

UČINKOVITOST FILTRIRANJA BAKTERIJA RAZLIČITIH VRSTA ZAŠTITNIH MASKI

Ražov, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:184:332502>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-25**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Lucija Ražov

UČINKOVITOST FILTRIRANJA BAKTERIJA RAZLIČITIH VRSTA
ZAŠTITNIH MASKI

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Lucija Ražov

UČINKOVITOST FILTRIRANJA BAKTERIJA RAZLIČITIH VRSTA
ZAŠTITNIH MASKI

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

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

Diplomski rad obranjen je dana 15.7.2021. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Izv. prof. dr. sc. Sandra Pavičić Žeželj, dipl. sanit. ing.
2. Izv. prof. dr. sc. Ivana Gobin, dipl. sanit. ing.
3. Doc. dr. sc. Željko Linšak, dipl. sanit. ing.

Rad ima 52 stranice, 18 slika, 7 tablica, 73 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentoru doc. dr. sc. Željku Linšaku, dipl. sanit. ing. na savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Također, zahvaljujem se osoblju Zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju Medicinskog fakulteta u Rijeci na pomoći prilikom izrade eksperimentalnog dijela ovoga rada, a osobito izv. prof. dr. sc. Ivani Gobin, dipl. sanit. ing. i Gabrijeli Begić, mag. med. lab. diagn., kao i mr. sc. Nikolini Furlan, dipl. sanit. ing., djelatnici Zdravstveno-ekološkog odjela Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije.

Veliko hvala mojoj obitelji na podršci i potpori koju su mi pružali za vrijeme pohađanja ovog studija na Medicinskom fakultetu u Rijeci.

SAŽETAK

Zrak predstavlja neizbježan medij za prijenos različitih onečišćenja okoliša na čovjeka, pri čemu sve veći problem čine zatvorena okruženja u kojima ljudi provode velik dio vremena. Svaka individua predstavlja izvor specifične mikrobiote koja se oslobađa u okolni prostor putem respiratornog sustava, kože te kontakta s različitim predmetima. Uslijed aktualne pandemije COVID-19 uzrokovane virusom SARS-CoV-2, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) izdala je različite preporuke za prevenciju širenja virusa, među kojima je i preporuka o nošenju zaštitnih maski za lice. Brojne države, među kojima i Republika Hrvatska, uvele su potom obvezu nošenja zaštitnih maski u zatvorenim prostorima. Zaštitne maske za lice, uz broj čestica virusa kojima je populacija izložena, smanjuju i broj bakterija. Glavni cilj ovog rada jest bio ispitati razliku sposobnosti filtriranja bakterija ovisno o korištenoj zaštitnoj maski za lice. Također, uz ukupne aerobne mezofilne bakterije, a potom i identificirane bakterijske vrste, određena je i sposobnost filtriranja kvasaca i plijesni. Zrak je uzorkovan u veljači 2021. godine u dječjem vrtiću (skupine Bubamare i Ribice) te u osnovnoj školi (4.b i 8.b razred) pomoću MAS-100 uređaja (po 250L zraka), a korišteni su Tryptic Soy Agar te kromogeni, Sabouraud i krvni agar. Za svaku od tih podloga uzeta je kontrola, a zatim i uzorci zraka koji su filtrirani jednoslojnom platnenom, kirurškom i FFP2 maskom koje su stavljene na glavu MAS-100 uređaja. Određen je ukupan broj bakterija, kvasaca i plijesni, a kako bi se odredila zastupljenost pojedinih bakterijskih vrsta u navedenim skupinama, provedene su sljedeće klasične mikrobiološke metode: bojanje po Gramu, katalaza, oksidaza i koagulaza test te biokemijski test - API Staph. Identifikacijom je utvrđeno kako bakterije roda *Staphylococcus* i *Micrococcus* dominiraju u svim skupinama, dok su bakterije roda *Bacillus*, *Acinetobacter* i *Corynebacterium* utvrđene u znatno manjem broju. Nadalje, rezultati pokazuju kako su FFP2 maske najučinkovitije u filtriranju bakterija te da izrazito malen broj mikroorganizama prolazi kroz njih. Potom slijede kirurške maske koje su nešto manje učinkovite, dok su se najmanje učinkovitim pokazale jednoslojne platnene maske. Isti je rezultat postignut i prilikom ispitivanja učinkovitosti filtriranja kvasaca i plijesni, odnosno FFP2 maska se pokazala najučinkovitijom, dok je jednoslojna platnena maska imala najmanju učinkovitost filtriranja.

