بازده انسداد میکرو ارگانیزم‌ها در فیلتر و ضد عفونی کردن آن‌ها در مرحله بعدی شد. بر این اساس، مؤلف تحقیق خود را در زمینه اصلاح بی‌بافت‌های ذوب‌ریسی شده پلی‌پروپیلن (PP) و پلی کربنات (PC) انجام داد. نتایج این کار، ثبت اختراع، منتشر و به عنوان محافظت‌کننده‌های زیستی سیستم تنفسی تولید شد. ادامه این تحقیق می‌تواند در ارتباط با کاربردی وسیع‌تر از پلیمرهای تهیه شده از منابع تجدید شدنی در فیلترها به جای پلیمرهای نفتی باشد.

در عین حال، ارزیابی خواص حفاظتی بی‌بافت و RPD در ارتباط با اطمینان از انسداد کارآمد در برابر عوامل بیولوژیکی امری مشکل است. با وجود تحقیقات زیادی که در زمینه فیلتراسیون بیو آئروسل‌ها توسط فیلترها انجام شده، به دلیل وجود ذرات بیولوژیکی متعددی که برای انسان خطرناک هستند، یک روش جامع برای تحقیق و ارزیابی RPD در اروپا و یا در سطح جهان ایجاد نشده است. بیو آئروسل‌ها حاوی باکتری، ویروس، قارچ، جلبک و کنه‌های گرد و غبار هستند. علاوه بر این، فرآورده‌های بیولوژیکی مانند دانه‌های گرده، اندوتوکسین‌ها، پروتئین‌ها و فضولات حیوانی آئروسل‌ها را تشکیل می‌دهند. تمام انواع بیو آئروسل‌ها که در اینجا به آن‌ها اشاره شد به دلیل اینکه توانایی انکوبه شدن، رشد، تکثیر و تولید مواد سمی را دارند، ممکن است اثرات منفی روی زندگی انسان داشته باشند. باید به این نکته اشاره کرد که در مورد استنشاق بیو آئروسل‌ها، اثرات منفی به تعداد ذرات زیست پذیر بستگی دارد، در حالیکه در موارد غیر از بیو آئروسل‌ها مقدار جرم ذرات استنشاقی مهم است. بر این اساس، دستگاه‌های حفاظت تنفسی باید از نظر کارآمدی در برابر ذرات بیولوژیکی مورد آزمایش قرار گیرند و محدوده کاربرد آن‌ها نیز باید تنها برای میکرو ارگانیزم‌هایی باشد که در برابر آن‌ها تست شده‌اند. در عین حال، باید تاکید کرد که استفاده از روش‌های استاندارد برای ارزیابی بازده مواد فیلتراسیون و RPD با استفاده از آئروسل‌های غیر بیولوژیکی در دسته‌بندی تجهیزات مفید است و همچنین نشانه‌ای از کارآمدی فیلتراسیون در برابر بیو آئروسل‌های مورد انتظار است. همانطور که اشاره شد، روش‌های استاندارد مشخصی که بتوان در تحقیق روی بازده فیلتراسیون به کار برد وجود ندارد. با این حال، قوانینی که توسط بعضی پژوهشگران در این زمینه به کار گرفته شده است، در نتیجه پدیده‌هایی است که در حین عبور جریان پویای بیو آئروسل‌ها از مواد فیلتراسیون در شرایط آزمایشگاهی رخ می‌دهد. بدین منظور، شبیه‌سازی پراکندگی میکرو ارگانیزم‌ها در یک سیستم سنجش بسته و مخلوط کردن آن‌ها با یک جریان هوای تمیز حیاتی است. در نتیجه عبور جریان بیو آئروسل از ماده فیلتراسیون، رسوب ذرات روی بی-بافت رخ می‌دهد. از نقطه نظر فیلتراسیون، بازده این رسوب به سرعت جریان، اندازه و شکل ذرات و پارامترهایی که مستقیماً در ارتباط با ماده فیلتراسیون هستند، مانند ضخامت الیاف، تخلخل و حضور نیروهای جاذبه الکترواستاتیکی بستگی دارد. در مورد تحقیق روی بازده فیلتراسیون، بحث مربوط به تشخیص ذرات نیز باید در نظر گرفته شود. کارهای بسیاری در زمینه تحقیق با هدف تائید کارایی تجهیزات پزشکی (ماسک‌های جراحی) که از بیمار در برابر ذرات بزرگ بیو آئروسل حاصل از صحبت کردن، سرفه کردن و عطسه کردن کارکنان بیمارستان محافظت می‌کند، انجام شده است. به عنوان

مثال، مشخص شده است که استفاده از ماسک‌های جراحی خطر عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را ۲ تا ۴ برابر کاهش می‌دهد، در حالیکه با استفاده از فیلترهای HEPA این کاهش به ۴۴/۵ برابر می‌رسد. این تحقیق نشان داد که ماسک‌های جراحی محافظت کافی را در برابر بیو آئروسل‌های با اندازه کمتر از میکرو فراهم نمی‌کنند، که منجر به انجام مجموعه‌ای از تحقیقات در رابطه با ارزیابی سودمندی استاندارد RPD شد. نتایج جالبی در مورد کاری که در آن مقایسه‌ای بین نتایج نفوذ سودوموناس فلورسنتس و استرپتوکوکوس سالیواریوس با ذرات کروی روغن پارافین انجام شده بود، مشاهده شد.

