

Ispitivanje mikrobiološke kakvoće zraka u prostorijama Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije

Orešković, Orea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:011097>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA**

Orea Orešković

**ISPITIVANJE MIKROBIOLOŠKE KAKVOĆE ZRAKA U
PROSTORIJAMA NASTAVNOG ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO
PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE**

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

**SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA**

Orea Orešković

**ISPITIVANJE MIKROBIOLOŠKE KAKVOĆE ZRAKA U
PROSTORIJAMA NASTAVNOG ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO
PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE**

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: doc. dr. sc. Željko Linšak, dipl. sanit. ing

Komentor rada: dr. sc. Dolores Peruč, dr. med

Diplomski rad obranjen je dana 20.9.2022. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Sandra Pavičić Žeželj, dipl. sanit. ing.
2. doc. dr. sc. Dijana Tomić Linšak, dipl. sanit. ing.
3. doc. dr. sc. Željko Linšak, dipl. sanit. ing

Rad ima 43 stranice, 11 slika, 5 tablica, 48 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojem mentoru doc. dr. sc. Željku Linšaku, dipl. sanit. ing. i komentorici dr. sc. Dolores Peruč, dr. med na savjetima i pomoći tijekom pisanja diplomskog rada.

*Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na nesebičnoj i bezuvjetnoj podršci tijekom trajanja
mojeg studija.*

SAŽETAK

Zrak je važan fizikalno-ekološki faktor okoliša neophodan za život svih živih bića, te kao takav direktno utječe na zdravlje i kvalitetu života. S obzirom da je većina onečišćenja zraka antropogena podrijetla, kvaliteta zraka prvenstveno ovisi o čovjeku koji ga je dužan zaštititi. Iako postoje različite vrste onečišćenja, u ovom istraživanju ispituje se mikrobiološka kvaliteta zraka. Tako je u ovom radu ispitana mikrobiološka kvaliteta zraka u zatvorenim laboratorijskim prostorijama Mikrobiološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Uzorkovanje zraka je provedeno u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, te na šalteru Mikrobiološkog odjela u prizemlju ustanove. U Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija provedena je i dezinfekcija nakon uzorkovanja zraka, nakon čega se zrak ponovno uzorkovao kako bi se utvrdila njezina uspješnost. Zrak je uzorkovan 28. travnja 2022. godine u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, te 29. travnja 2022. godine na šalteru Mikrobiološkog odjela. Zrak se uzorkovao uređajem MAS-100, a za dezinfekciju se koristio uređaj SpeedyCare UV. Za potrebe istraživanja korištene su 4 različite hranjive podloge: TSA agar, UriSelect agar, kromogeni agar, te Sabouraud agar. Nakon što su porasle kolonije, one su prebrojane, te je nakon toga uslijedila daljnja identifikacija mikroorganizama. Rezultati istraživanja su pokazali kako je manji broj mikroorganizama prisutno u prostorijama Laboratorija za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija u odnosu na šalter Mikrobiološkog odjela. Također, gotovo sve bakterijske vrste koje su identificirane ne predstavljaju opasnost po zdravlje čovjeka s obzirom da je većina njih normalno prisutna na epitelu kože ili sluznici nosa. Dezinfekcijom zraka smanjio se broj bakterijskih kolonija u prostoriji, što je potvrdilo učinkovitost uređaja za dezinfekciju, ali nije utjecao na smanjenje broja kvasaca i plijesni što je ukazalo na to da uređaj za dezinfekciju nije sredstvo namijenjeno za suzbijanje te vrste mikroorganizama.

Ključne riječi: uzorkovanje zraka, mikroorganizmi, dezinfekcija

SUMMARY

Air is an important physical-ecological environmental factor necessary for the life of all living beings, and as such, it directly affects health and quality of life. Given that the majority of air pollution is of anthropogenic origin, air quality primarily depends on man, who is obliged to protect it. Although there are different types of pollution, this research examines the microbiological quality of the air. In this research it was examined the microbiological quality of the air in closed laboratory rooms of the Microbiology Department of the Teaching Institute of Public Health of Primorje-Gorski Kotar County. Air sampling was carried out in the Laboratory for the diagnosis of respiratory and systemic infections, and at the counter of the Microbiology Department on the ground floor of the institution. In the Laboratory for the diagnosis of respiratory and systemic infections, disinfection was carried out after air sampling, after which the air was re-sampled to determine its success. The air was sampled on April 28, 2022 in the Laboratory for Diagnostics of Respiratory and Systemic Infections, and on April 29, 2022 at the counter of the Microbiology Department. The air was sampled with the MAS-100 device, and the SpeedyCare UV device was used for disinfection. For research purposes, 4 different nutrient media were used: TSA agar, UriSelect agar, chromogenic agar, and Sabouraud agar. After the colonies had grown, they were counted, followed by further identification of the microorganisms. The results of the research showed that a smaller number of microorganisms are present in the premises of the Laboratory for the diagnosis of respiratory and systemic infections compared to the counter of the Microbiology Department. Also, almost all bacterial species that have been identified do not pose a threat to human health, considering that most of them are normally present on the epithelium of the skin or the mucous membrane of the nose. Disinfection of the air reduced the number of bacterial colonies in the room, which confirmed the effectiveness of the disinfection device, but did not affect the reduction of the number of yeasts and molds, which indicated that the disinfection device is not a means intended to suppress this type of microorganisms.

Key words: air sampling, microorganisms, disinfection

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Izvori onečišćenja zraka	1
1.2. Uvod u mikrobiologiju zraka	2
1.3. Kvaliteta zraka u zatvorenim prostorijama zdravstvenih ustanova	3
1.4. Bioaerosol i mikrobiološki zagađivači	4
1.5. Postupci uzorkovanja zraka	5
1.5.1. Pasivno praćenje zraka	5
1.5.2. Aktivno uzorkovanje zraka	5
1.6. Bakterije u zatvorenim prostorima	7
1.6.1. <i>Staphylococcus spp.</i>	8
1.6.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
1.6.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
1.6.4. <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	9
1.6.5. <i>Streptococcus spp.</i>	9
1.6.6. <i>Micrococcus spp.</i>	10
1.6.7. <i>Corynebacterium spp.</i>	11
1.6.8. <i>Bacillus spp.</i>	11
1.6.9. <i>Serratia spp.</i>	12
1.7. Gljive u zatvorenim prostorima	12
1.7.1. <i>Aspergillus spp.</i>	13
1.7.2. <i>Cladosporium spp.</i>	13
1.7.3. <i>Penicillium spp.</i>	14
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	15
3. MATERIJALI I METODE	16
3.1. Materijali	16
3.1.1. Hranjive podloge	16
3.1.2. MAS-100 uređaj	18
3.1.3. SpeedyCare UV	19
3.1.4. Ostali materijali	20
3.2. Metode	21

3.2.1. Uzorkovanje zraka	21
3.2.2. Dezinfekcija uređajem SpeedyCare UV	21
3.2.3. Određivanje vrste i broja poraslih mikroorganizama	21
3.2.4. Bojanje po Gramu	22
3.2.5. Oksidaza test.....	22
3.2.6. Katalaza test.....	22
3.2.7. Koagulaza test.....	23
3.2.8. Biokemijski niz	23
4. REZULTATI	25
5. RASPRAVA	30
6. ZAKLJUČAK	34
7. LITERATURA.....	35
POPIS SLIKA	40
POPIS TABLICA.....	41
POPIS KORIŠTENIH SKRAĆENICA	42
ŽIVOTOPIS	43

1. UVOD

1.1. Izvori onečišćenja zraka

Onečišćenje zraka podrazumijeva prisutnost jedne, odnosno više tvari u zraku, uključujući aerosole, plinove i pare sa značajkama, te koncentracijama koje su štetne za zdravlje čovjeka i drugih živih bića. Velika važnost danas se pridonosi zraku, odnosno njegovoj kvaliteti i čimbenicima koji štetno djeluju na njegovu kvalitetu. Razlog tomu je što se sve više potiče svijest ljudi o važnosti kvalitete zraka kako za čovjeka, tako i za cjelokupan živi svijet. To je doprinijelo smanjenju emisija nekih onečišćivača u posljednjih nekoliko desetljeća, ali većina koncentracija onečišćivača i dalje je ostala previsoka. Iz toga razloga, važnost treba pridodati edukaciji ljudi o tome koliko je veliki utjecaj čovjeka na okoliš, ali i zraka kao njegovu sastavnu komponentu. (1)

Za većinu onečišćenja zraka odgovoran je čovjek, odnosno onečišćenja nastaju antropogenim djelovanjem. Osim antropogenog djelovanja ona mogu biti i prirodnog podrijetla. Najvažniji izvori onečišćenja smatraju se urbani gradovi, osobito oni s razvijenom industrijom. Također, najveći izvori onečišćenja su promet i domaćinstva, odnosno fosilna goriva koja se koriste i šire zrakom. Za čovjeka najveću prijetnju predstavljaju ozon, lebdeće čestice i dušikov dioksid koji uvelike mogu štetno djelovati na zdravlje pojedinca. Ovisno o samom vremenu izloženosti i koncentraciji onečišćivala, oni mogu uzrokovati respiratorne smetnje u čovjeka ali i njegovu smrt. Mnoge studije su dokazale vezu između onečišćenja zraka i učinaka na zdravlje čovjeka. (2) Povećanje onečišćenja zraka povezano je sa smanjenom funkcijom pluća i povećanim rizikom od infarkta. Također, dokazano je da imaju i direktan učinak na osobe s astmom i drugim plućnim bolestima, te bolestima srca. Već 2002. godine Svjetska zdravstvena organizacija (eng. World Health Organization - WHO) procijenila je da postoji gotovo 100000 smrtnih slučajeva godišnje uzrokovano dugotrajnom izloženosti onečišćenju zraka. (3) Razlikujemo dvije vrste učinka onečišćivala na ljudsko zdravlje: akutni i kronični učinak. Akutni učinci nastaju kao posljedica naglog porasta koncentracije onečišćivala usred industrijskih incidenata, ali moguće je da nastanu i kao posljedica meteoroloških promjena. Kronični učinci posljedica su dugogodišnjeg izlaganja čovjeka manjoj koncentraciji onečišćivala. (4)

Udisanjem lebdećih čestica različitih promjera (PM_{10} i $PM_{2.5}$) stvara se velika opasnost po čovjeka iz razloga što one dopiru duboko u respiratorni sustav čovjeka, te imaju mogućnost vezanja štetnih tvari koje su dokazani kancerogeni. Najčešće potječu iz industrijskih postrojenja, elektrana i spalionica. Ozon nastaje fotokemijskim reakcijama uz prisutnost sunčeve svjetlosti koja djeluje na emisiju dušikovog oksida i ostalih hlapljivih organskih spojeva. Za osobe s bolestima krvožilnog sustava i dišnog sustava, kao što je astma, izloženost povećanoj razini ozona može uzrokovati veliku štetu, čak i smrt. (5) Udisanje dušikovog dioksida najčešće je posljedica izgaranja fosilnih goriva. Osobito nagrizava sluznicu očiju i nosa, te često nepovoljno djeluje i na kožu, a uzrokuje i nepovoljan učinak na pluća i bronhije. (6)

Sastavni dio zraka predstavlja i njegova mikrobiološka komponenta. Mikrobiološka komponenta također doprinosi čovjekovom zdravlju, te je potrebno kontrolirati mikroorganizme koji predstavljaju potencijalnu opasnost po čovjeka. Tako je najčešći izvor ove vrste onečišćivala zraka upravo čovjek, te životinje koje zajedno s čovjekom čine glavno sredstvo širenja mikroorganizama zrakom.

