นิพนธ์ต้นฉบับ
(Original article)

การตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคในคลินิกผิวหนังในฤดูฝน

จิตรา ตะเภาพงษ์[1] สันต์ สุวรรณมณี[2] นัฏฐเนศวร์ ลับเลิศลบ[3]
[1]ฝ่ายการพยาบาล โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
[2]หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาอายุรศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
[3]ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ในสภาวะที่มีความชื้นสูง เชื้อจุลชีพก่อโรคบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดี และสามารถก่อโรคได้โดยเฉพาะกับผู้ที่มีความบกพร่องทางระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งสภาวะความชื้นสูงมักจะเกิดในฤดูฝน โดยการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคในคลินิกผิวหนังช่วงฤดูฝนเนื่องจากผู้มารับบริการคลินิกผิวหนังส่วนใหญ่มักมาด้วยการติดเชื้อจุลชีพบริเวณผิวหนังและอาจมีการแคะ แกะ เกา ซึ่งอาจนำไปสู่การปนเปื้อนเชื้อจุลชีพก่อโรคในคลินิกผิวหนัง โดยได้ทำการศึกษาด้วยการสุ่มเก็บตัวอย่างโดยวิธี Spot test จากคลินิกผิวหนังจำนวน 7 ห้อง ห้องละ 15 จุด ทำการเก็บตัวอย่าง 3 เวลา คือ 3 ชั่วโมงก่อนเปิดบริการ 3 ชั่งโมงหลังการเปิดบริการ และ 3 ชั่วโมงหลังจากคลินิกปิดบริการ จากนั้นนำตัวอย่างมาเพาะเลี้ยงเชื้อ และแยกชนิดของเชื้อจุลชีพ โดยทำสัปดาห์ละ 3 วัน ติดต่อกัน 6 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าจากตัวอย่างเชื้อมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคถึงร้อยละ 85 ซึ่งสามารถแยกได้เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกร้อยละ 15 แบคทีเรียแกรมลบร้อยละ 6 ส่าร้อยละ 24 และราสายร้อยละ 55 ซึ่งจากผลการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในคลินิกผิวหนังในครั้งนี้ นำไปสู่การป้องกันที่ดี กล่าวคือการทำความสะอาดเพื่อการลดการปนเปื้อนของจุลชีพก่อโรคและลดอัตราการเกิดการติดเชื้อจุลชีพเพิ่มในผู้รับบริการ ควรคำนึงถึงความถี่ และสารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด อีกทั้งผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปพัฒนาศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับอัตราการเพิ่มขึ้นของการติดเชื้อจุลชีพก่อโรคเปรียบเทียบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคในฤดูฝนกับฤดูกาลอื่นและในคลินิกอื่นๆ ต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อจุลชีพก่อโรค คลินิกผิวหนัง ฤดูฝน

ผู้นิพนธ์หลัก:
ผศ.ดร.นพ.นัฏฐเนศวร์ ลับเลิศลบ
คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
420/6 ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
อีเมล์: natthanej.lup@mahidol.ac.th

Evaluation of pathogenic microorganisms contaminated in dermatology outpatient clinic during the midst of rainy season

Jitra Tapaopong[1], San Suwanmanee[2], Natthanej Luplertlop[3]

[1]Nursing Department, Hospital for Tropical Diseases, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

[2]Doctor of Philosophy Program in Tropical Medicine, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

[3]Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

Abstract

The pathogenic microorganism can rapidly grow in high humid condition, which is a common condition in rainy season and can cause diseases especially in immune-compromised patients. Since most patients visiting the clinic present with skin infection caused from pathogenic microorganisms, the scratch and pick out of the scaly residue are always the common patients' manner that can spread out of contamination in the clinic. This study aimed to evaluate the contamination of pathogenic microorganisms in dermatology outpatient clinic during the rainy season. Samples were collected from 7 rooms in the dermatology clinic in which 15 spot sampling sites each by using spot test technique and collected 3 times a day (3 hours before clinic opened, 3 hours after clinic opened, and 3 hours after clinic closed). The sample was cultured and determined. The results found that 85% were positive and could be identified as 15% of gram-positive bacteria, 6% of gram-negative bacteria, 24% of yeast, and 55% of mold. This study provided promising information to prevent pathogenic contamination in dermatology outpatient clinic. Hygienic practical routine (effective methods and suitable chemical agents) needs to be encouraged in the clinic in order to decrease the contamination. Moreover, the statistical data of new pathogenic infection in patients should be monitored and compared with other similar dermatology outpatient clinics, which will help to improve human health and minimal the risk of contamination effects.