Ključne riječi: bakterije u zraku, jednoslojna platnena maska, kirurška maska, FFP2 maska

SUMMARY

Air represents a vital medium for the transmission of various environmental pollutants to humans and the main issue here are indoor environments, in which people spend most of their time. Each person is a source of specific microbiota released into the surrounding space through the respiratory system, as well as from skin and through contact with different objects. Due to the current COVID-19 pandemic, the World Health Organization (WHO) has published various recommendations to prevent the spread of the virus, including a recommendation to wear protective facial masks. Numerous countries, including the Republic of Croatia, introduced the obligation of wearing protective masks while indoors. Facial masks, apart from the number of virus particles to which the population is exposed, also reduce the number of bacteria. The main aim of this study was to examine the difference in bacterial filtration efficiency of different types of protective facial masks. Furthermore, along with total aerobic mesophilic bacteria and defined bacterial species, the filtration efficiency of yeasts and mould was also examined. Air was sampled in a kindergarten (groups Bubamare and Ribice) and in an elementary school (classes 4.b and 8.b) using a MAS-100 sampling device and Tryptic Soy Agar, chromogenic, Sabouraud and blood agar (for each plate 250 L of air were taken) in February 2021. The first step in each group was to take a sample of air without any facial mask, which represented the control. Next, air samples filtered with a single-layer canvas, surgical, and FFP2 mask settled on a sampler head were taken. The total number of bacteria, yeasts and mould was determined. In order to determine exactly which bacterial species were present in these groups, the following classical microbiological methods were performed: Gram staining, catalase, oxidase and coagulase test and biochemical test - API Staph. Identification established that bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Micrococcus* dominate in all groups, while bacteria of the genera *Bacillus*, *Acinetobacter* and *Corynebacterium* were found at a significantly smaller number. Also, the results showed that FFP2 masks are the most effective in filtering bacteria and that a very low number of microorganisms pass through them. Furthermore, results have shown that surgical facial masks are less effective, while single-layer canvas masks have proven to be the least effective. The same results were achieved with filtration of yeasts and mould. Therefore, the FFP2 mask proved to be the most effective for yeasts and mould filtration, while the single-layer canvas mask had the lowest efficiency.

Key words: bacteria in the air, single-layer canvas mask, surgical facial mask, FFP2 mask

Sadržaj

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1. Onečišćenje zraka	1
1.2. Kvaliteta zraka u zatvorenim prostorima	2
1.2.1. Kvaliteta zraka u dječjim vrtićima i školama	3
1.3. Bioaerosol	4
1.4. Sindrom bolesnih zgrada	5
1.5. Gljive u zatvorenim prostorima	7
1.6. Bakterije u zraku	8
1.6.1. <i>Staphylococcus</i>	8
1.6.2. Prisutnost bakterija roda <i>Staphylococcus</i> u zatvorenom prostoru	9
1.6.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
1.6.4. <i>Staphylococcus chromogenes</i>	10
1.6.5. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	11
1.6.6. <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	11
1.6.7. <i>Staphylococcus lentus</i>	11
1.6.8. <i>Acinetobacter lwoffii</i>	12
1.6.9. <i>Bacillus</i> spp.	13
1.6.10. <i>Corynebacterium</i> spp.	13
1.6.11. <i>Micrococcus luteus</i>	13
1.6.12. <i>Micrococcus</i> spp.	14
1.7. Maske i pandemija COVID-19	14
1.7.1. Povijest zaštitnih maski za lice	15
1.7.2. Platnena maska	15
1.7.3. Kirurška maska	16
1.7.4. FFP maske	17
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	18
3. MATERIJALI I METODE	19
3.1. MATERIJALI	19
3.1.1. Hranjive podloge	19
3.1.2. MAS-100 uređaj (Merck)	21
3.1.3. Zaštitne maske za lice	21
3.1.4. Ostali materijali	21
3.2. METODE	22
3.2.1. Uzorkovanje zraka pomoću MAS-100 uređaja	22