بر اساس این نتایج، مشخص شد که نتیجه نفوذ به شکل ذرات بستگی دارد. نفوذ ذرات کروی استرپتوکوکوس سالیواریوس و روغن پارافین بدون توجه به نوع تجهیزات حفاظت تنفسی مورد آزمایش در یک سطح باقی ماند. در مورد ذرات دوکی شکل، افزایش بازده برای هر یک از انواع محافظت مورد آزمایش مشاهده شد. در کار دیگری که انجام شد، یک راه‌اندازی آزمایشی شرح داده شد که در آن یک شمارشگر ذرات برای تعیین بازده محدوده‌های مختلف اندازه ذرات مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به دست آمده مشابه مشاهدات قبلی بود و مدلی که در آن مکانیزم فیلتراسیون برای ذرات بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی یکسان بود را تائید کرد. نتایجی مشابه توسط گروهی از دانشمندان آمریکایی از دانشگاه مینه‌سوتا به دست آمد، که پدیده فیلتراسیون بیو آئروسل‌ها را برای مقادیر مختلف سرعت آئروسل و رطوبت هوا با استفاده از دو روش تشخیصی (استفاده از شمارنده ذرات و پرورش کولنی‌ها برای ذرات بیولوژیکی زنده) آنالیز کردند. برای غلظت حجمی نرخ جریان، دو مقدار به دست آمد: ۸۵ l/min (شرایط کاری سنگین) و ۴۵ l/min (شرایط کاری نرمال). مشخص شد که نتایج نفوذ بیو آئروسل‌ها بیشتر تحت تاثیر سرعت و نوع تجهیزات است در حالیکه رطوبت تاثیر قابل ملاحظه‌ای ندارد. همبستگی بالایی بین نتایج نفوذ به دست آمده با استفاده از شمارنده ذرات و پرورش کولنی‌های میکرو ارگانیزم‌ها روی براث آگار وجود دارد. در نتیجه، این نظریه ارائه شد که شیوه اندازه‌گیری بازده ماده فیلتراسیون در برابر بیو آئروسل‌ها باید نتیجه‌ای از کاربرد آینده آن‌ها باشد. در مورد آنالیز توانایی رسوب ذرات، اندازه و شکل آن‌ها اهمیت بالایی دارد. در حالیکه در مطالعه پدیده واکنش ذرات بیو آئروسل نسبت به ماده فیلتراسیون یا پدیده نشر مجدد، استفاده از بیو آئروسل‌های زیست پذیر برای انجام تحقیق امری حیاتی است. صرف نظر از بازده فیلتراسیون در برابر میکرو ارگانیزم‌ها، ارزیابی بقای میکرو ارگانیزم‌های در تماس با ماده با خاصیت ضد میکروبی یک مسأله اساسی است. تا آنجا که ارتباط دارد، کاربرد روش‌های کمّی و کیفی می‌تواند مطرح شود. روش‌های کیفی برای ارزیابی فعالیت زیستی منسوجات حاوی ترکیبات ضد میکروبی به کار گرفته می‌شوند که امکان ارزیابی دقیق فعالیت‌های بیواستاتیک آن‌ها را فراهم می‌کند. روش‌های متعلق به این گروه معمولاً بر پایه قرار دادن یک نمونه منسوج روی براث آگار حاوی باکتری می‌باشند. سپس رشد باکتری زیر و پیرامون نمونه بررسی می‌شود. اگر نمونه به کار گرفته شده حاوی ماده ضد باکتری موثری باشد، یک منطقه بازدارنده برای باکتری در زیر و پیرامون نمونه مشاهده خواهد شد و پدیده‌ای با نام اثر هاله‌ای به وجود خواهد آمد. پوشش منطقه بازدارنده بر حسب میلی‌متر تعیین می‌شود. معمولاً فرض بر این است که اثر مثبت فعالیت ضد باکتری یک پارچه زمانی مشاهده می‌شود که افزایشی در تعداد میکرو ارگانیزم‌های زیر نمونه وجود نداشته باشد و منطقه بازدارنده باکتری پیرامون نمونه ۲–۱ میلی‌متر باشد. در واقعیت، پوشش منطقه بازدارنده نه تنها به کارایی ترکیب ضد باکتری مورد استفاده، بلکه به حلالیت و ضریب نفوذ آن نیز بستگی دارد. تشخیص تفاوت‌های بیشتر در کارایی ترکیبات ضد باکتری مختلف و همچنین روش‌های آغشته‌سازی الیاف با آن‌ها با استفاده از روش‌های این گروه مشکل است. روش‌های کمّی زمانی به کار گرفته می‌شوند که ارزیابی فعالیتی که منجر به کاهش جمعیت میکرو ارگانیزم‌ها می‌شود مدّ نظر باشد. در نتیجه می–توان از آن‌ها برای تعیین تعداد واکنش‌های ضد باکتری منسوجات استفاده کرد. باکتری‌ها تحت شرایط و زمان خاصی در محلول‌ها، پرورش می‌یابند. متأسفانه، مقایسه نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی منسوجات تهیه شده با شیوه‌های مختلف، بسیار سخت و یا حتی غیرممکن است. در مورد روش‌های کیفی این امر به دلیل خصوصیات و ضخامت‌های مختلف زیر لایه مورد استفاده، وزن واقعی پارچه و ذهنیت ارزیابی رشد باکتری در زیر نمونه است. در مورد روش‌های کمّی، علت تفاوت در برآوردها ممکن است به دلیل تفاوت در روش کار، غلظت یا رقّت میکرو ارگانیزم و همچنین تفاوت در خصوصیات باکتری مورد استفاده باشد. در مورد بی‌بافت‌ها، کاربرد یک روش کیفی برای ارزیابی خواص زیست فعالی به نظر مشکل‌ساز می‌آید. مشخصه اصلی بی‌بافت‌ها تخلخل آن‌ها است و در نتیجه میزان تماس آن‌ها با لایه سطحی براث آگار کم خواهد بود. همچنین با این فرض که در فاز دم– بازدم، بیو آئروسل درون فیلتر جریان دارد، باید انتظار داشت که میکرو ارگانیزم‌ها به داخل بی‌بافت نفوذ کرده و در نتیجه ارزیابی لایه خارجی با اندکی خطا روبه‌رو خواهد شد. با توجه به دلایل اشاره شده، روش‌های کمّی که در آن‌ها میکرو ارگانیزم‌های رسوب کرده روی ماده فیلتراسیون آبکشی شده، تحت شرایط مشخص انکوبه شده و سپس با استفاده از روش‌های میکروسکوپی شمارش می‌شوند، ترجیح داده می‌شوند.