1.2. Uvod u mikrobiologiju zraka

Zrak predstavlja važan fizikalno-ekološki čimbenik kako za čovjeka tako i za sve žive organizme. Neophodan je za život te je vrlo važno održavati njegovu kvalitetu. U slučaju njegova onečišćenja, udisanje čestica zraka može uzrokovati opasne bolesti u čovjeka. Izvori onečišćenja zraka tako mogu biti prirodni i umjetni. U prirodne izvore onečišćenog zraka spadaju mikroorganizmi, aeroalergeni, vulkanski pepeo. Ranije spomenuti umjetni izvori onečišćenja uzrokovana su radom industrijskih postrojenja, transportnih sredstava i spaljivanjem otpada. Zrak tako može biti onečišćen različitim aerosolima, lebdećim česticama, metalima i biološkim materijalima.

Urbanizam i današnji način života ostavljaju brojne posljedice na ljudske živote. Osim užurbanog načina života, urbanizam sa sobom donosi i sve češći boravak ljudi u zatvorenim prostorima. Ljudi u zatvorenom prostoru provode većinu svojega vremena, a prema nekim istraživanjima to čine u 90% vremena. (7) Od rane dobi djeca sve više vremena provode u svojim domovima, na mobitelima, tabletima i laptopima. Odrasli većinu vremena provode u svom domu ili u uredima na

poslu. Osim negativnih posljedica na fizičko i psihičko zdravlje uzrokovano današnjim stilom života, čovjek koji većinu vremena provodi u zatvorenim prostorijama ima povećani rizik od zaraze mikroorganizmima koji se mogu naći u zraku. S obzirom da je čovjek prirodno stanište određenih bakterija, brojni mikroorganizmi se tako mogu prenijeti s čovjeka na čovjeka boravkom u zatvorenim prostorijama iz razloga što se brojni mikroorganizmi prenose udisanjem, preko kože ali i kontaktom kontaminiranih predmeta. Zatvorene prostorije tako predstavljaju idealne uvjete za njihovo širenje i razmnožavanje. Razlog tomu je vlažnost prostora i temperature pogodne za njihov razvoj. Upravo zbog toga stručnjaci često preporučuju učestalo provjetravanje prostorija kako bi se smanjio rizik od širenja bolesti uzrokovanih mikroorganizmima. (8)

Brojnost mikroorganizama u nekom prostoru ovisiti će o nizu čimbenika. Najvažniji čimbenici su adekvatno čišćenje prostorija, kao i kontinuirano provođenje higijenskih mjera. Za određivanje mikrobiološke kakvoće zraka danas se najčešće primjenjuju automatizirani uzorkivači zraka s kojima se provode uzorkovanja na mjestima na kojima se očekuju odstupanja od zadovoljavajućih granica mikrobiološke kvalitete.

1.3. Kvaliteta zraka u zatvorenim prostorijama zdravstvenih ustanova

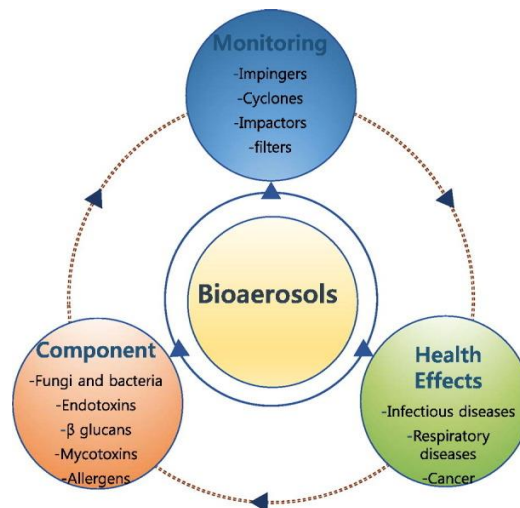
Zdravstvene ustanove su same po sebi vrlo frekventne. Osim što čine veliki radni kolektiv ljudi, posjećuju ih i veliki broj pacijenata. S obzirom da se u prostorijama ustanova izmjenjuju različite skupine ljudi, predstavljaju rizične prostore za širenje velikog broja mikroorganizama. Iako su svi ljudi ugroženi, posebnu opasnost ti mikroorganizmi predstavljaju za imunokompromitirane osobe koje u velikom broju posjećuju zdravstvene ustanove. (9) Moderni tehnološki sustavi, koji uključuju grijanje i hlađenje, i korištenje klimatizacijskih sustava mogu značajno utjecati na kvalitetu zraka u zatvorenom prostoru iz razloga što omogućuju zadržavanje brojnih mikroorganizama i plijesni u tim sustavima zbog uvjeta idealnih za njihovo preživljavanje. Širenje mikroorganizama nije moguće u potpunosti zaustaviti, ali je potrebno svesti ga na najmanju moguću razinu. Kako bi se izbjeglo širenje mikroorganizama i zaštitilo zdravlje ljudi, u najvećoj mogućoj mjeri potrebno je provoditi adekvatne mjere čišćenja, provjetravanja, dezinfekcije prostorija ali i održavati sve tehnološke sustave unutar ustanova. (10)

1.4. Bioaerosol i mikrobiološki zagađivači

Zrak koji ljudi udišu obilno je naseljen mikroorganizmima koji tvore tzv. bioaerosol. Bioaerosol je koloidna suspenzija, formirana od tekućih kapljica i čestica čvrste tvari u zraku čije komponente sadrže mikroorganizme kao što su bakterije, gljive, virusi, spore bakterija i gljivica, mikrobnii fragmenti, pelud... Prisutni su u atmosferi koja je važna za njihov transport i raspršivanje. Bakterije se tako najduže zadržavaju u atmosferi, te se mogu prenositi na velike udaljenosti. Prema postojećim studijima one su dominantni mikroorganizam u zraku, a u zraku mogu biti suspendirane kao pojedinačne stanice, no s obzirom da imaju mogućnost vezanja za druge tvari, vjerojatnije je da će biti pričvršćene za druge čestice, kao što je tlo. (11)

Bioaerosoli u zatvorenom prostoru mogu nastati mehaničkom i ljudskom aktivnošću. Izvori visoke koncentracije mikrobnih aerosola je i industrija. Također, sustavi grijanja, ventilacije i klimatizacije, uređaji za raspršivanje vode i čišćenje, rezultiraju transportom mikrobnih materijala u zraku. Razgovor i kašalj stvaraju bioaerosol kod pojedinaca, od kojih neki mogu biti zarazni. Ustanove s liječničkim i stomatološkim ordinacijama ili ustanovama za njegu životinja mogu stvarati infektivne mikrobne aerosole.

Izloženost ovim agensima može uzrokovati zarazne bolesti, alergijske bolesti, akutne toksične učinke, respiratorne bolesti, neurološke učinke, a moguće i rak.



Slika 1. Monitoring, sastav i utjecaj na zdravlje bioaerosola (12)

1.5. Postupci uzorkovanja zraka

Dva glavna načina praćenja mikrobiološke kakvoće zraka su pasivno praćenje i aktivno uzorkovanje. Aktivne metode uzorkovanja danas su bitan alat za praćenje okoliša.

1.5.1. Pasivno praćenje zraka

Pasivno praćenje provodi se korištenjem standardnih Petrijevih zdjelica. One sadrže odgovarajuće, uglavnom neselektivne podloge za kulture koje se otvaraju i izlažu na određeno vrijeme, nakon čega slijedi njihova inkubacija. Za vrijeme inkubacije razvijaju se vidljive kolonije koje se nakon određenog vremena prebrojavaju. Ploče su vrlo ograničene u svojoj primjeni jer se pomoću njih mogu pratiti samo održive biološke čestice koje se talože iz zraka i talože na površini tijekom vremena izlaganja. Ne služe za otkrivanje manjih čestica ili kapljica suspendiranih u zraku, te ne mogu uzorkovati specifičnu količinu zraka, tako da rezultati nisu kvantitativni. Vrlo su osjetljive na kontaminacije iz izvora koje se ne prenosi zrakom. Ploče za taloženje mogu lako zarasti u jako kontaminiranim uvjetima, a tumačenje podataka koje one proizvode može biti teško. Ova metoda ne zahtjeva gotovo nikakvu opremu, jeftina je i jednostavna što je njena glavna prednost. Korisna je za kvalitativnu analizu mikroorganizama u zraku, a informacije koje pruža mogu biti rano upozorenje na probleme mikrobiološke kvalitete zraka u prostoru. (13)

1.5.2. Aktivno uzorkovanje zraka

Za aktivno uzorkovanje zraka koristi se mikrobiološki uzorkivač zraka kako bi se fizički uvukao poznati volumen zraka preko uređaja za sakupljanje čestica ili kroz njega, a postoje dvije glavne vrste: impingeri i impaktori.