Keywords: pathogenic microorganism, dermatology outpatient clinic, rainy season

Corresponding author:

Natthanej Luplertlop

Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

420/6 Ratchawithi Road, Ratchathewi, Bangkok 10400

E-mail: natthanej.lup@mahidol.ac.th

บทนำ

ท่ามกลางการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศและฤดูกาลเป็นผลทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงของความชื้นในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะฤดูฝนจะมีความชื้นในสิ่งแวดล้อมสูงสุด และทำให้เชื้อจุลชีพเติบโตได้ดี และมีจำนวนมากกว่าฤดูที่ไม่มีฝนตกถึงร้อยละ 20[1-4] ซึ่งจุลชีพบางชนิดสามารถเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีความชื้นสูงโดยรวมไปถึงเชื้อจุลชีพที่สามารถก่อโรคได้ เช่น ไวรัส แบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น ฤดูฝนจึงเป็นฤดูที่เชื้อจุลชีพบางชนิดสามารถเติบโตได้ดี และมีความสามารถในการแพร่กระจายและก่อโรคได้สูง[5-7] ซึ่งเชื้อจุลชีพบางชนิดเป็นเชื้อประจำถิ่นของร่างกาย มีหน้าที่ในการดักจับเชื้อจุลชีพก่อโรค ช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อโรคก่อความเสียหายแก่ร่างกายได้ เช่น *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นบริเวณผิวหนัง เป็นต้น มากไปกว่านั้นหากร่างกายมีความบกพร่องทางระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ความสามารถในการต่อต้านเชื้อจุลชีพลดลงอาจทำให้เชื้อประจำถิ่นสามารถเติบโตและก่อให้เกิดโรคได้[8-9]

ผู้รับบริการในคลินิกโรคผิวหนังส่วนใหญ่จะมาด้วยอาการติดเชื้อจุลชีพบริเวณผิวหนังซึ่งผู้รับบริการอาจมีการ แคะ แกะ เกา ผิวหนังระหว่างมารับบริการ ซึ่งอาจมีผลทำให้การปนเปื้อนเชื้อจุลชีพแพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมและอาจเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ดีเนื่องจากสภาพอากาศในฤดูฝนมีความชื้นสูง อาจทำให้ความสามารถในการแพร่กระจายของเชื้อจุลชีพไปยังผู้รับบริการอื่นเพิ่ม และอาจทำให้เกิดการติดเชื้อใหม่เพิ่มขึ้นในผู้รับบริการได้ รวมถึงอาจทำให้เกิดอาการติดเชื้อรุนแรงในผู้ที่มีความบกพร่องทางระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีการทำการศึกษาวิจัยเพื่อศึกษาการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพก่อโรคในคลินิกผิวหนังในฤดูฝน ซึ่งการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปนเปื้อน และชนิดของเชื้อจุลชีพก่อโรคที่พบในแผนกผิวหนังในฤดูฝน เพื่อนำไปสู่การป้องกันการติดเชื้อจุลชีพเพิ่มในผู้รับบริการ อีกทั้งผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปพัฒนาศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับอัตราการเพิ่มขึ้นของการติดเชื้อจุลชีพก่อโรคในผู้รับบริการ และศึกษาเปรียบเทียบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคในฤดูฝนกับฤดูกาลอื่นและในคลินิกอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคที่พบในคลินิกผิวหนังในฤดูฝน
2. เพื่อศึกษา และเปรียบเทียบชนิดของเชื้อจุลชีพก่อโรคที่พบในคลินิกผิวหนังในฤดูฝน

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างเชื้อจุลชีพที่ใช้ในการศึกษา