هدف این تحقیق تعیین شیوه‌ای برای ارزیابی بی‌بافت‌های طراحی شده برای RPD در برابر بیو آئروسل‌ها و تائید کردن امکان دستیابی به راندمان بالای فیلتراسیون و خواص ضد میکروبی بی‌بافت‌های تهیه شده از پلیمرهای ترموپلاستیک حاصل از منابع تجدید شدنی است.

تجربیات

مواد

بی‌بافت‌های ذوب‌ریسی شده از پلی لاکتیک اسید که با یک ترکیب ضد باکتری اصلاح شده بودند مورد استفاده قرار گرفت. این بی‌بافت‌ها در کارگاه Central Institute for Labour Protection – National Research Institute (CIOP–PIB) تهیه شد. مشخصات پلیمر در جدول ۱ آمده است.

برای اصلاح الیاف پلی لاکتیک اسید، یک ترکیب ضد باکتری مورد استفاده قرار گرفت. ترکیب ضد باکتری با توجه به شرایط فنی و بهداشتی انتخاب شد. لازم بود تا از ایجاد یک پیوند دائمی بین ذرات ترکیب ضدباکتری و پلیمر ترموپلاستیک در مرحله تولید الیاف اطمینان حاصل شود. این امر به وسیله یک حامل ضد باکتری گرانوله شده (پرلیت) تحقق یافت که ذرات آن با ابعاد حدود ۱۰۰ میکرومتر می‌توانند به صورت جزئی در بین الیاف با قطر حدود ۵–۱ میکرومتر جاسازی شوند. یک ملاک بسیار مهم دیگر برای انتخاب ترکیب ضد باکتری، اطمینان از بی‌ضرر بودن آن برای انسان بر اساس Directive 2012/16/EU کمیسیون اروپا است که اصلاحیه‌ای بر Directive 98/8/EC مجلس و پارلمان اروپا بود تا هیدروکلریک اسید را نیز به عنوان ماده‌ای فعال که به طور همزمان می‌تواند به دیواره‌های سلولی گرم مثبت و گرم منفی آسیب وارد کند شامل شود. این ترکیب شامل پرلیت با قطر دانه‌های کمتر از ۱۰۰ میکرومتر و یک ترکیب ضد باکتری به کار گرفته شده روی سطح آن می‌شود. محتوی ترکیب بر اساس وزن بیو پرلیت به صورت زیر بود:

٪۲۵–۵ N_4N – دودسیل – N_4N – دی متیل کلراید

٪۱۰–۱ N – بنزیل – N – دودسیل N_4N – دی متیل کلراید

٪۱۵–۰/۵ N_4N bis – (۳–آمینو پروپیل) – N – دودسیل آمین

٪۱۰–۰/۱ نمک ۲– فسفو بوتان – ۴،۲،۱ – تری کربوکسیلیک اسید
٪۴–۰/۵ گلیسرین
٪۸۰–۲۰ الکل آلیفاتیک کوتاه (۲– پروپانول)
٪۳۰–۵ آب مقطر

محتوی مواد فعال بین ٪۸–۲ و برای پرلیت بین ٪۹۸–۹۲ از جرم کلی ترکیب بود. بیو پرلیت با اسپری کردن پرلیت خشک با محلولی از ترکیب ضد باکتری حاوی مواد گفته شده به دست آمد. پارامترهای فرآیند تولید بی‌بافت‌ها در جدول ۲ مشاهده می‌شود.

به منظور بهبود راندمان فیلتراسیون بیو آئروسل در بی‌بافت، تخلیه بار الکتریکی (تخلیه به میزان ۳۰ کیلو ولت) نیز به کار گرفته شد. مشخصات فیلتراسیون بی‌بافت‌های تهیه شده در جدول ۳ مشاهده می‌شود. یک روش استاندارد بر پایه اندازه‌گیری نفوذ ذرات مدل غبار روغن پارافین برای ارزیابی کارایی فیلتراسیون به کار گرفته شد. مقاومت در برابر جریان هوای ماده فیلتراسیون با استفاده از روشی که معمولاً برای ارزیابی RPD به کار گرفته می‌شود، تعیین شد.

این مطالعه روی دو مجموعه از بی‌بافت‌ها (۴–۱) و (۸–۵) انجام شد که تفاوت آن‌ها در جرم واحد سطح بی‌بافت پلی لاکتیک اسید بود و در همه آن‌ها درصد محتوی ترکیب ضد باکتری یکسان بود. برای مقایسه، بی‌بافت‌هایی بدون تخلیه الکتریکی نیز تولید شد. برای هر دسته از بی‌بافت‌ها ۲۰ اندازه‌گیری در خصوص پارامترهای فیلتراسیون و پارامترهای ساختاری انجام شد.

مقدار کل ماده ضد باکتری به کار رفته روی الیاف پلی لاکتیک اسید از طریق بیو پرلیت بر اساس آنالیزهای مقدماتی تعیین شد. مشخص شد که مقدار میانگین ماده ضد باکتری در ۴ نمونه از بی‌بافت‌های حاوی ٪۱۰ بیو پرلیت برابر ٪۰/۸۶ از وزن ماده فعال بود. مقدار ماده فعال ضد باکتری جذب شده روی سطح بی‌بافت‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتری نور UV محاسبه شد. مشخص شد که تحت شرایط استخراجی اعمال شده، ٪۴۸ از ماده ضد باکتری داخل بی‌بافت دچار واجذبی شد. بر اساس آنالیزهای انجام شده، می‌توان گفت که ٪۵۲ از ماده ضد باکتری به صورت دائمی به الیاف متصل شده است در حالیکه بقیه آن ممکن است دچار واجذب شود.

روش‌های آزمایش

گفته شد که دو معیار برای ارزیابی وجود دارد: کارایی فیلتراسیون در برابر ذرات بیولوژیکی و جلوگیری از توسعه و یا از بین بردن میکرو ارگانیزم‌های رسوب کرده روی فیلتر در حین استفاده از تجهیزات. روش اصلی تحقیق در رابطه با زیست فعالی بی‌بافت‌ها شامل عبور جریان بیو آئروسل از درون بی‌بافت می‌شود که شرایط استفاده از RPD و همچنین ارزیابی میکروبیولوژیکی برای زمان‌های انکوباسیون مختلف را در مورد میکرو ارگانیزم‌های متوقف شده در بی‌بافت شبیه‌سازی می‌کند.