1.5.2.1. Impingeri

Impingeri koriste tekući medij za sakupljanje čestica. Naime, usisnom pumpom se usisava uzorkovani zrak kroz vrlo usku ulaznu cijev u malu tikvicu u kojoj se nalazi medij za sakupljanje. U trenutku kada zrak udari u površinu tekućine, dolazi do njegovog naglog mijenjanja smjera i sve suspendirane čestice upadaju u sabirnu tekućinu. Nakon završetka uzorkovanja, tekućina za prikupljanje se kultivira kako bi se namnožili mikroorganizmi. Budući da se volumen uzorka može izračunati korištenjem brzine protoka i vremena uzorkovanja, rezultat je kvantitativan. (14)

Nedostatak uređaja je svakako što je staklen, a sam udar zraka u tekućinu može oštetiti mikrobnе stanice. Također, predugo vrijeme uzorkovanja može dopustiti nekim stanicama da se umnože u tekućem mediju za prikupljanje. Međutim, tekući medij za sakupljanje omogućuje analizu uzorka različitim metodama, uključujući i molekularne tehnike kao što je PCR. (13,15)



Slika 2. Stakleni impinger (16)

1.5.2.2. Impaktori

Impaktorski uzorkivači koriste čvrsti ili ljepljivi medij, kao što je agar za sakupljanje čestica i mnogo se češće koriste u komercijalnim primjenama od impingera iz razloga što su praktičniji. Tipični uzorkivač udarnog tipa zrak uvlači u glavu za uzorkovanje pomoću pumpe, te je ubrzan obično kroz perforiranu ploču ili uski prorez. To stvara laminarni protok zraka na površini za sakupljanje, standardnu agar ploču, odnosno kontaktnu ploču ispunjenu prikladnim agar medijem. Brzina zraka određena je promjerom rupa perforiranih ploča i širinom proreza u proreznim uzorcima. Kada zrak udari u sabirnu površinu, dolazi do tangencijalne promjene smjera i sve suspendirane čestice se inercijom izbacuju van, udarajući o površinu za sakupljanje. Kada kroz glavu za uzorkovanje prođe točan volumen zraka, agar ploča se može ukloniti i inkubirati izravno bez daljnje obrade. Nakon inkubacije, prebrojavanje broja vidljivih kolonija daje izravnu kvantitativnu procjenu broja jedinica koje stvaraju kolonije u uzorkovanom zraku. (17)

Impaktor uzorkivači vrlo su praktični i omogućuju korištenje prethodno izlivenih, gama ozračenih kontaktnih ploča i Petrijevih zdjelica specijaliziranih dobavljača koje omogućuju smanjen rizik od

kontaminacija i varijacija. U stanju su podnijeti veće brzine protoka i velike količine uzoraka nužnih za praćenje kakvoće zraka u čistim prostorijama gdje je broj prisutnih mikroba uglavnom vrlo nizak. Nedostatak uređaja je što mikrobnе stanice mogu biti oštećene mehaničkim stresom tijekom procesa uzorkovanja i izgubiti vitalnost. (13)



Slika 3. Kaskadni impaktor (18)

1.5.2.3. Filteri

Najčešća alternativna metoda uzorkovanja zraka je filtracija. U ovoj metodi zrak se uvlači pumpom ili vakuumskom linijom kroz membranski filtar. Najčešće se koriste filteri od polikarbonata ili acetat celuloze. Filtracija je manje prikladna metoda od uzorkovanja temeljenog na udaru iz razloga što može uzrokovati dehidracijski stres u zarobljenim mikroorganizmima. (19)

1.6. Bakterije u zatvorenim prostorima

Najvažniji izvor bakterija u zatvorenom prostoru su ljudi. S obzirom da se koža stalno obnavlja, njezinim ljuštenjem bakterije se izbacuju u okoliš. Bakterije gornjeg respiratornog trakta eliminiraju se iz tijela kapljicama tijekom razgovora, kašljanjem ili kihanjem. Razina onečišćenja zraka će tako ovisiti o broju osoba u prostoriji i učinkovitosti ventilacijskog sustava. Bakterije koje

se najčešće identificiraju u zraku u zatvorenom prostoru su *Corynebacterium spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* i *Micrococcus spp.* (20)

1.6.1. *Staphylococcus spp.*

Stafilokoki su Gram-pozitivne bakterije koje tvore nepravilne nakupine koka. Odlikuje ih okrugli oblik, te se najčešće nalaze kao pojedinačne stanice, u parovima ili u grozdovima. Nepokretni su, ne stvaraju spore, te su otporni na visoke koncentracije soli i toplinu. (21) Naziv roda *Staphylococcus* izveden je od grčkih izraza staphyle i kokkos koji znače „grožđe”. Dobro rastu na brojnim podlogama, proizvodeći bijele ili žute pigmente. Do danas tako postoje 32 vrste i osam podvrsta u rodu *Staphylococcus*, međutim *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* su dva najkarakterističnija i najistraženija soja. Patogeni stafilokoki se obično prepoznaju po sposobnosti proizvodnje koagulaze. *S. aureus* je tako najpatogenija vrsta ovog roda. Za razliku od ostalih vrsta stafilokoka ona ima sposobnost proizvodnje koagulaze. Koagulaza negativni stafilokoki (CoNS), koloniziraju na čovjeku i dio su njegove normalne flore. Nisu jaki patogeni, te većinom uzrokuju bolesti samo u imunokompromitiranih osoba. Većina bakterija ovog roda je bezopasna i normalan stanovnik ljudske kože i mukoznih membrana. Najveći problem danas predstavljaju stafilokoki koji su razvili rezistenciju na antibiotike. Oni su često prisutni u zdravstvenim ustanovama, te čine veliku prijetnju u imunokompromitiranih osoba. (22)

1.6.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ili zlatni stafilokok prvi put je opisan i otkriven 1880.godine, a za to je zaslužan Alexander Ogston. Karakteristične kolonije *Staphylococcus aureus* izgledom su velike, glatke, povišene i zlatnožute boje. Žuta boja je rezultat stafiloksantina (karotenoid) koji proizvode bakterije, a on pokriva i štiti mikroorganizam od fagocitoze. Bakterija pripada skupini Gram-pozitivnih bakterija, sfernog je oblika, ne stvara spore, te je nepokretna. *Staphylococcus aureus* može kolonizirati ljudskog domaćina, te kao takav uzrokovati teške bolesti opasne po život. Ova bakterija ima mogućnost inficiranja velikog raspona tkiva domaćina, od kože do dubljih tkiva kao što su gastrointestinalni trakt, srce i kosti. Normalna koža, isto kao i mukozna membrana čine odlične barijere koje imaju sposobnost sprječavanja prodora patogena u tkiva. Ukoliko dođe do oštećenja tih barijera uslijed traume, *Staphylococcus aureus* ima sposobnost prodrijeti u tkivo te

tako izazvati infekciju. U zdravih osoba bakterija često uzrokuje manje infekcije kože i infekcije mekih tkiva kao što su impetigo, folikulitis ili kožni apscesi. Rjeđe, ali i teže infekcije uključuju piomiozitis, nekrotizirajući fasciitis i nekrotizirajuću upalu pluća. (23)

1.6.3. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis normalni je stanovnik ljudskog epitela i sluznice, te kao takav rijetko uzrokuje bolesti u imunokompetentnih osoba. Spada u koagulaza negativne stafilokoke. Poznato je da *S. epidermidis* ima sposobnost regulacije imunološkog sustava ljudske kože, ali i nosne šupljine jer ju može zaštititi od kolonizacije patogenih bakterija i respiratornih virusa. (24)

Uzročnik je bolničkih infekcija, i to infekcija povezanih s medicinskim uređajima. Posljedica toga je njegovo obilje na ljudskoj koži, te njegova sposobnost prijanjanja na površine umjetnih predmeta i stvaranje biofilma. Stvaranje biofilma, egzopolimeri i drugi mehanizmi štite *S. epidermidis* od antibiotika i obrane domaćina, a kao takav može biti opasan po život imunokompromitiranih osoba.

1.6.4. *Staphylococcus haemolyticus*

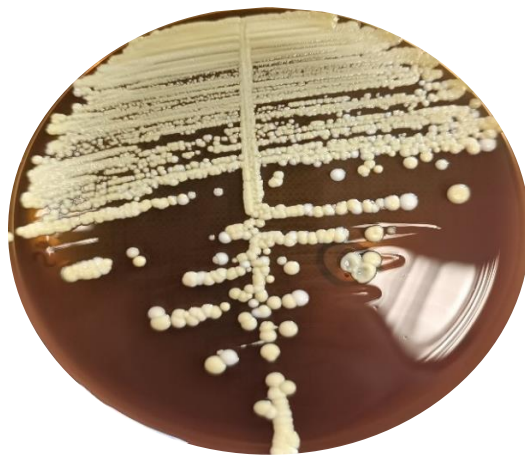
Staphylococcus haemolyticus je komenzal kože koji se danas sve češće počinje pojavljivati kao novonastali uzročnik bolničkih infekcija. Infekcije ovom bakterijom osobito utječu na imunokompromitirane bolesnike, te bakterija može uzrokovati infekciju krvotoka. Tako najčešće uzrokuje meningitis, bakterijemiju ili endokarditis. Među najrezistentnijim su CoNS-ima, pa je izbor antibiotske terapije u njih vrlo ograničen. (25)

1.6.5. *Streptococcus spp.*

Streptokoki su Gram-pozitivne bakterije raspoređene u lancima ili parovima. Dio su normalne mikroflore čovjeka i životinja, ali neki od njih su i ljudski patogeni. Tako je najvažniji ljudski patogen *Streptococcus pyogenes*, poznat i kao beta-hemolitički streptokok grupe A koji uzrokuje piogene infekcije. On može uzrokovati upalu ždrijela, srednjeg uha ili pluća, ali i infekcije kože, infekcije mišićno-koštanog tkiva, kao i limfnog sustava. Također, uzročnik je i reumatske groznice i akutnog glomerulonefritisa. (26)

1.6.6. *Micrococcus spp.*

Micrococcus spp. su Gram-pozitivni, oksidaza pozitivni, te strogo aerobni koki koji pripadaju obitelji *Micrococcaceae*. Uobičajeno su u nepravilnim nakupinama, tetradama i parovima, te su njihove pojedinačne stanice nepokretne, ne stvaraju spore i promjera su oko 1 do 1,8 μm . (27) *Micrococcus spp.* i njegovi srodni rodovi uglavnom se smatraju bezopasnim bakterijama koje nastanjuju kožu, sluznicu i orofarinks. Također, mogu biti i oportunistički patogeni za imunokompromitirane osobe. *Micrococcus luteus* se tako često spominje kao uzročnik bolesti u ljudi. Često ga se zamjenjuje s *S. aureusom*. Razlog je što ove dvije vrste dijele sličnu morfologiju kolonije, ali i vrlo sličnu žutu boju kolonije. Kako bi razlikovali jednu vrstu od druge, potrebno je provesti test na bacitracin. *M. luteus* neće porasti u prisutnosti bacitracina. *M. luteus* ima sposobnost da apsorbira UV zračenje, te njegovi pigmenti apsorbiraju dugovalno UV zračenje između 350-475 nanometara. (28)



Slika 4. Porast *Micrococcus spp.* na krvnom agaru

Izvor: Orea Orešković

1.6.7. *Corynebacterium spp.*

Rod *Corynebacterium* trenutno broji oko 129 vrsta i podvrsta izoliranih iz ljudi, sisavaca i okoliša. Neke vrste su dio normalne flore ljudi, te se tako najčešće nalaze na koži i u nosnicama. Gram-pozitivne su, aerobne, nepomične, štapićaste bakterije. Najpoznatija vrsta ovog roda smatra se *Corynebacterium diphtheriae* koja je uzročnik bolesti difterije. Neke vrste kao što su *C. pseudodiphtheriae* povezuju se s respiratornim bolestima, te nešto rjeđe s endokarditisom i infekcijama rana. *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis* i *C. xerosis* također mogu uzrokovati infekciju nazofarinksa i kože. (29)

1.6.8. *Bacillus spp.*

Rod *Bacillus* čine Gram-pozitivne bakterije koje stvaraju spore. Većina vrsta nije patogena te ne predstavlja opasnost po čovjeka. Zbog svojih endospora, vrlo je otporan na teške životne uvjete, osobito na visoke temperature. (30) Njegove spore mogu se reaktivirati nakon termičke obrade hrane, nakon koje se eliminira većina drugih mikroorganizama. *Bacillus anthracis* uzrokuje antraks. Ljudi od te bolesti najčešće obolijevaju izravno iz kontakta sa zaraženim biljojedima ili neizravno putem njihovih proizvoda. Tako postoji kožni antraks, crijevni antraks (uzrokuje ga konzumacija zaraženog mesa), te plućni antraks (uzrokuje ga udisanje prašine napunjene sporama). (31) *B. cereus* i u manjoj mjeri *B. subtilis* i *B. Licheniformis* povezuju se s bakteremijom, endokarditisom, infekcijama rana, ušiju, očiju, respiratornog trakta, mokraćnog sustava i gastrointestinalnog trakta. *Bacillus cereus* tako može uzrokovati dva sindroma trovanja hranom, a to su brzi emetički sindrom koji je karakteriziran mučninom i povraćanjem, te sindrom proljeva koji se manifestira sporije.