เก็บตัวอย่างด้วยวิธีการ spot test โดยการนำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อป้ายบริเวณจุดและเครื่องใช้ต่างๆ ภายในแต่ละห้องของคลินิกผิวหนัง แล้วนำไม้พันสำลีเก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose ชนิดเหลว จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บมาเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Sabouraud Dextrose Agar (SDA) เพื่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ[10-11] และ Sabouraud Dextrose Agar+gentamycin เพื่อใช้ในการแยกจุลชีพพวกเห็ดราโดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย[12] จากคลินิกผิวหนัง โดยการสุ่มเก็บ 15 spot site ของแต่ละจุดที่ให้บริการผู้ป่วยของคลินิกผิวหนัง ซึ่งประกอบไปด้วย จุดตรวจวัดสัญญาณชีพ เคาน์เตอร์พยาบาล ห้องรังสีอัลตร้าไวโอเลต ห้องตรวจ ห้องย้อมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ห้องผ่าตัดเล็กและห้องเลเซอร์ และจุดนั่งรอของผู้ป่วย ซึ่งแต่ละจุดสุ่มโดยการแบ่งพื้นที่หรืออุปกรณ์ที่ต้องการเก็บตัวอย่างเป็นสามส่วนแล้วเก็บตัวอย่างส่วนที่สองหรือส่วนตรงกลางของอุปกรณ์นั้นๆ โดยทำการเก็บตัวอย่าง 3 เวลา คือ 3 ชั่วโมงก่อนคลินิกเปิดบริการ 3 ชั่วโมงหลังคลินิกเปิดบริการและ 3 ชั่วโมงหลังคลินิกปิดบริการ ซึ่งได้เก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 3 วัน (วันจันทร์ วันพุธ และวันศุกร์) ติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์

จำแนกประเภทและชนิดของเชื้อจุลชีพ

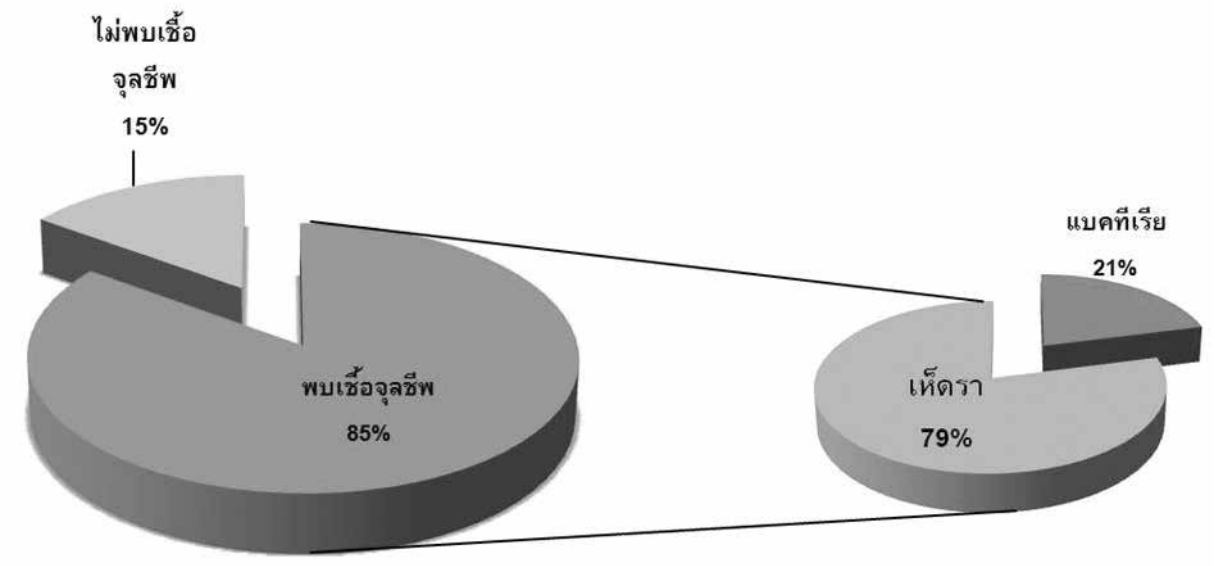
ตัวอย่างจากคลินิกผิวหนังนำมาจำแนกและระบุชนิดของเชื้อโดยวิธีการ Conventional culture methods[13], Gram stain[14-15] และวิธีการทาง biochemistry[16-17] เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และใช้วิธีการ Lactophenol cotton blue stain[18-20] เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อกลุ่มเห็ดรา (ส่าและราสาย)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้สถิติเชิงพรรณนาในการคำนวณค่าร้อยละของเชื้อจุลชีพก่อโรคแต่ละชนิดที่พบในคลินิกผิวหนัง