جدول ۱، مشخصات پلیمر پلی لاکتیک اسید مورد استفاده در تولید بی‌بافت‌های ذوب‌ریسی شده؛

PLA 6202 D	نوع پلیمر
NatureWorks, LLC	تولید کننده
170-160	دمای ذوب، °C
30-15	شاخص جریان MFI*، g/10 min

*) بر اساس PN-EN 14704-1:2006 در دمای ۲۱۰°C

جدول ۲، پارامترهای فرآیند تولید بی‌بافت‌های ذوب‌ریسی شده از پلی لاکتیک اسید اصلاح شده با بیو پرلیت

۲۷۰	دمای منطقه اکستروژن اول، °C
۲۷۰	دمای منطقه اکستروزن دوم، °C
۲۷۰	دمای هوا، °C
۲۱۰	دمای دهانه، °C
۸/۸	جریان هوا، m3/h
۴/۰	جریان پلیمر، g/min
۳۰۰	فاصله بین دستگاه دریافت کننده و دهانه، mm

راه‌اندازی تجربی

دیاگرام راه‌اندازی تجربی در شکل ۱ دیده می‌شود. آزمایش‌ها در دپارتمان شیمی، گرد و غبار و خطرات بیولوژیکی CIOP–PIB انجام شد. برای اطمینان از ایمنی در کارگاه، راه‌اندازی تجربی در یک دودکش بخار انجام شد. برای اطمینان از خلوص هوا در سیستم اندازه‌گیری، جداسازی چرخه‌ای و یک فیلتر روغن به کار گرفته شد که ذرات با قطر ۰/۰۱ میکرومتر را جدا کرد. پشت ستون اندازه‌گیری یک فیلتر با دقت فیلتراسیون ۰/۰۰۳ p.p.m برای جلوگیری از آلودگی بیولوژیکی شیرها، کنتور جریان و پمپ خلاء قرار داده شد. از یک افشانه برای اسپری کردن بیو آئروسل استفاده شد. برای تعیین تعداد ذرات بیو آئروسل عبور کرده از فیلتر، یک شمارشگر ذرات نوری مدل Grimm 1.109 استفاده شد. محدوده ذرات اندازه‌گیری شده بین ۲۰–۰/۳ میکرومتر بود. ساخت کارگاه اندازه‌گیری امکان بکارگیری میکرو ارگانیزم‌های مختلف را بر اساس شکل و خواصشان فراهم کرد که در نتیجه امکان به دست آوردن بیو آئروسل‌های با مشخصات متفاوت از نظر پراکندگی اندازه ذرات و غلظت‌های متفاوت به وجود آمد. همچنین تنظیم کردن نرخ جریان بیو آئروسل و انجام آزمایش‌ها در زمان‌های مختلف عبور جریان بیو آئروسل از داخل نمونه بی‌بافت نیز امکان پذیر شد.

روش انجام آزمایش

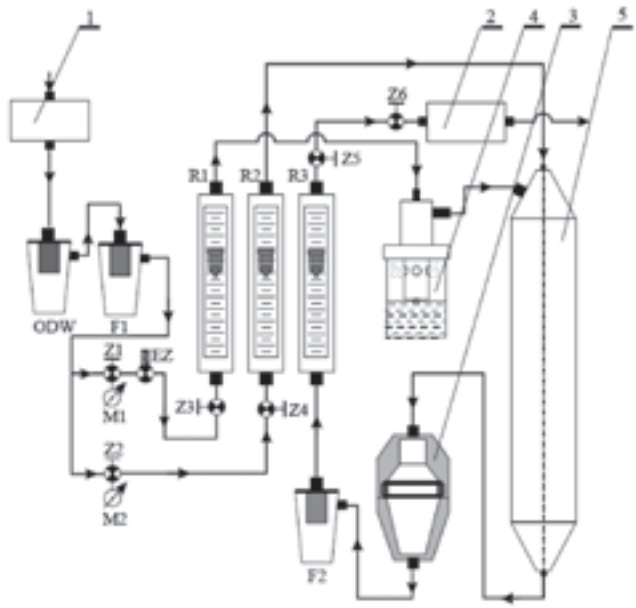
محلول میکرو ارگانیزم در افشانه قرار گرفت و اسپری شد که به دنبال آن با جریان هوای خشک نیز مخلوط شد. به منظور پایدار کردن شرایط آزمایش و ارزیابی غلظت میکرو ارگانیزم، بیو آئروسل به مدت ۳۰ دقیقه و بدون حضور بی‌بافت در سیستم اندازه‌گیری قرار گرفت. اندازه‌گیری مناسب بر اساس عبور جریان بیو آئروسل از درون نمونه بی‌بافت (فیلتر با ضخامت ۸۰ میلی‌متر) با یک نرخ جریان ۳۰ l/min به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. بعد از این زمان، فیلترها روی یک پتری دیش استریل قرار گرفتند. سپس فیلترهای بسته‌بندی شده برای مدت‌های ۲، ۴ و ۸ ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شدند. برای ارزیابی بقای میکرو ارگانیزم‌ها بعد از تماس با بی‌بافت پلی لاکتیک اسید زیست فعال، میکرو ارگانیزم‌ها از هر یک از نمونه‌های آزمایش‌شده آبکشی شده و به مدت ۱۵ دقیقه در یک حمام آب (دمای ۳۷°C) در یک تکاننده با فرکانس چرخش ۱۵۰ c.p.m تکان داده شدند. سپس نمونه در محلول نمک استریل رقیق شد تا رقّت‌های۵–۱۰، ۶–۱۰، ۷–۱۰ و۸–۱۰ به دست آمد و روی پتری دیش‌های استریل ریخته شد. نمونه با براث آگار TSA نیمه مایع پوشانده شد و پلی سوربات ۸۰ و لسیتین با pH=۷/۳ به آن اضافه شد، سپس با یکدیگر مخلوط شده و کنار گذاشته شد تا یکدست شود. سپس در دمای ۳۷°C و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و بعد از گذشت این زمان تمام کولنی‌های رشد کرده شمارش شد. با توجه به نتایج به دست آمده،