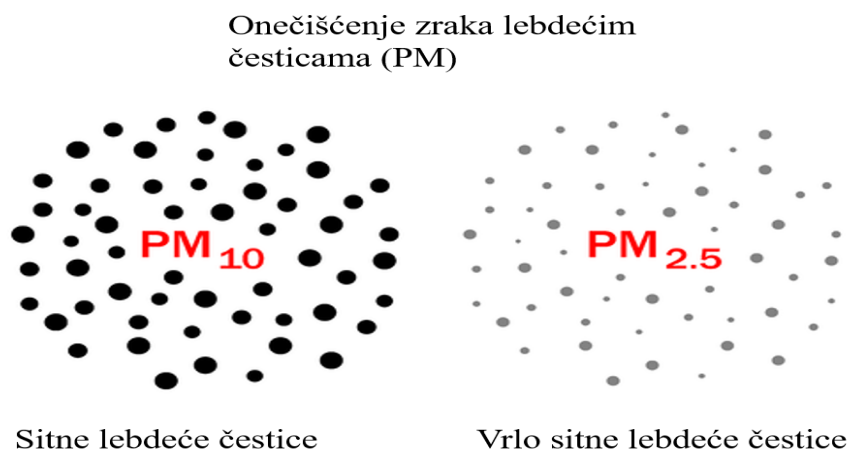
3.2.2. Određivanje broja poraslih bakterijskih kolonija te kvasaca i plijesni.....	24
3.2.3. Obrada rezultata.....	24
3.2.4. Bojanje po Gramu.....	25
3.2.5. Oksidaza test	26
3.2.6. Katalaza test	26
3.2.7. Koagulaza test	26
3.2.8 API® Staph	27
4. REZULTATI.....	29
5. RASPRAVA.....	39
6. ZAKLJUČCI.....	42
7. LITERATURA.....	43
POPIS SLIKA I GRAFOVA.....	50
POPIS KORIŠTENIH SKRAĆENICA	51
ŽIVOTOPIS.....	52

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Onečišćenje zraka

Onečišćenjem zraka se smatra onečišćenje atmosfere kemikalijama, česticama ili biološkim materijalima koji mogu štetno utjecati na okoliš i žive organizme te u konačnici djelovati na zdravlje ljudi. Glavni kontaminanti zraka koji djeluju na dišni sustav su lebdeće čestice (eng. particulate matter, PM), sumporov dioksid (SO_2), dušikov dioksid (NO_2) i ozon (O_3), a njihovi izvori mogu biti stacionarni ili mobilni.(1) Izloženost kontaminantima narušava kvalitetu života jer djeluju na različite organske sustave, odnosno organe, uzrokujući tako akutna ili kronična oboljenja.