Slika 5. Porast *Bacillus spp.* na krvnom agaru

Izvor: Orea Orešković

1.6.9. *Serratia spp.*

Vrste *Serratia* obično su pokretljive i sadrže flagele. *S. liquefaciens* je Gram negativna bakterija ravnog štapića. Obično je promjera od 0,5 do 0,8 μm , te duljine od 0,9 do 2,0 μm . Fakultativni je anaerob, tako da može naseljavati i aerobna i anaerobna okruženja. Rasprostranjena je u tlu, vodi, biljkama, probavnom sustavu ljudi i životinja. Jedan su od uzročnika bolničkih infekcija. (32)

1.7. Gljive u zatvorenim prostorima

Gljive su prisutne u gotovom svim prostorijama, te ih je gotovo nemoguće ukloniti iz prostora. Najvažniji izvor gljivica je vanjski zrak. Njihov transport u zatvorene prostore odvija se unošenjem novih predmeta u prostorije, putem kućnih ljubimaca i ljudi. (33) Na čovjeku se mogu nalaziti na odjeći, obući, koži ili kosi. Također, moguće je da prodiru u zatvoreni prostor putem ventilacijskog sustava zgrade. Njihov rast potiče vlaga, te vrlo lagano rastu na vlažnim i mokrim površinama. Od ostalih faktora koji utječu na rast gljiva važno je napomenuti kako one ovise i o samom geografskom području, odnosno klimi, godišnjem dobu, lokaciji prostora. Održavanjem zgrade uporabom adekvatnog materijala pri izgradnji, održavanjem ispravnog ventilacijskog sustava i

održavanjem čistoće zgrade uvelike se smanjuju čimbenici koji utječu na porast kako svih mikroorganizama, tako i gljiva.

Najčešće bolesti koje se povezuju uz gljive su one koje obuhvaćaju respiratorne smetnje. Uz to mogući su uzročnici alergijskih reakcija. Još jedna od opasnosti gljiva su i mikotoksini koje one proizvode. Mikotoksini su vrlo toksični i to u vrlo malim količinama. Različite vrste gljiva proizvode različite mikotoksine, dok neke vrste proizvode i nekoliko različitih. To su dokazano kancerogeni, mutageni i teratogeni metaboliti gljiva koji ometaju RNA sintezu i uzrokuju DNA oštećenja. Mikotoksikoze tako mogu izazvati oštećenje bubrežnog, jetrenog, krvožilnog kao i živčanog sustava. Najvažniji mikotoksini koji danas uzrokuju opasnost u čovjeka su aflatoksin, ohratoksin, citrinin, trihotecen i zearalenon. Osim na čovjeka gljive štetno djeluju i na zgrade, odnosno prostorije iz razloga što uništavaju njihove površine. (34)

U zatvorenim prostorima općenito postoji manja koncentracija gljivica nego u vanjskom zraku. Tako su najčešće gljivice *Cladosporium*, *Penicillium* i *Aspergillus*.

1.7.1. *Aspergillus spp.*

Aspergillus je plijesan koja uzrokuje aspergilozu. Riječ je o gljivi koja se jednako često može pronaći u zatvorenom i otvorenom prostoru, te je veliki broj ljudi svakodnevno udiše. Do danas je dokazano oko 180 vrsta *Aspergillus*, ali je poznato da manje od 40 njih uzrokuje infekcije kod ljudi. *Aspergillus fumigatus* je najčešći uzročnik infekcija *Aspergillusom* kod ljudi. Druge uobičajene vrste uključuju *A. flavus*, *A. terreus* i *A. niger*. Za ljude koji imaju zdravi imunološki sustav on je gotovo bezopasan. Međutim, problem može nastati kod ljudi s oslabljenim imunološkim sustavom pri udisanju njegovih spora. Udisanje spora tako može uzrokovati alergijske reakcije, infekcije pluća i infekcije drugih organa. (35)

1.7.2. *Cladosporium spp.*

Cladosporium je gljiva koja se može pronaći u zraku, tlu i vodi. Često se može pronaći u stambenim zgradama, javnim prostorima ali i u hrani. Njenom rastu pogoduju niže temperature i visoka vlažnost. (36) Nepovoljan utjecaj ima na biljke, te u njih može uzrokovati brojne bolesti. Tako uzrokuju crne točkice na žitaricama ali i smeđe mrlje na lišću rajčica. Kod ljudi

Cladosporium spp. uglavnom uzrokuje alergijske reakcije. Rijetko uzrokuje oportunističke infekcije, a kada ih uzrokuje najčešće se one odnose na osobe s hematološkim bolestima ili AIDS-om. Oportunističke infekcije ljudi uzrokovane gljivama *Cladosporium spp.* su uglavnom kromoblastomikoza i feohifomikoza. Kromoblastomikoza i feohifomikoza su kronične infekcije kože i potkožnog tkiva, te često napadaju poljoprivrednike. Prvi simptomi bolesti su male, ljuskave papule i nodule, a tijekom bolesti mogu nastati kronični ulkusi, prekriveni suhim krastama.

1.7.3. *Penicillium spp.*

Penicillium je poznata i jedna od najčešćih gljiva danas koja se javlja na različitim staništima. Pronalazimo ju u tlu, vegetaciji, u vanjskom zraku ali i u zatvorenim prostorima, te u prehrambenim proizvodima. Rasprostranjena je diljem svijeta i ima veliki ekonomski utjecaj na ljudski život. Njegova glavna funkcija u prirodi je razgradnja organskih materijala, a s obzirom na to neke vrste uzrokuju truljenje usjeva i tako stvaraju velike štete u poljoprivredi. (37) Također, neke od vrsta koriste se u prehrambenoj industriji, a najpoznatija je njegova uporaba u proizvodnji sireva. U osoba s oslabljenim imunitetom može uzrokovati peniciliozu. Bolest je okarakterizirana povišenom temperaturom i anemijom. Uzrokuje limfadenopatiju, te utječe na koštanu srž i jetru.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi broj i vrstu mikroorganizama u zatvorenim laboratorijskim prostorijama Mikrobiološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, te usporediti broj mikroorganizama prije i poslije provedbe dezinfekcije zraka.

3. MATERIJALI I METODE

Zrak se uzorkovao u zatvorenim laboratorijskim prostorijama Mikrobiološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Uzrokovanje se provelo u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, te na šalteru Mikrobiološkog odjela u prizemlju ustanove. Uzorci zraka uzeti su za vrijeme radnog vremena, te boravku zaposlenika na radnom mjestu. Mjerenja su provedena 28. travnja 2022. godine u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, te 29. travnja 2022. godine na šalteru Mikrobiološkog odjela u prizemlju ustanove. Nakon uzorkovanja zraka u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, provedena je dezinfekcija uređajem SpeedyCare UV.

3.1. Materijali

3.1.1. Hranjive podloge

3.1.1.1. Tryptic Soy Agar

Tryptic Soy Agar (Tryptoza sojin agar, TSA) je opće namijenjen neselektivni agar koji podržava rast većine Gram-negativnih i Gram-pozitivnih bakterija, kao i brojnih kvasaca, te plijesni. TSA agar danas se koristi u raznim ispitivanjima, uključujući ispitivanja okoliša i zraka, ali i u ispitivanjima hrane i kozmetike. Jedan je od najčešćih podloga kojima se koriste današnji mikrobiološki laboratoriji. Dopunjen defibriniranom životinjskom krvlju, TSA je namijenjen za izolaciju i uzgoj mikroorganizama iz kliničkih uzoraka i drugih materijala, te za određivanje hemolitičkih svojstava. TSA se priprema s kazeinom i sojinim peptonima, a tom kombinacijom kazeina i sojinih peptona medij postaje hranjivim zbog sadržaja organskog dušika u obliku aminokiselina i polipeptida. Natrijev klorid odgovoran je za održavanje osmotske ravnoteže. (38)

3.1.1.2. UriSelect agar

UriSelect je neselektivni kromogeni agar za izolaciju, diferencijaciju i prebrojavanje patogena urinarnog trakta. UriSelect omogućuje diferencijaciju i trenutnu identifikaciju *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.* i *Proteus mirabilis*, te drugih urinarnih patogena. UriSelect sastoji se od bogate nutritivne baze koja kombinira različite peptone i triptofan, kao i kromogenu mješavinu koja

omogućuju otkrivanje aktivnosti specifičnih enzima, čime se osigurava diferencijacija pojedinih vrsta ili određenih skupina organizama. (39)

3.1.1.3. Krvni agar

Krvni agar je neselektivan, čvrsti agar. Koristi se za rast velikog broja mikroorganizama. Diferencijalni medij je iz razloga što omogućuje razlikovanje tri različite vrste bakterija: alfa hemolitičke, beta hemolitičke i gama hemolitičke bakterije. Alfa hemolitičke bakterije imaju djelomičnu hemolizu crvenih krvnih stanica. Kao rezultat djelomične hemolize, oko kolonija nastaju sivkasto-zelena ili smeđa obojenja. Beta hemolitičke bakterije imaju potpunu hemolizu crvenih krvnih stanica zbog čega nastaje prozirna zona oko kolonije. (40) Gama hemolitičke bakterije predstavljaju odsutnost hemolize. Krvni agar čine bazni agar i 5% krvi. Bazni agar može biti obogaćen različitim nutrijentima. Peptoni, jetreni i kvašćevi ekstrakti dodaju se kao izvor ugljika, dušika, vitamina i elemenata u tragovima potrebnim za mikrobnog rast. Natrijev klorid dodaje se za održavanje osmotske ravnoteže. Dodatkom seruma ili drugih stvari krvni agar postaje pogodan za kultivaciju streptokoka, pneumokoka, meningokoka i *Haemophilus*.