جدول ۳، مشخصات بی‌بافت‌های ذوب‌ریسی شده با پلی لاکتیک اسید و بی‌بافت‌های اصلاح شده با بیو پرلیت

شماره	محتوی بی‌بافت	فعال‌سازی الکترواستاتیک	وزن واحد سطح، g/m^2	نفوذ غبار روغن پارافین، %	مقاومت در برابر جریان هوا، Pa
۱	پلی لاکتیک اسید+ بیو پرلیت	+	۹۶/۰±۱/۹۲	۳/۵±۰/۰۷	۲۲۲/۰±۱۱/۱۰
۲	پلی لاکتیک اسید	+	۹۰/۰±۱/۸۰	۵/۹±۰/۱۸	۲۱۳/۰±۱۰/۶۵
۳	پلی لاکتیک اسید+ بیو پرلیت	–	۱۰۶/۰±۵/۳۰	۷/۸±۰/۳۱	۲۲۳/۳±۶/۶۹
۴	پلی لاکتیک اسید	–	۹۶/۰±۱/۹۲	۹/۵±۰/۴۸	۲۱۷/۰±۱۰/۸۵
۵	پلی لاکتیک اسید+ بیو پرلیت	+	۱۳۴/۰±۲/۶۸	۱/۸±۰/۰۵	۳۰۷/۰±۱۵/۳۵
۶	پلی لاکتیک اسید	+	۱۲۴/۰±۳/۷۲	۴/۸±۰/۱۴	۲۵۳/۰±۱۲/۶۵
۷	پلی لاکتیک اسید+ بیو پرلیت	–	۱۳۴/۰±۲/۶۸	۵/۴±۰/۱۶	۲۹۶/۰±۱۰/۷۶
۸	پلی لاکتیک اسید	–	۱۱۸/۰±۲/۳۶	۷/۰±۰/۳۵	۲۵۰/۰±۱۲/۵۰

مقدار میانگین برای هر میکرو ارگانیزم که ۱ ساعت در معرض قرار گرفته بود محاسبه شد. به منظور بررسی کارایی فیلتراسیون بی‌بافت‌های زیست تجزیه‌پذیر در برابر میکرو ارگانیزم‌ها، غلظت ذرات در جلو و عقب هر فیلتر با استفاده از یک شمارشگر ذرات نوری مدل Grimm ۱،۱۰۹ اندازه‌گیری شد. برای هر دسته از زمان‌های انکوبه کردن ۱۰ تکرار انجام شد.

برای آزمایش زیست فعالی بی‌بافت‌های پلی لاکتیک اسید، میکرو ارگانیزم‌های با قطر ایرودینامیکی کمتر از ۱ میکرومتر، اما با شکل‌های مختلف و متعلق به دو دسته باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی انتخاب شدند. ضرورت انجام آزمایشات برای هر دو دسته از میکرو ارگانیزم‌ها به این دلیل است که حساسیت آن‌ها در برابر مواد ضد باکتری متفاوت است. با توجه به توانایی ممانعت موثر در برابر ذرات بیو آئروسل مضر برای سلامتی در مواد فیلتراسیون RPD، به کارگیری ذراتی که نفوذ بیشتری به سیستم تنفسی دارند به عنوان بدترین حالت انتخاب شد. بیشترین میزان نفوذ ذرات موجود در جریان هوا به سیستم تنفسی



شکل ۱، دیاگرام ایده دستگاهی برای تعیین کارایی بی‌بافت استفاده شده در تولید تجهیزات حفاظت تنفسی؛ ۱) کمپرسور، ۲) پمپ خلاء، ۳) اتاق آزمایش، ٤) افشانه، ٥) خشک کن: ODW – جدا کننده چرخه؛ F1 – فیلتر هوا نوع AHF 04/0.01 µm؛ Z1،Z2 – شیرهای کاهش فشار؛ M1،M2 – فشارسنج‌ها؛ EZ – شیر الکتریکی؛ R1،R2،R3 – جریان سنج؛ Z3،Z4 – شیرهای تنظیم دقیق جریان هوا؛ Z5 – شیر تنظیم دقیق مکش هوا؛ Z6 – شیر تنظیم مقدماتی مکش هوا؛ F2 – فیلتر خروجی نوع ACF 04/0.003 ppm.

به قطر ایرودینامیکی آن‌ها بستگی دارد. در نتیجه ذراتی با قطر ایرودینامیکی :

کمتر از ۰/۶۵ میکرومتر به ناحیه شش‌ها می‌رسند

۰/۶۵–۱/۱ میکرومتر به ناحیه نایژک‌های ریوی می‌رسند

۱/۱–۲/۱ میکرومتر به ناحیه نایچه نهایی می‌رسند

۲/۱–۳/۳ میکرومتر به ناحیه نایچه ثانویه می‌رسند

۳/۳–۴/۷ میکرومتر به ناحیه نای و نایچه اولیه می‌رسند

۴/۷–۷ میکرومتر به ناحیه حلق می‌رسند

۷–۱۱ میکرومتر به ناحیه کانال‌های حفره بینی می‌رسند

با توجه به معیارهای بالا در ارزیابی بی‌بافت‌های پلی لاکتیک اسید زیست فعال، سودوموناس اروجینوسا به عنوان یک باکتری گرم منفی میله‌ای (شکل ۲) و استافیلوکوک اورئوس به عنوان یک باکتری گرم مثبت گرانولوما (شکل ۳) انتخاب شدند.