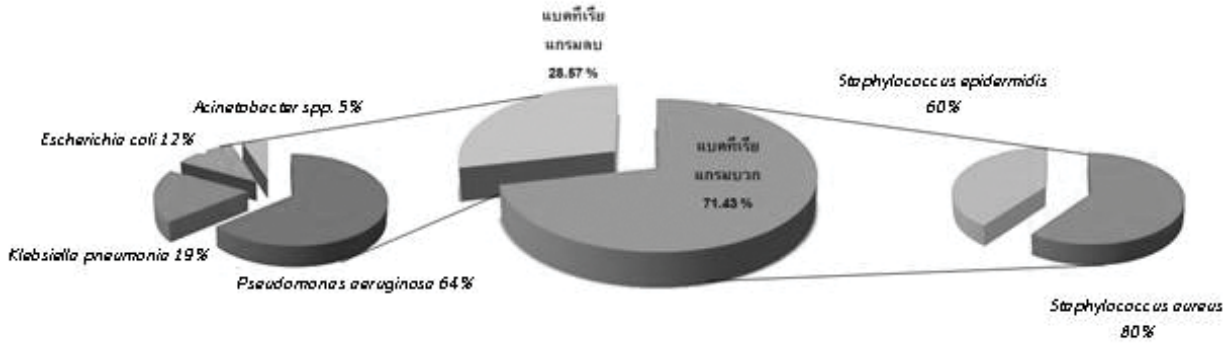
■ ผลการศึกษา

จากการเก็บตัวอย่างด้วยวิธี spot test และนำมาเลี้ยงเชื้อพบว่า มีการเติบโตของเชื้อจุลชีพจำนวน 1,608 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 85 ของตัวอย่างทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 1



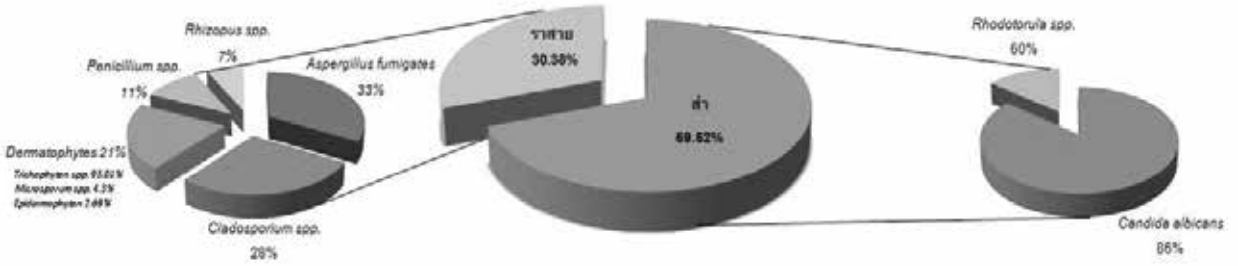
รูปที่ 1 แสดงผลของการเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างที่สุ่มเก็บมาจากคลินิกผิวหนัง

เมื่อนำตัวอย่างเชื้อที่เก็บมาตรวจสอบเพื่อแยกชนิดของเชื้อ พบว่า มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพโดยพบแบคทีเรียทั้งแกรมบวก และแกรมลบจำนวน 338 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21 โดยจำแนกได้เป็น แบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 241 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 71.43 ได้แก่ *Staphylococcus aureus* จำนวน 145 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 60 และ *Staphylococcus epidermidis* จำนวน 96 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40 และแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 97 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28.57 ได้แก่ *Escherichia coli* จำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12 *Klebsiella pneumonia* จำนวน 18 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19 *Psudomanas aeruginosa* จำนวน 62 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 64 และ *Acinetobacter spp.* จำนวน 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 5 ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงประเภทและชนิดของเชื้อจุลชีพจำพวกแบคทีเรียที่ได้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในคลินิกผิวหนังช่วงฤดูฝน

นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพจำพวกเห็ดรา ทั้งส่าและราสายจำนวน 1,270 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 79 โดยจำแนกได้เป็นส่าจำนวน 386 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 30.38 ได้แก่ *Candida albicans* จำนวน 332 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 86 และ *Rhodotorula spp.* จำนวน 54 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14 และราสายจำนวน 884 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 69.62 ได้แก่ *Aspergillus fumigates* จำนวน 292 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 33 *Penicillium spp.* จำนวน 97 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 11 *Cladosporium spp.* จำนวน 247 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28 *Rhizopus spp.* จำนวน 62 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7 และ *Dermatophytes* จำนวน 186 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21 ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงประเภทและชนิดของเชื้อจุลชีพจำพวกเห็ดราที่ได้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในคลินิกผิวหนังช่วงฤดูฝน