3.1.1.4. Sabouraud dekstroza agar

Sabouraud dekstroza agar je neselektivan agar za izolaciju i kultivaciju kvasaca i plijesni. Koristi se i za detekciju *Candida albicans* u nesterilnim proizvodima. (41) U agar se dodaju peptoni i dekstroza, a konačni pH podloge je 5. Kazein i peptidi iz animalnog tkiva služe kao izvor dušika, ugljika i elemenata u tragovima koji omogućuju povoljne uvjete za mikrobnog rast. Nizak pH predstavlja uvjet povoljan za rast gljiva, a ima inhibicijsko djelovanje na rast bakterija, dok glukoza služi kao izvor energije .

3.1.2. MAS-100 uređaj

MAS-100 je uređaj koji služi za uzorkovanje zraka. Vrlo je precizan instrument čiji se rad temelji na principu Andersenovog uzorkivača. Zrak se tako uvlači kroz perforiranu glavu, nakon čega se određeni volumen zraka usmjerava na hranjivu podlogu Petrijeve zdjelice. Neposredno nakon uzorkovanja, Petrijeva zdjelica se inkubira na određenoj temperaturi. Nakon inkubacije slijedi prebrojavanje kolonija, te se rezultati iskazuju kao CFU/ m³.

Protok zraka mjeri se na ulazu, te sistem regulira protok na vrijednost od 250 litara po minuti. MAS-100 ima mogućnost automatizirane regulacije usisnog volumena ukoliko postoje vanjski čimbenici koji sprječavaju stabilan protok ili ukoliko prenapunjene Petrijeve zdjelice ometaju protok. Vrijeme uzorkovanja ograničeno je na 10 minuta kako ne bi došlo do dehidracije hranjive podloge. (42)



Slika 6. MAS-100 uređaj

Izvor: Orea Orešković

3.1.3. SpeedyCare UV

SpeedyCare UV je uređaj za dezinfekciju zraka koji emitira UV-C svjetlost kako bi suzbio rastuće bakterije, gljivice ili viruse. Omogućuje dezinfekciju površina i zraka na način da onemogućuje razmnožavanje mikroorganizama tako što uzrokuje fotokemijske promjene u nukleinskim kiselinama. Dizajniran je 2020. godine s namjerom da omogući sigurnu dezinfekciju prostorija. Ubija do 99,9% patogena, te je siguran za okoliš i ne stvara kancerogene nusproizvode. Za razliku od drugih metoda dezinfekcije, njegova primjena je jednostavna, brza i ne iziskuje velike troškove. (43)



Slika 7. SpeedyCare UV (44)

3.1.4. Ostali materijali

-Petrijeve zdjelice

-Eza

-Inkubator

-Alkohol za dezinfekciju

-Pokrovno stakalce

-Plamenik

-Otopine (kristalviolet, lugolova otopina)

-Alkohol aceton

-Bojilo (safranin)

-Svjetlosni mikroskop

-Filter papir

-Kapaljka

-Fiziološka otopina

-3% otopina vodikova peroksida

-TMPD (hidroklorid)

-Plazma

-Biokemijski niz trostruki Gram+ i Gram- bakterije

3.2. Metode

3.2.1. Uzorkovanje zraka

Uzorkovanje zraka provedeno je pomoću uređaja MAS-100. Uređaj za uzorkovanje odložen je na čvrstu podlogu, nakon čega je uslijedilo otvaranje perforirane glave uređaja. Petrijeva zdjelica stavljena je na vrh podloge, te se zatim uklonio njen poklopac i zatvorila glava uređaja. Izabrani volumen uzorkovanja zraka iznosio je 250 litara. Nakon skidanja zaštitnog poklopca, odabirom tipke „Yes“ u izborniku uređaja započelo je uzorkovanje zraka. Pojava crvene lampice označila je kraj uzorkovanja, te se na ekranu tada prikazala vrijednost u iznosu od 250 litara. Nakon završenog uzorkovanja, otvorila se glava uzorkivača, te su se Petrijeve zdjelice zatvorile i pripremile za inkubaciju. Postupak uzorkovanja ponovio se četiri puta prije, te četiri puta nakon dezinfekcije, koristeći Petrijeve zdjelice nasadene krvnim, TSA, UriSelect, te Sabouraud dekstroza agarom.

3.2.2. Dezinfekcija uređajem SpeedyCare UV

Nakon obavljenog uzorkovanja zraka u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, uslijedila je dezinfekcija prostorije uređajem SpeedyCare UV. Moderna tehnologija ovog uređaja koji posjeduje svoju vlastitu Wi-fi mrežu omogućila je njegovo povezivanje s mobilnim uređajem. Na mobilnom uređaju ručno se podesilo vrijeme trajanja dezinfekcije koje je iznosilo 8 minuta u skladu s veličinom prostorije koju je potrebno dezinficirati. Tijekom trajanja dezinfekcije bilo je zabranjeno otvarati vrata prostorije. Nakon završene dezinfekcije ponovno je provedeno uzorkovanje zraka prostorija kako bi se utvrdila uspješnost dezinfekcije. Na šalteru Mikrobiološkog odjela nije provedena dezinfekcija zbog velike frekvencije ljudi.

3.2.3. Određivanje vrste i broja poraslih mikroorganizama

U svrhu određivanja vrste i broja poraslih bakterija, korišteni su krvni, TSA i UriSelect agar. Nakon uzorkovanja zraka, uslijedila je inkubacija Petrijevih zdjelica. Porasle kolonije bakterija su zatim prebrojane, te su kolonije pikirane i nasadene na krvni agar u cilju identifikacije bakterijske vrste. Kako bi se odredio ukupan broj kvasaca i plijesni, korišten je Sabouraud agar.

3.2.4. Bojanje po Gramu

Bojanje po gramu najrašireniji je postupak bojenja u mikrobiologiji. Složena je i diferencijalna metoda koja omogućuje podjelu bakterija u dvije skupine, Gram pozitivnu skupinu i Gram negativnu skupinu. Gram pozitivne bakterije se od Gram negativnih bakterija razlikuju prema sastavu stanične stijenke. Gram pozitivne bakterije imaju gusti sloj peptidoglikana u svojoj staničnoj stijenci, dok Gram negativne sadrže tanak sloj peptidoglikana u svojoj staničnoj stijenci. Tako u procesu dekolorizacije, Gram pozitivne bakterije zadržavaju ljubičastu boju, dok ju Gram negativne ne zadržavaju. Ova metoda bojanja se sastoji od četiri koraka. U prvom koraku fiksirani preparat se boji otopinom kristal violeta. Zatim slijedi dodavanje otopine lugola koja omogućuje stvaranje kompleksa između kristal violeta i joda. Dodavanjem dekolorizatora, kao što je etilni alkohol, dehidrira se sloj peptidoglikana kako bi se on skupio i zategnuo. Ljubičasto-jodni kompleks ne može prodrijeti kroz zategnuti sloj peptidoglikana, te ostaje zarobljen u stanici u Gram pozitivnim bakterijama. Suprotno tome, degradirana vanjska membrana Gram negativnih bakterija ne može zadržati kompleks što se rezultira gubljenjem boje. Nakon toga slijedi dodavanje safranina koji omogućuje obojenje Gram negativnih bakterija u crveno, prilikom čega nema utjecaj na ljubičastu boju Gram pozitivnih bakterija. (45)

3.2.5. Oksidaza test

Test oksidaze u mikrobiologiji se koristi za ispitivanje prisutnosti enzima citokrom oksidaze u Gram negativnih bakterija koje proizvode taj enzim. Ukoliko je citokrom oksidaza prisutna, bezbojni TMPD stvara spoj tamno ljubičaste boje. Za provođenje testa oksidaze potreban je filter papir koji je potrebno namočiti TMPD reagensom, nakon čega se pikirana kolonija utrljava u filter papir. Kod oksidaza pozitivnih bakterija, reagens mijenja boju u ljubičastu, dok u oksidaza negativnih bakterija ne dolazi do promjene boje. (46)

3.2.6. Katalaza test

Enzim katalaza može se pronaći u gotovo svim aerobnim organizmima, te ona ima antioksidativnu funkciju. Uglavnom se nalazi u staničnim organelima peroksisomima. Ima mogućnost razgradnje vodikovog peroksida u vodu i kisik, te je neki organizmi proizvode kako bi se obranili od vodikovog peroksida. Test se izvodi tako što se uz pomoć eze pikira bakterijska kolonija, te se

nanese na predmetno stakalce. Na stakalce se zatim dodaje 3%-tna otopina H_2O_2 . Ukoliko nastanu mjehurići, znači da je mikroorganizam katalaza pozitivan, a ukoliko ne dođe do stvaranja mjehurića mikroorganizam je katalaza negativan. (46)

3.2.7. Koagulaza test

Koagulaza test omogućuje razlikovanje bakterije *Staphylococcus aureus* od ostalih stafilokoka iz razloga što je jedini klinički značajan stafilokok za čovjeka koji je koagulaza pozitivan. Koagulaza je enzim koji ima sposobnost pretvorbe fibrinogena u fibrin, te tako povećava otpornost i patogenost *Staphylococcus aureus-a*, te time oslabljuje odgovor čovjekova imunološkog sustava na tu vrstu mikroorganizma. U ovom istraživanju provela se vezana koagulaza. Vezana koagulaza provodi se na način da se na svaki kraj predmetnog stakalca nanosi kap fiziološke otopine, te se u njih utrljaju pikirane kolonije. Zatim slijedi dodavanje plazme u jednu od suspenzija, dok druga suspenzija služi kao kontrola. Ukoliko dođe do stvaranja zrnatih nakupina, test koagulaze je pozitivan. (46)

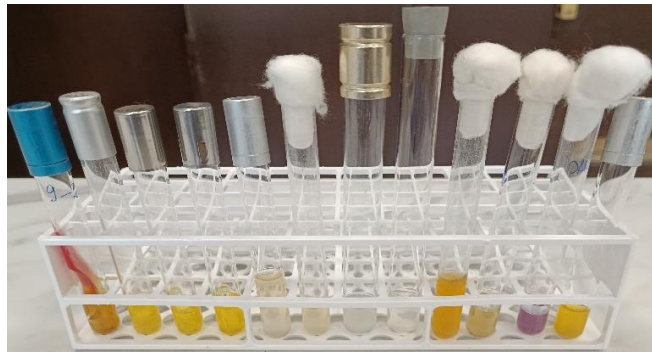
3.2.8. Biokemijski niz

Za potpunu identifikaciju bakterija potrebno je provesti biokemijski niz. Biokemijski niz čini niz epruveta s različitim reagensima u koje se pomoću eze nasađuju bakterijske kolonije. Nakon čega slijedi termostatiranje i očitavanje. Na temelju vizualnih promjena u epruvetama, određuje se da li je nastala promjena pozitivna ili negativna. Odabir reagensa koji će se koristiti u epruvetama, ovisiti će o tome dokazuju li se Gram pozitivne ili Gram negativne bakterije.