Lebdeće čestice označavaju kontaminante zraka sastavljene od nekoliko vrsta suspendiranih čestica različitih po sastavu i veličini koja se kreće od $2.5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) do $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}). Glavni izvor ovih čestica jesu različiti industrijski objekti, vozila, elektrane, spalionice, prašina i požari. PM_{10} čestice djeluju na gornje dišne puteve dok s druge strane na plućne alveole djeluju ultrafine čestice čiji promjer iznosi $0,1 \mu\text{m}$ – $\text{PM}_{0.1}$. Stoga, vidljivo je da čestice manjeg promjera imaju i štetnije učinke na zdravlje ljudi. (2)



Slika 1. Onečišćenje zraka lebdećim česticama - PM_{10} i $\text{PM}_{2.5}$ (3)

Prilagođeno na hrvatski.

Sumporov dioksid (SO_2) je bezbojan plin, dobro topiv u vodi zbog čega se apsorbira u površinama sluznica gornjih dišnih putova. Do distalnih dijelova pluća doseže mali udio SO_2 koji se udiše, pri čemu osjetljive osobe s astmom mogu pretrpjeti i značajnije štetne učinke na dišne putove. SO_2 nastaje izgaranjem sumpora koji potječe iz fosilnih goriva, odnosno iz ugljena i sirove nafte. Glavnim izvorima zagađenja zraka sa SO_2 smatraju se elektrane, rafinerije nafte te topionice. Tako ispušten u atmosferu, SO_2 ne ostaje u obliku plina, već ulazi u kemijske reakcije s vodom, metalima u tragovima i drugim onečišćujućim tvarima stvarajući u konačnici čestice aerosola.

Dušikov dioksid (NO_2) nastaje iz dušikovitih oksida koji se stvaraju prilikom izgaranja, a glavnim izvorima NO_2 se smatraju motorna vozila i elektrane. Središta velikih gradova u kojima je velika koncentracija prometnica predstavljaju područja najviših koncentracija NO_2 . Upravo iz toga razloga, često se smatra pokazateljem zagađenja zraka uzrokovanog povećanim prometom. U atmosferi reagira s kisikom stvarajući tako ozon i dušikov oksid, no kako se radi o povratnoj reakciji, razine ozona su niže u onim područjima u kojima je viša koncentracija NO_2 , odnosno u područjima uz glavne prometnice.

Ozon (O_3) nastaje djelovanjem sunčeve svjetlosti na emisije dušikovitih oksida (NO_2) i hlapljivih organskih spojeva (HOS) iz motora s unutarnjim izgaranjem. U područjima slabije razvijenih prometnica, ultraljubičasto zračenje zajedno sa smjesom HOS-a i NO_2 rezultira složenim nizom kemijskih reakcija pri čemu nastaje O_3 , alkil nitrati, peroksiacil nitrati, alkoholi, eteri, kiseline, te različiti organski i anorganski spojevi. (1)

Zrak predstavlja neizbježan medij za prijenos onečišćenja okoliša na čovjeka. Osim onečišćenog vanjskog zraka, danas sve veći problem predstavljaju i zatvorena okruženja u kojima ljudi borave, a koja potječu iz samih zgrada, materijala te ljudskih aktivnosti. (4)

1.2. Kvaliteta zraka u zatvorenim prostorima

U zatvorenom prostoru, ljudi su važan izvor mikroorganizama, a povećanjem broja ljudi u prostorijama povećava se posljedično i broj prisutnih mikroba. (5) Urbanizacija je, kao globalni trend, sve više vezala čovječanstvo za zatvorene prostore u kojima svaka individua predstavlja izvor specifične mikrobiote koja se oslobađa u okolni prostor putem respiratornog sustava, kože te kontakta s različitim predmetima. Upravo ta mikrobna raznolikost prostora utječe na

imunološki odgovor, kao i na potencijalni prijenos bolesti među ljudima koji borave u istim prostorijama.(6)