سودوموناس اروجینوسا یک گونه از باکتری‌های هوازی است که ابعاد آن ۰/۸–۰/۵ میکرومتر در ۳/۰–۱/۵ میکرومتر و قطر ایرودینامیکی آن نیز ۰/۸ میکرومتر است. باکتری‌های گیاهی تنها در خاک و آب و روی سطح گیاهان و به ندرت روی پوست حیوانات زندگی می‌کنند. این باکتری یک عامل فرصت طلب است (به این معنی که تنها برای افرادی که سیستم ایمنی آن‌ها ضعیف شده مشکل ایجاد می‌کند) که یکی از خطرناک–ترین و مهم‌ترین میکرو ارگانیزم‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی است. استافیلوکوک اورئوس در حفره‌های حلق و بینی و روی پوست انسان و حیوان یافت می‌شود. آلودگی توسط این باکتری معمولاً در بین کارکنان بیمارستان مشاهده می‌شود که در عفونت‌های بیمارستانی اهمیت بالایی دارد. استافیلوکوک در غذای آلوده انتروتوکسین مقاوم در برابر حرارت تولید می‌کند. این سم در برابر دما بسیار مقاوم است و حتی پس از ۳۰ دقیقه جوشاندن نیز از بین نمی‌رود.

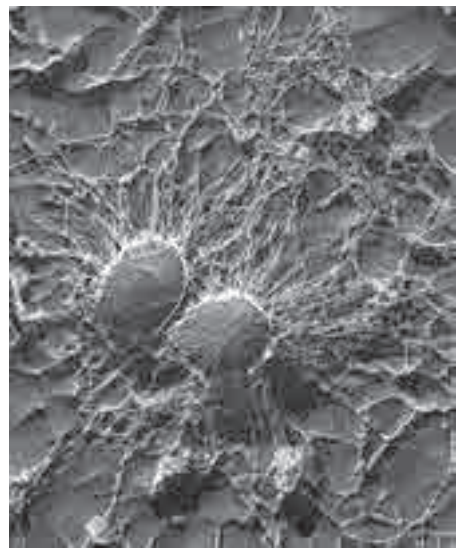
شکل ۲، سودوموناس اروجینوسا – باکتری هوازی (گرم منفی میله‌ای)

دمای بهینه برای رشد آن ۳۷°C است. مسمومیت با این سم دوره نهفتگی کوتاهی به طور میانگین در حدود ۲ ساعت دارد. استافیلوکوکی که هاگ تولید نکند به آسانی با حرارت دادن از بین می‌رود. مسمومیت با استافیلوکوک اورئوس بیشتر در نتیجه تماس مستقیم منتشر می‌شود. نکته کم اهمیت‌تر این است که انتقال آلودگی از طریق هوا انجام می‌شود، اما در مورد التهاب‌های ریوی و سوختگی‌های بزرگ که در تماس با استافیلوکوک هستند، این امر اهمیت پیدا می‌کند. اخیراً نشان داده شده است که اگر حامل‌ها، عفونت سیستم تنفسی ویروسی داشته باشند انتقال استافیلوکوک اورئوس از طریق هوا بیشتر خواهد شد. این نظریه استدلال دیگری در توجیه انتخاب این باکتری برای آزمایش‌ها به وجود می‌آورد. باکتری‌ها بر اساس استانداردهای بین المللی و به صورت سلول‌های فعال منجمد نگه‌داری شدند. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های از حالت منجمد در آمده به همراه ۵۰ میلی‌لیتر بستر TBS استریل در یک ارلن مایر ۲۰۰ میلی‌لیتری ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند تا باکتری در فاز رشد ساکن تولید شود که در این حالت فعالیت متابولیکی و آمادگی در برابر استرس در حین تبدیل به آئروسل در کمترین سطح خود قرار دارند. سپس کولنی با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا سلول‌ها از بستر جدا شوند. باکتری در ۶۰۰ میلی‌لیتر از محلول نمک به صورت تعلیق در آمد. سپس این تعلیق درون یک افشانه استریل ریخته شد و به دستگاه متصل شد. یک نمونه کشت کنترل با استفاده از مخلوط کن مغناطیسی برای بررسی تعداد میکرو ارگانیزم‌های موجود در تعلیق تهیه شد. تعداد میکرو ارگانیزم‌ها در سطح ۲/۶×۱۰۷ cfu/ml برای سودوموناس اروجینوسا و ۶×۱۰۷ cfu/ml برای استافیلوکوک اورئوس باقی ماند. بی‌بافت‌های پلی لاکتیک اسید زیست فعال به دلیل ترسی که از تغییر خواص شیمی فیزیکی آن‌ها وجود داشت، استریل نشدند. خلوص میکروبیولوژیکی بی‌بافت‌ها بررسی شد. تعداد میکرو ارگانیزم‌های موجود در بی‌بافت‌ها کم بود و تاثیری در نتایج آزمایش‌ها نداشت.

شاخص‌های نتایج آنالیزهای تحقیق

شاخص بازده فیلتراسیون (S) میکرو ارگانیزم‌های تست شده طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$S\% = \frac{N_0 - N_k}{N_0} \times 100,\% \qquad (۱)$$



شکل ۳، استافیلوکوک اورئوس –باکتری هوازی (گرم مثبت گرانولوما)

که در آن S بازده فیلتراسیون (P-1) بر حسب درصد، N_0 تعداد میکرو ارگانیزم‌های جلوی فیلتر و N_k تعداد میکرو ارگانیزم‌های پشت فیلتر است. شاخص بقای باکتری (P) یعنی: تعداد میکرو ارگانیزم‌هایی که بعد از تماس با ماده ضد باکتری زنده مانده‌اند در مقابل تعداد اولیه آن‌ها در زمان ۰=t.

$$P = \frac{N_0 - \overline{N}}{N_0} \times 100 \qquad (۲)$$

که در آن P بقای باکتری بر حسب درصد، N_0 میانگین تعداد میکرو ارگانیزم‌های قرار گرفته روی نمونه بی‌بافت و $\overline{N}$ میانگین تعداد میکرو ارگانیزم‌ها در یک زمان مشخص است.

یک آزمون معنادار آماری برای آنالیز نتایج استفاده شد (آنالیز واریانس ANOVA). یک سیستم با اندازه–گیری‌های تکراری به کار گرفته شد به این دلیل که محاسبه متغیر وابسته برای نمونه‌های بی‌بافت از یک دسته، دفعات متعددی تکرار شد.