U ovom istraživanju za dokazivanje Gram negativnih bakterija primijenio se niz epruveta koje su služile za ispitivanja produkcije plina H_2S , odnos bakterije prema ugljikohidratima saharozi, manozi i laktozi, proizvodnji indola, iskorištavanje ureje, te citrata, ispitivanje pokretljivosti i rasta u prisutnosti KCN-a. Svaka pozitivna reakcija bodovala se već unaprijed određenim bodovima, nakon čega su se oni zbrojili, te je tako dobiven ukupan zbroj. Prema dobivenom zbroju, iz postojeće tablice identifikacije očitala se vrsta i rod bakterije.

Za dokazivanje Gram pozitivnih bakterija također se primijenio biokemijski niz, no u tom nizu korišteni su različiti reagensi u epruvetama. Niz se sastojao od epruveta u kojima se ispitivalo

postoji li pozitivan odgovor na glukozu, manit, ureju, arginin i novobiocin. Dobiveni zbroj odgovarao je vrsti i rodu bakterije u tablici identifikacije.



Slika 8. Biokemijski niz za dokazivanje Gram negativnih bakterija

Izvor: Orea Orešković



Slika 9. Biokemijski niz za dokazivanje Gram pozitivnih bakterija

Izvor: Orea Orešković

4. REZULTATI

U tablici 1. prikazani su rezultati izmjerene temperature, površine prostorija i broj osoba prisutnih u prostorijama u kojima se vršilo uzorkovanje zraka.

Tablica 1. Prikaz izmjerene temperature, površine prostorija i broj osoba prisutnih u prostorijama tijekom uzorkovanja zraka

PROSTORIJA	Temperatura/°C	Broj osoba u prostoriji	Površina prostorije/m ²
Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija-prije dezinfekcije	22	7	25
Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija-poslije dezinfekcije	22	2	25
Šalter Mikrobiološkog odjela	21	4	8

U tablici 2. prikazani su rezultati porasta ukupnog broja bakterijskih kolonija na TSA, krvnom i UriSelect agaru u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija prije i poslije dezinfekcije.

Tablica 2. Prikaz porasta ukupnog broja bakterijskih kolonija na TSA, krvnom i UriSelect agaru u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija prije i poslije dezinfekcije

	Ukupan broj bakterija / CFU/ 250L zraka	
AGAR	Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija- prije dezinfekcije	Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija- poslije dezinfekcije
TSA	35	10
Krvni	44	9
UriSelect	19	16

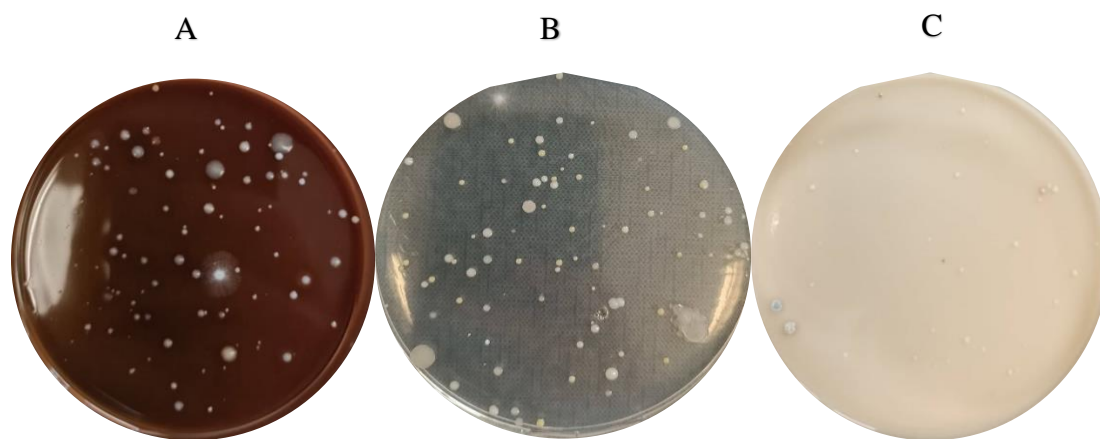
Iz tablice 2. vidljivo je kako je u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija najveći broj bakterijskih kolonija porastao na krvnom agaru i prije i poslije dezinfekcije zraka. Na TSA agaru je porastao nešto manji broj bakterijskih kolonija u odnosu na krvni agar, dok je na UriSelect agaru porastao najmanji broj bakterijskih kolonija i prije i poslije dezinfekcije zraka. Nakon provedbe dezinfekcije, uočljivo je smanjenje broja bakterijskih kolonija na svim hranjivim podlogama.

U tablici 3. prikazani su rezultati porasta ukupnog broja bakterijskih kolonija na TSA, krvnom i UriSelect agaru na šalteru Mikrobiološkog odjela.

Tablica 3. Prikaz porasta ukupnog broja bakterijskih kolonija na TSA, krvnom i UriSelect agaru na šalteru Mikrobiološkog odjela

	Ukupan broj bakterija / CFU/ 250L zraka
AGAR	Šalter Mikrobiološkog odjela
TSA	81
Krvni	93
UriSelect	39

Iz tablice 3. vidljivo je kako je na šalteru Mikrobiološkog odjela najveći broj bakterijskih kolonija porastao na krvnom agaru. Na TSA agaru je porastao nešto manji broj bakterijskih kolonija u odnosu na krvni agar, dok je na UriSelect agaru porastao najmanji broj bakterijskih kolonija. Iz tablice je vidljivo kako je na šalteru Mikrobiološkog odjela porastao dvostruko veći broj bakterijskih kolonija u odnosu na Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija.



Slika 10. Porast bakterijskih kolonija na krvnom agaru (A), TSA agaru (B) i UriSelect agaru (C)

Izvor: Orea Orešković

U tablici 4. prikazan je porast bakterijskih kolonija prema vrsti bakterija na TSA, krvnom i UriSelect agaru u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija prije i poslije dezinfekcije, te šalteru Mikrobiološkog odjela.

Tablica 4. Prikaz porasta bakterijskih kolonija prema vrsti bakterija na TSA, krvnom i UriSelect agaru u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija prije i poslije dezinfekcije, te šalteru Mikrobiološkog odjela

	Ukupan broj bakterija / CFU/ 250L zraka								
	Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija- prije dezinfekcije			Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija- poslije dezinfekcije			Šalter Mikrobiološkog odjela		
BAKTERIJA	TSA	KA	US	TSA	KA	US	TSA	KA	US
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	17	25	10	7	5	10	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	41	0	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	0	0	0	0	0	0	80	36
<i>Micrococcus spp.</i>	18	19	9	3	4	6	40	13	0
<i>Bacillus spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Serratia liquefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1

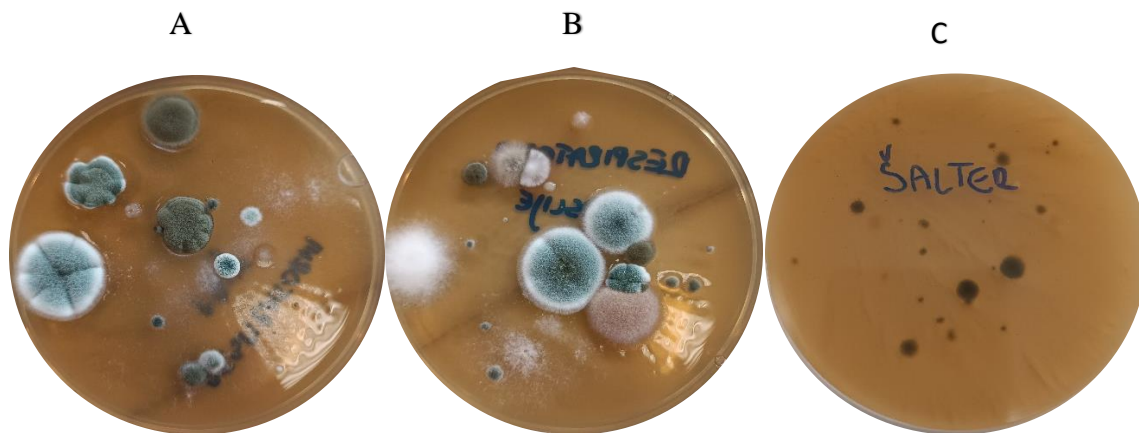
Iz tablice 4. vidljivo je kako su u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija i prije i poslije dezinfekcije zraka, na svim hranjivim podlogama porasle bakterijske kolonije vrste *Staphylococcus epidermidis* i *Micrococcus spp.* Na šalteru mikrobiološkog odjela porasle su kolonije bakterija *Staphylococcus aureus* i *Micrococcus spp.* na TSA agaru, *Staphylococcus simulans* i *Micrococcus spp.* na krvnom agaru, te *Staphylococcus simulans*, *Bacillus spp.*, *Serratia liquefaciens* na UriSelect agaru.

U tablici 5. prikazan je broj ukupnih poraslih kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru.

Tablica 5. Prikaz poraslih kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru

	Ukupan broj kvasaca i plijesni / CFU/250 L zraka
PROSTORIJA	
Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija- prije dezinfekcije	14
Laboratorij za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija- poslije dezinfekcije	23
Šalter Mikrobiološkog odjela	25

Iz tablice 5. je vidljivo kako je najveći broj kvasaca i plijesni porastao na šalteru Mikrobiološkog odjela. U Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija veći broj kvasaca i plijesni je porastao nakon dezinfekcije zraka.



Slika 11. Porast kolonija kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru prije (A) i nakon (B) dezinfekcije zraka, te porast kolonija na šalteru Mikrobiološkog odjela (C)

Izvor: Orea Orešković

5. RASPRAVA

Kvaliteta zraka važan je faktor u očuvanju ljudskog zdravlja, a s obzirom da je onečišćenje zraka uglavnom antropogena podrijetla, čovjek ima veliki utjecaj na kontrolu njegove kvalitete i utjecaj na njegovu zaštitu. Iako se često spominju različite vrste onečišćenja zraka, u ovom radu naglasak je stavljen na ispitivanje mikrobiološke kvalitete zraka. Ispitivanje mikrobiološke kvalitete uključuje ispitivanje prisutnosti mikroorganizama u zraku. S obzirom da je čovjek prirodno stanište velikog broja mikroorganizama, on je ujedno i glavni vektor njihova širenja među ljudima. U zatvorenim prostorima se tako povećava rizik za širenje mikroorganizama koji nastanjuju respiratorni sustav čovjeka ili kože. Pogodna temperatura i vlažnost zraka omogućuju rast mikroorganizama u zatvorenim prostorijama, čime se povećava njihov broj i povećava rizik za njihovo širenje. Iz tog razloga važno je učestalo kontrolirati mikrobiološku kvalitetu zraka kako bi se pravodobno moglo reagirati ukoliko u prostorijama postoje patogeni mikroorganizmi koji mogu štetno utjecati na ljudsko zdravlje. Također, osobito valja kontrolirati prostorije zdravstvenih ustanova s obzirom na broj imunokompromitiranih osoba koje ih svakodnevno posjećuju. Osim same kontrole kvalitete zraka, važno je primjenjivati mjere prevencije same kvalitete, a to su održavanje čistoće samih prostorija, koja uključuje njihovo redovito čišćenje, pranje i dezinfekciju. Uz to, osobitu važnost treba pridodati kontroli klimatizacijskih sustava, odnosno sustava grijanja i hlađenja jer su ti sustavi česti rezervoari mikroorganizama.