U suvremenom svijetu ljudi provode čak 90% svojeg vremena u zatvorenim prostorima koji sadrže velik broj različitih onečišćujućih tvari u zraku predstavljajući tako rizik za zdravlje ljudi. Kontaminanti potječu iz vanjskog okoliša, građevinskih materijala i namještaja, kao i osoba prisutnih u prostorijama te njihovih aktivnosti. U zatvorenom zraku kontaminanti se mogu podijeliti u tri skupine: plinovi i pare, biološki agensi te nebiološki agensi. Relativna vlažnost zraka zajedno s temperaturom i brzinom strujanja zraka utječe na stopu emisije navedenih onečišćujućih tvari.(7) Smatra se da je relativna vlažnost zraka od 30 do 50% zajedno s redovitim održavanjem ventilacijskog sustava pogodna za kontrolu unutarnjih bioloških onečišćivača.(8)

Kada je riječ o virusima kao biološkim kontaminantima zatvorenih objekata, značajan način prijenosa se odvija preko respiratornog sustava od osobe do osobe, posebice u prepunim sobama s neadekvatnom ventilacijom. Uobičajenim aktivnostima, poput razgovora, kihanja i kašljanja može se ispustiti u zrak desetke tisuća kapljica koje sadrže virus. S druge strane, koncentracija bakterija i gljiva unutar zgrada osim o ljudskim aktivnostima, ovisi i o pristupačnosti vlažnih građevinskih materijala. Visoka razina vlage u zatvorenom često dovodi do nadražaja gornjih dišnih putova, glavobolje, osjećaja iscrpljenosti i umora te nadraženosti kože i sluznica.(9)

Kako bi se smanjilo onečišćenje zraka u zatvorenim prostorima, potrebno je redovito kontrolirati ventilaciju, pročišćivače zraka te izvor za koji je prethodno utvrđeno da dovodi do onečišćenja. No, unatoč postojanju navedenih metoda kojima bi se trebalo smanjiti onečišćenje, prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) zagađenje zraka u zatvorenim prostorima i dalje je jedan od najvećih svjetskih ekoloških problema. Iz tog razloga, konstantno se teži pronalasku novih metoda kako bi zrak u zatvorenim prostorima postao što kvalitetniji.(10)

1.2.1. Kvaliteta zraka u dječjim vrtićima i školama

U različitim vrstama ustanova, posebice u onima koja svakodnevno uključuju velik broj ljudi koji cirkulira njima (škole, vrtići, sveučilišta, bolnice...) glavni zdravstveni problem uzrokuje vlaga koja, osim nanošenja štete unutrašnjosti objekata, pogoduje i mikrobiološkom širenju izazivajući tako respiratorne probleme. Ventilacija u navedenim ustanovama može utjecati na zdravlje posjetitelja. U takvim ustanovama je potrebno provoditi i kontrole s ciljem procjenjivanja kakvoće zraka otkrivanjem potencijalne mikrobiološke kontaminacije.(11)

U mnogim zemljama glavni javnozdravstveni problem predstavlja koncentracija bioaerosola u dječjim vrtićima zbog velikog broja djece čiji je imunološki sustav slabije razvijen. Također, u odnosu na odrasle, djeca su osjetljivija na bioaerosol jer udišu više zraka. Bioaerosol može pridonijeti nastanku alergija, atopijskog dermatitisa, bolesti i infekcije dišnog sustava te rinitisa. Također, u vrtićima i školama su često izvor bakterijskih i drugih bioaerosola bolesna djeca koja zatim mogu prenijeti uzročnika bolesti na drugu djecu. Infekcije povezane s vrtićima se najčešće vezuju s bakterijama roda *Bacillus*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* i *Staphylococcus* te s gljivama roda *Aspergillus*, *Zygomycetes*, *Penicillium*, *Rhizopus* i *Fusarium*. Prisutnost bioaerosola u vrtićima i školama ovisi o broju i aktivnostima djece, temperaturi i vlažnosti zraka, vremenskim uvjetima, ventilacijskom sustavu, neadekvatnom provođenju mjera dezinfekcije te prisutnoj prašini.(12)