■ อภิปรายผล

การศึกษาทดลองในครั้งนี้เป็นการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในคลินิกผิวหนังในฤดูฝนโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างเชื้อจุลชีพจากจุดต่างๆ ของคลินิกผิวหนัง ผลการศึกษาพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและจุลชีพกลุ่มเห็ดรา ซึ่งในกลุ่มของแบคทีเรียพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhalla (2004) และคณะ ซึ่งทำการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพหลังจากสัมผัสสิ่งแวดล้อมบริเวณโรงพยาบาล พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus*[21] และงานวิจัยของ Rasheed และ Awole (2006) ทำการศึกษาการติดเชื้อในโรงพยาบาล พบว่า *Staphylococcus epidermidis* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีการติดต่อในโรงพยาบาล และหากมีการปนเปื้อนในอุปกรณ์ที่ต้องสอดใส่เข้าร่างกายของผู้ที่มีความบกพร่องทางระบบภูมิคุ้มกัน จะทำให้มีความเสี่ยงสูงในการติดเชื้อรุนแรง เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในท่อทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น[22] โดยเชื้อทั้ง 2 ชนิดที่พบจัดเป็นเชื้อประจำถิ่นของร่างกายมนุษย์ที่พบได้บริเวณผิวหนัง แต่ในกรณีที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน เชื้อประจำถิ่นเหล่านี้จะสามารถก่อโรคที่มีความรุนแรงและอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาร่วมด้วย[8-9,22] ซึ่งเชื้อประจำถิ่นบริเวณผิวหนังสามารถแพร่กระจายได้จากการสัมผัส[8-9] นอกจากนั้นในส่วนของแบคทีเรียแกรมลบ พบการปนเปื้อนของ *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Psudomanas aeruginosa* และ *Acinetobacter spp.* และเชื้อจุลชีพก่อโรคจำพวกเห็ดรา ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็นส่า ได้แก่ *Candida albicans* และ *Rhodotorula spp.* และราสาย ได้แก่ *Aspergillus fumigates, Penicillium spp., Cladosporium spp., Rhizopus spp.* และ *Dermatophytes* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Julian (2009) พบว่าการเปลี่ยนแปลงของความชื้นมีความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อรา ซึ่งเชื้อบางชนิดสามารถแพร่กระจายโดยผ่านทางอากาศโดยการไอ จาม ซึ่งสามารถติดต่อได้ง่ายและเป็นปัญหาสำคัญในโรงพยาบาล[1-2,5,23] มากไปกว่านั้นการแคะ แกะ เกา ของผู้ที่มีการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง สามารถแพร่กระจายเชื้อจุลชีพก่อโรคและอาจทำให้อัตราการติดเชื้อเพิ่มในผู้ป่วยที่มารับบริการรักษา รวมไปถึงการแคะ แกะ เกา ของผู้รับบริการอาจทำให้เกิดรอยถลอก หรือแผลเปิด ซึ่งอาจทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อจากสิ่งแวดล้อมในคลินิกผิวหนังได้[24]

จากผลการศึกษาทดลองที่ได้ในครั้งนี้อาจนำไปสู่การควบคุม ลดการแพร่กระจาย และป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพในคลินิกผิวหนังในฤดูฝนที่ดี กล่าวคือ การทำความสะอาดเพื่อการลดการปนเปื้อนของจุลชีพก่อโรคและลดอัตราการเกิดการติดเชื้อจุลชีพเพิ่มในผู้รับบริการ โดยควรคำนึงถึงความถี่ และสารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด อีกทั้งผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปเป็นฐานข้อมูลทางระบาดวิทยาเพื่อเป็นประโยชน์ในการสืบค้นประวัติการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อสูง เช่น ผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ป่วยแผลเรื้อรัง เป็นต้น และสามารถพัฒนาศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับอัตราการเพิ่มขึ้นของการติดเชื้อจุลชีพก่อโรค เปรียบเทียบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรคในฤดูฝนกับฤดูกาลอื่นและในคลินิกอื่นๆ ต่อไป

ผลการศึกษานี้อาจไม่สามารถเป็นตัวแทนที่แสดงถึงเชื้อจุลชีพที่ปนเปื้อนในทุกคลินิกผิวหนังเนื่องจากความแตกต่างของการทำความสะอาด และระบบการจัดการผู้รับบริการของแต่ละโรงพยาบาล