U svrhu izrade ovog rada uzorci zraka uzeti su u zatvorenim laboratorijskim prostorijama Mikrobiološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije kako bi se utvrdila mikrobiološka kvaliteta zraka. Uzorci su uzeti u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija, te na šalteru Mikrobiološkog odjela. U Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija nakon samog uzorkovanja zraka, uslijedila je dezinfekcija prostora kako bi se utvrdila njezina uspješnost. Za potrebe istraživanja korištene su 4 različite hranjive podloge: TSA agar, UriSelect agar, krvni agar, te Sabouraud agar.

Prema dobivenim rezultatima uzorkovanja zraka prostorije Laboratorija za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija imaju najveće opterećenje brojem bakterijskih kolonija na krvnom agaru, a najmanje na UriSelect agaru. Takav rezultat je očekivan s obzirom da krvni agar podržava rast velikog broja bakterija, dok je UriSelect agar vrsta kromogenog agara koji je pogodan za rast bakterija urinarnog trakta.

Rezultati uzorkovanja zraka nakon provedbe dezinfekcije prostora Laboratorija, ukazuju na to da se broj bakterijskih kolonija nakon dezinfekcije umanjio. Za dezinfekciju se upotrijebio uređaj SpeedyCare UV. Mogući razlozi koji su utjecali na uspješnost dezinfekcije su vjerojatno povezani s otvaranjem vrata prostorije nakon provedbe dezinfekcije, iz razloga što u tijeku njene provedbe u prostorijama ne smiju biti prisutni ljudi. Nakon otvaranja vrata i ulaska osoba u dezinficiranu prostoriju, moguće je da je došlo do njene ponovne kontaminacije mikroorganizmima. Otvaranjem vrata u prostoriju je ušao nedezinficirani zrak. Osim navedenog, tijekom uzorkovanja zraka u prostoriji su se nalazile dvije osobe, koje su u prostoriju mogle unijeti bakterije normalno prisutne na koži ili u sluznici nosa. Takve okolnosti su moguće utjecale na same rezultate nakon dezinfekcije, ali ne isključuje se mogućnost neadekvatne dezinfekcije uređaja.

Broj poraslih bakterijskih kolonija na šalteru Mikrobiološkog odjela bio je gotovo dvostruko veći nego u prostorijama Laboratorija. Takvi rezultati su i očekivani s obzirom da šalter tijekom dana posjećuje veliki broj ljudi. Također, u samom laboratoriju se češće provode mjere čišćenja, pranja i dezinfekcije s obzirom da se radi o prostoru koji je važno održavati što čistim. Kao i u Laboratoriju, najveći broj bakterijskih kolonija je porasao na krvnom agaru, a najmanje na UriSelectu.

Nakon što su se proveli testovi identifikacije bakterijskih kolonija, ustanovljeno je kako su u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija i prije i poslije dezinfekcije bile prisutne bakterijske vrste *Staphylococcus epidermidis* i *Micrococcus spp.* Prisutnost ovih bakterijskih vrsta nije zabrinjavajuća, niti začuđujuća s obzirom da su te bakterije normalni stanovnici epitela kože, te kao takve uglavnom ne uzrokuju bolesti u imunokompetentih osoba. S obzirom da se nalaze na koži čovjeka, njihova prisutnost u zraku smatra se normalnom, što znači da je mikrobiološka kvaliteta prostorije Laboratorija zadovoljavajuća.

Testovima identifikacije bakterija također je utvrđeno nešto veći broj bakterijskih vrsta na šalteru Mikrobiološkog odjela. Točnije, dokazane su bakterije vrste *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Serratia liquefaciens*. S obzirom da šalter posjećuje veliki broj ljudi, često i imunokompromitirane osobe, prisutnost većeg broja vrsta bakterijskih kolonija je očekivana. Dok su *Staphylococcus simulans* i *Micrococcus spp.* bakterijske vrste koje uglavnom ne predstavljaju opasnost po zdravlje čovjeka, prisutnost *Staphylococcus aureus*-a mogla bi biti zabrinjavajuća. Iako u zdravih osoba najčešće uzrokuje manje infekcije

kože, u imunokompromitiranih osoba može uzrokovati teža oboljenja opasna po život. Bakterije roda *Bacillus spp.* uglavnom nisu opasne po čovjeka, no neke vrste mogu uzrokovati infekcije rana i ušiju, mokraćnog sustava, te se povezuju s bakterijemijom i endokarditisom, dok je *Serratia liquefaciens* jedna od poznatih uzročnika bolničkih infekcija.

Za određivanje prisutnosti kvasaca i plijesni u prostorijama korišten je Sabouraud agar. Za potrebe rada nisu određivane točne vrste kvasaca i plijesni već se samo odredio broj prisutnih kolonija. Njihova prisutnost u prostorijama je normalna, te ih je gotovo nemoguće ukloniti iz prostora iz razloga što njihovom rastu pogoduju sobne temperature i vlažni prostori. Prema rezultatima, utvrđeno je da je broj kvasaca i plijesni porastao nakon dezinfekcije prostorije Laboratorija, što možda nije očekivano, ali sama dezinfekcija uređajem SpeedyCare UV nije usmjerena na ovu vrstu mikroorganizama.

Uspoređujući rezultate ovog rada s rezultatima sličnih istraživanja, utvrđeno je kako su rezultati uzorkovanja i u drugim zdravstvenim ustanovama bili gotovo identični, odnosno identificirane su iste vrste bakterija. Tako je primjerice u istraživanju provedenom u jednoj zdravstvenoj ustanovi u Hrvatskoj, čije se uzorkovanje provelo u prostoriji za obradu infektivnog otpada, utvrđena prisutnost bakterija vrste *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, te *Bacillus spp.* što se podudara s rezultatima ovog istraživanja. (47) Također, rezultati istraživanja provedenog u nekoliko zdravstvenih ustanova u Francuskoj, dokazali su prisutnost istih vrsta bakterija, te su tako najčešće prisutne bakterije bile one vrsta *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, te *Bacillus spp.* Uz njih u tom istraživanju još su dokazane i vrste *Erwinia spp.*, *Pseudomonas spp.*, ali njihov broj je bio značajno manji od ranije spomenutih vrsta. (48)

Dobiveni rezultati istraživanja potvrdili su postojanje bakterijskih vrsta čija je pojava u zatvorenim prostorijama i očekivana. Uglavnom su identificirane bakterije koje su normalno prisutne u sluznici nosa i kože, što ne predstavlja zabrinjavajući podatak. Zabrinjavajuće bakterijske vrste čija je prisutnost utvrđena u prostoriji šaltera Mikrobiološkog odjela su *Staphylococcus aureus* i *Serratia liquefaciens*, koje mogu predstavljati opasnost po ljudsko zdravlje, te bi trebalo provesti mjere kojima bi se one uklonile iz okoline. Količina kvasaca i plijesni je također očekivana iz razloga što je na njihov rast teško utjecati s obzirom da sobne temperature predstavljaju idealne uvjete za njihov rast. Upotrebom dezinfekcijskih sredstava, u ovom slučaju uređaja za dezinfekciju, smanjio se broj bakterijskih kolonija u samoj prostoriji što upućuje na to kako je

pravilna i učestala dezinfekcija dobro sredstvo u borbi protiv bakterija. Također, potrebno je naglasiti kako bi za točnije i preciznije rezultate istraživanja valjalo napraviti veći broj uzorkovanja kako bi rezultati bili što reprezentativniji.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja moguće je zaključiti:

- U prostorijama Laboratorija za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija utvrđen je manji broj bakterijskih kolonija, isto kao i manji broj različitih bakterijskih vrsta u odnosu na šalter Mikrobiološkog odjela. Takav rezultat je očekivan s obzirom na broj ljudi koji svakodnevno posjećuje šalter.
- Gotovo sve identificirane bakterijske vrste predstavljaju malu opasnost po ljudsko zdravlje s obzirom da se radi o bakterijama normalno prisutnim na epitelu kože ili sluznici nosa.
- Identificirane bakterijske vrste koje mogu biti rizične po zdravlje čovjeka su *Staphylococcus aureus* i *Serratia liquefaciens*.
- Dezinfekcijom zraka smanjio se broj bakterijskih kolonija u prostoriji, što je potvrdilo učinkovitost uređaja za dezinfekciju.
- Uređaj za dezinfekciju nije utjecao na smanjenje kvasaca i plijesni što ukazuje na to da nije sredstvo namijenjeno za suzbijanje te vrste mikroorganizama.
- Plijesni i kvasci su normalno prisutni u prostorijama s obzirom da zatvorene prostorije imaju idealne uvjete za njihov rast.