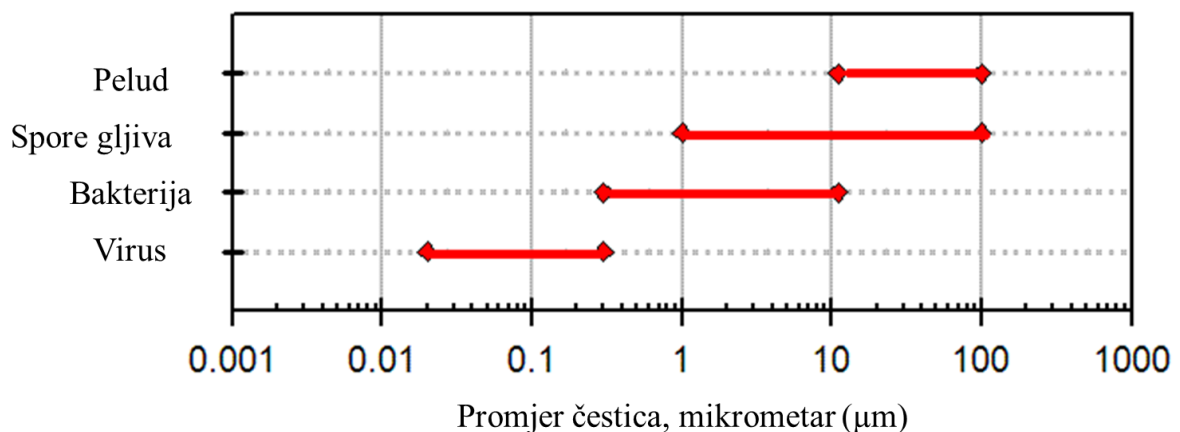
1.3. Bioaerosol

Pojam bioaerosol obuhvaća čestice mikroorganizama poput bakterija, virusa, gljiva i njihovih spora te fragmenata mikroba. Kao takvi, sveprisutni su u okolišu, odnosno atmosferi koja je temeljni posrednik u njihovu transportu. Dominantni mikroorganizmi u atmosferi su bakterije koje zbog male veličine imaju relativno dugo vrijeme zadržavanja u atmosferi i mogu se transportirati na velike udaljenosti. U zraku se mogu suspendirati kao pojedinačne stanice, ali su češće vezane za druge čestice ili se mogu naći kao nakupine većeg broja bakterijskih stanica.(13)

Osim u atmosferi, bioaerosol je prisutan i u tlu, slatkovodnim vodama te oceanima, a njihovo širenje u zrak je ograničeno vremenski i prostorno. Bioaerosoli se emitiraju iz različitih suvremenih djelatnosti poput kompostiranja, uzgoja stoke, prerade hrane, ali i močvara, urbanih i priobalnih područja.

Bioaerosol mikrobiološkom razgradnjom utječe na fizikalne i kemijske procese u atmosferi modificirajući kemijski sastav organskih tvari prilikom sudara s njima. Nadalje, bioaerosol također ima sposobnost vezanja na okolne čestice pri čemu nastaju jezgre za kondenzacijske oblake prilikom čega dolazi do značajnih klimatskih učinaka. Povećanom izloženošću bioaerosolu, kako u zatvorenom, tako i u otvorenom okruženju, u posljednjih nekoliko godina je sve istaknutija i zabrinutost zbog širokog spektra štetnih učinaka na zdravlje koja uključuju bolesti respiratornog sustava i alergije.(14)