نتایج

بازده‌فیلتراسیون

نتایج آزمایشات روی فیلتراسیون بی‌بافت‌های پلی لاکتیک اسید زیست فعال در برابر دو میکرو ارگانیزم سودوموناس اروجینوسا و استافیلوکوک اورئوس در جدول ۴ مشاهده می‌شود. نتایج بسیار خوبی در رابطه با بازده متوقف کردن میکرو ارگانیزم‌ها به وسیله بی‌بافت‌های پلی لاکتیک اسید اصلاح شده با بیو پرلیت به دست آمد. بازده فیلتراسیون در سطح ۹۴/۹۶ و ۹۹/۳۴ باقی ماند. برای وزن در متر مربع بی‌بافت‌های تولید شده وابستگی مشابهی مشاهده شد. بی‌بافت‌های باردار مقادیر بازده فیلتراسیون بالاتری را نشان دادند (شاخص نفوذ کمتر برای آئروسل تست شده). در عین حال باید تأکید کرد که تمام بی‌بافت‌های زیست فعال تولید شده نتایج رضایت بخشی را از نقطه نظر مجموعه شرایط لازم برای RPD به دست آوردند. با توجه به تفاوت در تعداد سلول‌های سودوموناس اروجینوسا و استافیلوکوک اورئوس که از درون نمونه‌های بی‌بافت تست شده جریان دارند، در آنالیزهای آماری هیچ مقایسه‌ای بین داده‌های خروجی انجام نشد و تنها شاخص–های تعداد میکرو ارگانیزم‌ها مقایسه شدند. این شاخص‌ها با توجه به تعداد میکرو ارگانیزم‌ها در زمان ۰ (cfu/sample) نسبت به مقادیر به دست آمده در زمانی که بیو آئروسل از درون سیستم اندازه‌گیری بدون نمونه (jtk/sam-ple) جریان دارد محاسبه می‌شوند. با توجه به آنالیزهای آماری انجام شده مشخص شده است که شکل میکرو ارگانیزم‌ها زمانیکه مساحت ایرودینامیکی آن‌ها مشابه باشد هیچ اثر آماری در تعداد باکتری‌های متوقف شده در بی‌بافت‌های زیست فعال ندارد. این نتیجه‌گیری در موردی صادق است که ذرات باکتری استافیلوکوک اورئوس که شکل گرانولی دارند سلول‌هایی با اندازه بین ۱/۵–۰/۵ میکرومتر و ذرات باکتری سودوموناس اروجینوسا که شکل میله‌ای دارند مساحتی بین ۳/۰–۱/۰ × ۰/۷–۰/۴ میکرومتر داشته باشند.

تصمیم‌گیری برای اینکه کدام شکل از میکرو ارگانیزم‌ها نماینده بهتری برای ارزیابی خواص حفاظتی RPD است اهمیت بالایی دارد. تا به حال نتایج مختلفی در این زمینه به دست آمده است. با توجه به یکی از کارهای انجام شده، اعلام شده که ذرات با شکل کروی نسبت به ذرات Mchelone که میله‌ای شکل هستند با این فرض که قطرهای ایرودینامیکی مشابهی داشته باشند، نفوذ بهتری به ماده فیلتراسیون دارند. در عین حال، با توجه به نتایج به دست آمده از کاری دیگر، واضح است که این وابستگی برعکس است چون نسبت طول به عرض باکتری است که اهمیت دارد. این نتیجه در کار دیگری که در آن آزمایشاتی با استفاده از باسیلوس سوبتیلیس (میله‌ای) و استافیلوکوک اپیدرمیدیس (کروی) انجام شد نیز

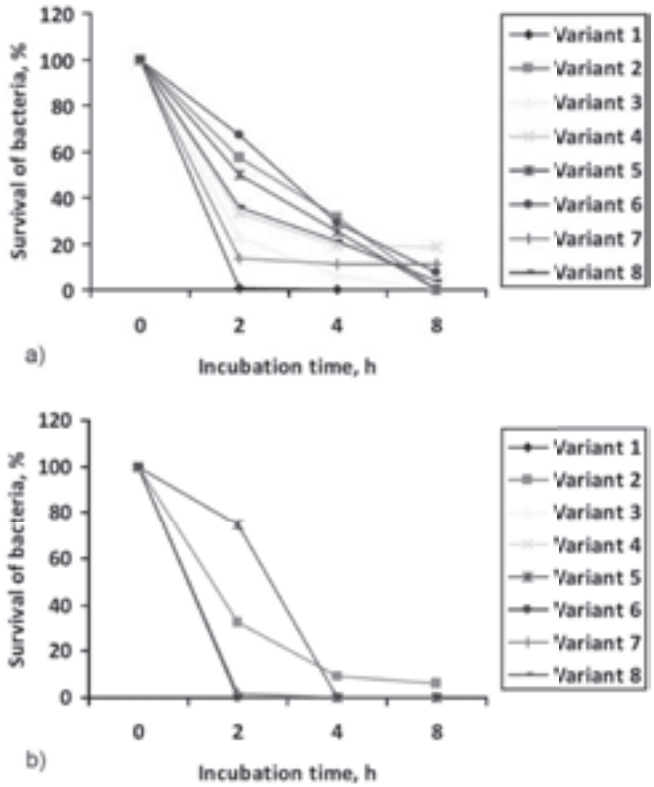
جدول ٤، بازده فیلتراسیون بی‌بافت پلی لاکتیک اسید زیست فعال

نمونه (بار)	استافیلوکوک اورئوس		سودوموناس اروجینوسا	
	مقدار میانگین بازده فیلتراسیون، ٪	انحراف معیار	مقدار میانگین بازده فیلتراسیون، ٪	انحراف معیار
(+)۱	۹۹/۳۴	۰/۳۹	۹۷/۳۶	۳/۷۸
(−)۳	۹۶/۱۳	۰/۵۸	۹۴/۹۶	۱/۰۷
(+)۵	۹۸/۱۱	۱/۲۲	۹۹/۲۶	۰/۴۸
(−)۷	۹۷/۶۴	۰/۷۴	۹۷/۶۲	۰/۱۷