สรุปผล

ในฤดูฝนพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรค ในคลินิกผิวหนังในฤดูฝนพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลชีพก่อโรค ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ และเชื้อจุลชีพกลุ่มเห็ดราซึ่งประกอบไปด้วยส่า และราสาย โดยพบการปนเปื้อนของราสายมากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์นัฏฐเนศวร์ ลับเลิศลบ ที่ปรึกษาในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณคลินิกโรคผิวหนังและห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาและราวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยาและอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนบางส่วนจาก Dean's research fund 2012 และ Trop. Med. 2013

เอกสารอ้างอิง

1. Sherwood SC, Ingram W, Tsushima Y, et al. Relative humidity changes in a warmer climate. Journal of Geophysical Research: Atmospheres 2010;115.
2. Willett KM. Creation and analysis of HadCRUH: a new global surface humidity dataset [dissertation]. United Kingdom: University of East Anglia; 2007.
3. Jones AM, Harrison RM. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations-a review. Total Environ 2004;326(1):151-80.
4. Heo KJ, Kim HB, Lee BU. Concentration of environmental fungal and bacterial bioaerosols during the monsoon season. Aerosol Sci 2014;77:31-7.
5. Baumgardner DJ. Soil-related bacterial and fungal infections. J Am Board Fam Pract 2012;25(5):734-44.
6. Patz J, Githeko A, McCarty J, editors. Climate change and infectious diseases. Climate change and human health risks and responses. Geneva: World Health Organization; 2003.
7. Schroeder ED, Stallard WM, Thompson DE, et. al. Management of pathogen associated with storm drain discharge: result of investigation of the pr4esence of human pathogen in urban storm drains;May 2002;University of California. Davis:University of California; 2002. p.1-46.
8. Marples MJ. The normal flora of the human skin. Br J Dermatol 1969;81(1):2-13.
9. McFarland LV. Normal flora: diversity and functions. Micro Ecolo Health Disease 2000;12(4):193-207.

10. Das S, Sharma S, Kar S, et al. Is inclusion of sabouraud dextrose agar essential for the laboratory diagnosis of fungal keratitis? Indian J Ophthalmol 2010;58(4):281.
11. Balows A, Hausler JW, Herrmann K, editors. Manual of clinical microbiology. Washington: American Society for Microbiology;1991.
12. Merz W, Sandford G, Evans G. Clinical evaluation of the addition of gentamicin to commercially prepared mycological media. J Clin Microbiol 1976;3(5):496-500.
13. Shin JH, Ranken R, Sefers SE, et al. Detection, identification, and distribution of fungi in bronchoalveolar lavage specimens by use of multilocus PCR coupled with electrospray ionization/mass spectrometry. J Clin Microbiol 2013;51(1):136-41.
14. Albert M, Friedrich J, Adhikari N, et al. Utility of Gram stain in the clinical management of suspected ventilator-associated pneumonia:secondary analysis of a multicenter randomized trial. J Crit Care 2008;23(1):74-81.
15. Beveridge TJ. Use of the Gram stain in microbiology. Biotech Histoche 2001;76(3):111-8.
16. Mac JF. Biochemical tests for identification of medical bacteria. J Clin Pathol 1976;34(5):572.
17. Janda JM, Abbott SL. Bacterial identification for publication: when is enough enough? J Clin Microbiol 2002;40(6):1887-91.
18. Thomas PA, Kuriakose T, Kirupashanker MP, et al. Use of lactophenol cotton blue mounts of corneal scrapings as an aid to the diagnosis of mycotic keratitis. Diagn Microbiol Infect Dis 1991;14(3):219-24.
19. Leck A. Preparation of lactophenol cotton blue slide mounts. Community Eye Health Journal 1999;12(30):24.
20. Ellis D, Davis S, Alexiou H, et al. Description of medical fungi. 2nd. Australia: University of Adelaide;2007.
21. Bhalla A, Pultz NJ, Gries DM, et al. Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25(2):164-7.
22. Rasheed M, Awole M. Staphylococcus epidermidis: a commensal emerging as a pathogen with increasing clinical significance especially in nosocomial infections. Int J Microbiol 2007;3(2):1-7.
23. Zaza S, Blumberg HM, Beck-Sagué C, et al. Nosocomial transmission of mycobacterium tuberculosis: role of health care workers in outbreak propagation. J Infect Dis 1995;172(6):1542-9.
24. Ki V, Rotstein C. Bacterial skin and soft tissue infections in adults: a review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care. Can I Infect Dis Med Microbid 2008;19(2):173.