7. LITERATURA

1. Choudhary M.P., Garg V.; Causes, Consequences and Control of Air Pollution., 2013
2. Kodrić-Šmit M, Pajtlar-Gaćeša S.; Studija procjene mogućeg utjecaja ekoloških čimbenika na zdravstveno stanje stanovništva Sisačko-Moslavačke županije; Sisak; 2007; 195-197
3. Aastrup, M., Iverfeldt, ÅÅ., Bringmark, L., Kvarnäs, H., Thunholm, B. and Hultberg, H., Monitoring of heavy metals in protected forest catchments. Water Air and Soil Pollution, 1995, 85, 755-760.
4. Fugaš M, Vadić V, Šega K, Kalinić N, Hršak J, Šišović A. Istraživanja onečišćenja zraka. Arh Hig Rada Toksikol. [Internet]. 1999 [pristupljeno 26.05.2022.];50(2):211-222. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/2763>
5. Europska agencija za okoliš, Poboljšanje kvalitete zraka u Europi, EEA Signali 2013-Svaki naš udisaj, [Internet]. 2013. <https://www.eea.europa.eu/hr/publications/eea-signali-2013-svaki-nas-udisaj#tab-novosti-i-%C4%8Dlanci>
6. Lipfert F.W., An assessment of air pollution exposure information for health studies. Atmosphere 2015, 6, 1736–1752
7. Europska agencija za okoliš, Kvaliteta zrak u zatvorenom prostoru. [Internet]. 2013. Dostupno na: <https://www.eea.europa.eu/hr/signals/signals-2013/clanci/kvaliteta-zraka-u-zatvorenom-prostoru>
8. Nevalainen, L. Morawska; Biological Agents in Indoors Environments: Assessment of Health Risk; QUT; April 2009
9. Asif, A.; Zeeshan, M.; Hashmi, I.; Zahid, U.; Bhatti, M.F. Microbial quality assessment of indoor air in a large hospital building during winter and spring seasons. Build. Environ. 2018, 135, 68–73.
10. Cox-Ganser, J.M.; Rao, C.Y.; Park, J.H.; Schumpert, J.C.; Kreiss, K. Asthma and respiratory symptoms in hospital workers related to dampness and biological contaminants. Indoor Air 2009, 19, 280–290

11. M. Đ. Učur; Pravilnik o zaštiti radnika od rizika zbog izloženosti biološkim agensima pri radu, "Radno pravo", br. 4, 2009
12. Kim, Ki-Hyun et al. Airborne bioaerosols and their impact on human health. Journal of environmental sciences (China) vol. 67 (2018): 23-35. doi:10.1016/j.jes.2017.08.027
13. Suppliers od instruments for air sampling an air monitoring; [Internet]. Rapidmicrobiology.com.2022. Preuzeto 29. Svibnja 2022. Dostupno na: <https://www.rapidmicrobiology.com/test-method/air-samplers>
14. Lee KW, Ramamaurthi M. Filter collection. In: Willeke K, Baron PA, editors. Aerosol Measurement: principles, techniques and applications. New York (NY): Van Nostrand Reinhold; 1993. p. 179- 205
15. Terzieva S, Donnelly J, Ulevicius V, et al. Comparison of methods for detection and enumeration of airborne micoorganisms collected by liquid impingement. Appl Environ Microbiol 1996;62:2264-72
16. Preuzeto sa: <https://www.skcltd.com/products2/impingers.html> [pristupljeno 31.5.2022.]
17. Grinsphun AS, Chang CW, Nevalainen A, Willeke K. Inlet characteristics of bioaerosol sampler. J Aerosol Sci 1994;25:1503-22
18. Preuzeto sa: <https://www.tcr-tecora.com/en/outdoor-air-quality/andersen-cascade-impactor-6-stage-viable/> [pristupljeno 31.5.2022.]
19. Butner M, Willeke K, Grinsphun SA. Sampling and analysis of airborne micoorganisms. In: Manual of environmental microbiology. Washington (DC): American Society for Microbiology; 1997. p. 629-37
20. Mohr AJ. Fate and transport microorganisms in air. In: Manual of environmental microbiology. Washington (DC): American Society for Microbiology; 1997. p. 641-8
21. Park YJ, Kim CW, Lee HK. Interactions between Host Immunity and Skin-Colonizing Staphylococci: No Two Siblings Are Alike. Int J Mol Sci 2019
22. Heilmann C, Ziebuhr W, Becker K. Are coagulase-negative staphylococci virulent? Clin Microbiol Infect 2019; 25:1071–1080

23. Balasubramanian D., Harper L., Shopsis B., Torres V.J.; *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments; *Pathog Dis*; 2017;75(1): str. 1–13
24. Christof von Eiff Heilmann C., Peters G.; *Staphylococcus epidermidis*: why is it so successful?; *Clin Microbiol Infect*; 1998; vol 4, p.297-300
25. Fredheim, E. G. A., Klingenberg, C., Rohde, H., Frankenberger, S., Gaustad, P., Flaegstad, T., et al. (2009). Biofilm formation by *Staphylococcus haemolyticus*. *J. Clin. Microbiol.* 47, 1172–1180
26. Colman, G. and Williams, R.E.O. (1972) Taxonomy of some human viridans streptococci. In *Streptococci and Streptococcal Diseases* ed. L.W. and Matsen, J.M. pp. 281–299. New York pathogenic for man. *Lancet* 2, 708–713. and London: Academic Press
27. Smith, K. J., R. Neafie, J. Yeager, and H. G. Skelton. 1999. *Micrococcus folliculitis* in HIV-1 disease. *British Journal of Dermatology*, vol. 141, no. 3. British Association of Dermatologists. (558-561)
28. Hongcan Liu, Yi Xu, Yanhe Ma, Peijin Zhou. Characterization of *Micrococcus antarcticus* sp.nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. (2000), 50, 715-719.
29. Prod'hom G., Bille J.; *Aerobic Gram-Positive Bacilli*. In: *Infectious Diseases* [Internet]. Fourth Edi. Elsevier Ltd; 2017.; str. 1537-1552
30. Drobniowski FA. *Bacillus cereus* and related species. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:324-38.
31. Spencer R.C; *Bacillus anthracis*; *J Clin Pathol*; 2003;56(3):182-187
32. Mahlen SD. *Serratia* Infections: from Military Experiments to Current Practice. *Clin Microbiol Review* 2011; 24: 755-791
33. Nevalainen A, Täubel M, Hyvärinen A. Indoor fungi: Companions and contaminants. *Indoor Air*[Internet].;25(2):125–56
34. Shelton B.G., Kirkland K.H., Flanders W.D., Morris G.K.; Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States; *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(4); str. 1743–53

35. Sabino R, Veríssimo C, Viegas C, Viegas S, Brandão J, Alves-Correia M, et al. The role of occupational *Aspergillus* exposure in the development of diseases. *Med Mycol* [Internet]. 2019;57:S196–205
36. Ogórek, Rafał & Lejman, Agnieszka & Pusz, Wojciech & Miłuch, Anna & Miodyńska, Paulina. (2012). Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. *Mikologia Lekarska*. 19(2). 80-85
37. Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud Mycol*. 2014;78:343-371
38. Biolife; Tryptic soy agar [Internet]; 2020.; preuzeto sa: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni/schedetecniche-inglese/TS-4021504.pdf>
39. Isenberg, H.D. *Clinical microbiology procedures handbook*, American Society for Microbiology. Washington D.C, 1992, vol. 1.
40. Becker W. The Necessity of a Standard Blood-Agar Plate for the Determination of Hemolysis by Streptococci. *Journal of Infectious Diseases*. 1916;19(6):754-759.
41. Haley, L.D., J. Trandel, M.B. Coyle; Cumitech II, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical microbiology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 1980.
42. Operating Manual MAS-100; EMD [Internet] : 1–23., preuzeto sa: https://archiveresources.coleparmer.com/Manual_pdfs/39182-90,-82.pdf (zadnji put pristupljeno 31.5.2022.)
43. SpeedyCare UV; [Internet], dostupno na: <https://www.speedycare.com/1500.php>
44. Preuzeto sa: <https://www.speedycare.com/> [pristupljeno 22.8.2022.]
45. Sagar Aryal; Gram Staining: Principle, Procedure, Interpretation, Examples and Animation; Microbiology info.com [Internet]; preuzeto sa: <https://microbiologyinfo.com/gram-staining-principle-procedure-interpretation-examples-and-animation/>

46. Clarke, P.H. & Cowan, S.T. (1952). Biokemijske metode za bakteriologiju. Časopis za opću mikrobiologiju, 6(1952), 187-197
47. Rakić A, Ćurin K, Gjeldum I. Nadzor nad mikrobiološkim statusom zraka u zdravstvenoj ustanovi u prostorima za sterilizaciju. [Internet]. 2016 [pristupljeno 31.08.2022.], dostupno na: <https://doi.org/10.31306/s.58.4.4>
48. Baudet A., Baurès E., Guegan H., Blanchard O., Guillaso M., Le Cann P., Gangneux J., Florentin A.; Indoor Air Quality in Healthcare and Care Facilities: Chemical Pollutants and Microbiological Contaminants; [Internet]. 2021 [pristupljeno 31.08.2022.], dostupno na: <file:///C:/Users/Korisnik/Downloads/atmosphere-12-01337.pdf>

POPIS SLIKA

Slika 1. Monitoring, sastav i utjecaj na zdravlje bioaerosola (12)

Slika 2. Stakleni impinger (16)

Slika 3. Kaskadni impaktor (18)

Slika 4. Porast *Micrococcus* spp. na krvnom agaru

Slika 5. Porast *Bacillus* spp. na krvnom agaru

Slika 6. MAS-100 uređaj

Slika 7. SpeedyCare UV (44)

Slika 8. Biokemijski niz za dokazivanje Gram negativnih bakterija

Slika 9. Biokemijski niz za dokazivanje Gram pozitivnih bakterija

Slika 10. Porast bakterijskih kolonija na krvnom agaru (A), TSA agaru (B) i UriSelect agaru (C)

Slika 11. Porast kolonija kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru prije (A) i nakon (B) dezinfekcije zraka, te porast kolonija na Mikrobiološkom šalteru (C)

POPIS TABLICA

Tablica 1. Prikaz izmjerene temperature, površine prostorija i broj osoba prisutnih u prostorijama tijekom uzorkovanja zraka

Tablica 2. Prikaz porasta ukupnog broja bakterijskih kolonija na TSA, krvnom i UriSelect agaru u Laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija prije i poslije dezinfekcije

Tablica 3. Prikaz porasta ukupnog broja bakterijskih kolonija na TSA, krvnom i UriSelect agaru na šalteru mikrobiološkog odjela

Tablica 4. Prikaz porasta bakterijskih kolonija prema vrsti bakterija na TSA, krvnom i UriSelect agaru u laboratoriju za dijagnostiku respiratornih i sustavnih infekcija prije i poslije dezinfekcije, te šalteru mikrobiološkog odjela

Tablica 5. Prikaz poraslih kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru

POPIS KORIŠTENIH SKRAĆENICA

WHO - World Health Organization

PM - lebdeće čestice

PCR - Polymerase Chain Reaction, polimerazna lančana reakcija

CoNS - Koagulaza negativni stafilokoki

TSA - Tripoza sojin agar

ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Orea Orešković

Datum rođenja: 19. siječnja 1999.

Mjesto rođenja: Rijeka

Državljanstvo: Hrvatsko

Narodnost: Hrvatica

Adresa: Marijana Vičića 10, 51000 Rijeka

Telefon: +385 91 1921812

E-mail: orea.oreskovic@gmail.com

Obrazovanje:

2005. - 2009. Osnovna škola Gelsi

2009. - 2013. Osnovna škola Podmurvice

2013. - 2017. Salezijanska klasična gimnazija, opći smjer

2017. - 2020. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Preddiplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva

2020. - danas Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Diplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva

Vještine:

Strani jezici: engleski i talijanski jezik. Položen vozački ispit B kategorije. Dobro poznavanje rada na računalu (MS Office paket)