تأیید شده است. با این حال، اشاره شده است که قطر ایرودینامیکی میکرو ارگانیزم‌ها ممکن است بهترین پارامتر برای تشخیص نفوذ ذرات غیر کروی نباشد، که مشابه تحقیقی است که در مورد نفوذ ذرات آزبست به درون ماده فیلتراسیون انجام شد که در آن به جای قطر ایرودینامیکی طول الیاف اهمیت داشت. این اختلافات، دیدگاهی را که در مقدمه ارائه شده بود را تائید می‌کند. در تحقیق روی حفاظ‌های زیستی، بکارگیری ذرات با اندازه و شکل متمایز که متناسب با شرایط پیش‌بینی شده استفاده از تجهیزات حفاظتی باشد ضروری است. بنابراین طراحی مواد فیلتراسیون جدید باید با توجه به مشخصات و آنالیزهای خطراتی که تجهیزات فیلتراسیون باید در برابر آن‌ها مقاومت کنند انجام شود. در عین حال، برای تأیید کارایی حفاظتی این تجهیزات، بکارگیری میکرو ارگانیزم‌هایی با مشخصات مشابه تا آنجا که به اندازه و شکل ذرات بستگی دارد ضروری است.

بقای باکتری در تماس با بی‌بافت پلی لاکتیک اسید زیست فعال

بازده ممانعت از رشد میکرو ارگانیزم‌ها با توجه به تعداد میکرو ارگانیزم‌های موجود در نمونه بعد از گرافت کردن (زمان ۰) ارزیابی شد. نتایج آزمایشات بقای میکرو ارگانیزم‌های تست



شکل ٤، نتایج آزمایشات بقا: a) استافیلوکوک اورئوس b) سودوموناس اروجینوسا بر حسب زمان

شده با توجه به زمان‌های مختلف انکوبه شدن در شکل ۴ آمده است. معیارهای زیست فعالی بی‌بافت‌ها با استفاده از نظریه‌های اصولی برای نشان دادن اثر بیواستاتیکی و ضد باکتری ضد عفونی کننده‌ها نسبت به باکتری‌ها تنظیم شدند. سطح ۳ به عنوان عالی و به معنای کاهش ۱۰۰۰ برابری در تعداد میکرو ارگانیزم‌ها شناخته شد. بر اساس آنالیزهای انجام شده، برای هر دو باکتری انکوبه شده به مدت دو ساعت در دمای ۳۷°C، پدیده ممانعت از رشد برای میکرو ارگانیزم‌ها اتفاق افتاد ($p<۰/۰۱$)، یعنی زمان انکوباسیون باعث کاهش تعداد میکرو ارگانیزم‌های مورد مطالعه و دستیابی به بازده سطح سوم شد. برای سودوموناس اروجینوسا تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین بی‌بافت‌های مورد استفاده مشاهده نشد که بدان معنی است که خواص ضد میکروبی در رابطه با باکتری‌های گرم منفی برای بی‌بافت‌های باردار شده و بدون بار یکسان است. در مورد استافیلوکوک اورئوس، بهترین نتایج برای نمونه‌های بی‌بافت باردار شده به دست آمد. بی‌بافت با وزن در متر مربع ۱۳۴ گرم یک استثناء است. با توجه به بقای میکرو ارگانیزم‌ها، این نمونه برای هر دو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت بسیار بدتر از بی‌بافت‌های با وزن کمتر ارزیابی شد که ممکن است در نتیجه توزیع نامناسب بیو پرلیت در حجم بی‌بافت و در نتیجه، تماس کمتر ماده ضد باکتری با دیواره سلولی باکتری‌ها باشد. در عین حال، باید تأکید کرد که بی‌بافت‌های پلی لاکتیک اسید بدون بیو پرلیت نسبت به بی‌بافت‌های پلی‌پروپیلن محل رشد مناسبی برای میکرو ارگانیزم‌ها نیستند. بعد از ۴ ساعت تماس با باکتری، با وجود نبود عامل ضد باکتری، کاهش قابل ملاحظه‌ای در جمعیت میکرو ارگانیزم‌ها اتفاق افتاد. توضیح این پدیده نیاز به تحقیقات بیشتر دارد، به خصوص در زمینه استفاده گسترده‌تر از پلیمرهای منابع تجدیدپذیر که ساختار و خواص آن‌ها با پلیمرهای مصنوعی استفاده شده در تولید بی‌بافت‌ها که پایه تولید RPD هستند تفاوت‌های اساسی دارد.

نتیجه‌گیری

– تمام انواع بی‌بافت‌های تولید شده از پلیمر پلی لاکتیک اسید زیست فعال نتایج رضایت بخشی از نقطه نظر نیازمندی‌های RPD به دست آوردند. در مورد بی‌بافت‌های باردار شده، بازده فیلتراسیون بالاتر از نمونه–های بدون بار بود. – بر اساس آنالیزهای آماری انجام شده، نشان داده شد که برای هر دو باکتری در زمان دو ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C، پدیده ممانعت از رشد میکرو ارگانیزم‌ها مشاهده شد. هیچ اثر قابل ملاحظه‌ای از باردار کردن روی خواص ضد باکتری بی‌بافت‌های اصلاح شده با بیو پرلیت مشاهده نشد.

– با توجه به افزایش آگاهی در رابطه با حفاظت از محیط زیست، محصولات تهیه شده از پلیمرهای نفتی در حال از دست دادن ارزش خود هستند. یک راه حل برای این مشکل ممکن است توسعه محصولات جایگزین بر پایه منابع تجدید پذیر باشد. نتایج به دست آمده در این تحقیق پتانسیل بالای استفاده از پلیمرهای زیست تجزیه پذیر را به عنوان جایگزینی برای محلول‌های به کار رفته در تولید RPD در برابر بیو آئروسل‌ها نشان می‌دهد.