Veličina bioaerosola se razlikuje, od približno 0,03 do 100 μm , a ovisi ponajprije o vrsti mikroorganizama, vlažnosti zraka, starosti spora, razlikama u stupnju agregacije spora i vrsti čestica s kojima su spore povezane, poput magle ili prašine. Veličine virusnih čestica su nanometrijske, dok je promjer bakterijskih stanica približno 1 μm . Veće čestice se ne prenose zrakom jer imaju tendenciju da se brzo slegnu. Mikroorganizmi se u zraku mogu raspršiti kao pojedinačne jedinice, ali često stvaraju i agregatne formacije. Upravo im takve formacije pružaju zaštitu od okolišnih stresova kao što su primjerice isušivanje i izloženost ultraljubičastom zračenju. Ukoliko se čestice ne istalože, u zraku ostaju dok se ne udahnu. Nakon udisanja, čestice većeg promjera zaostaju u gornjim dišnim putovima, dok se čestice promjera manjeg od 6 μm transportiraju u pluća pri čemu se čestice promjera 1-2 μm zadržavaju u alveolama. Smatra se da prosječna osoba dnevno udahne približno 10 m³ zraka što može predstavljati dovoljnu infektivnu dozu za određene patogene u zraku. Bolesti uzrokovane bioaerosolom zbog nusproizvoda mikrobnog metabolizma, stranih proteina kao i fragmenata stanica najčešće uključuju alergijske reakcije te iritacije i infekcije dišnog sustava.(15)



Slika 2. Usporedba veličine čestica bioaerosola (16)

Prilagođeno na hrvatski.

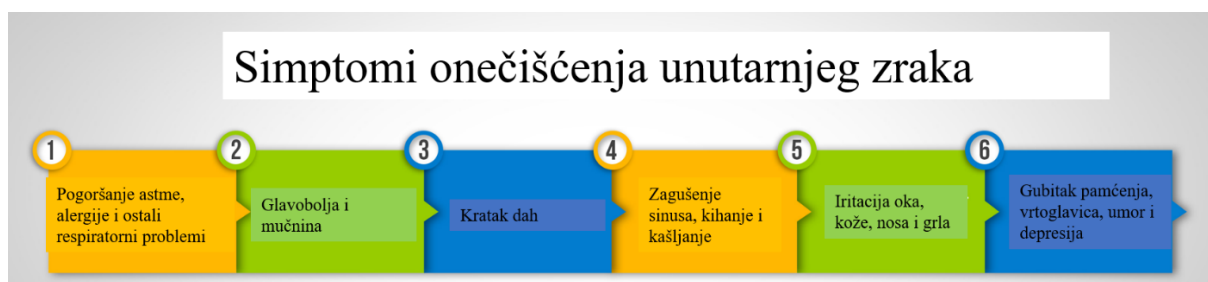
1.4. Sindrom bolesnih zgrada

Stanje koje se javlja kod ljudi kao posljedica predugog boravka u zgradama, najčešće na radnom mjestu, poznato je kao sindrom bolesnih zgrada (SBZ). Kako bi se određeno stanje moglo klasificirati kao SBZ, potrebno je da minimalno 20% osoba koje su povezane određenom zgradom imaju prisutne simptome najmanje dva tjedna. Razlikuju se respiratorni (poteškoće s

disanjem, kašalj), neurotoksični (glavobolja, vrtoglavica) te dermalni simptomi (osip na koži) kao i iritacija sluznica.(17) Za sindrom je karakteristično da se intenzitet navedenih simptoma smanjuje prilikom napuštanja zgrade, odnosno sobe. Simptomi se povezuju s nepovoljnom vlažnošću zraka, sobnom temperaturom, građevinskim materijalima, osvjetljenjem, te izloženošću mikrobima i alergenima. Također, čimbenici poput spola (ženski spol osjetljiviji), hipersenzibilnosti, pušenja, kao i vrijeme provedeno unutar zgrade utječu na same simptome.(18)

Sami simptomi SBZ su nespecifični i obično se klasificiraju u četiri kategorije: kemijski, fizički, biološki i psihološki. Kemijski onečišćivači potječu iz vanjskih ili unutarnjih izvora. Kada je riječ o vanjskim izvorima, najčešće se radi o ispušnim plinovima automobila i zgrada čiji nusproizvodi ulaze u objekt kroz različite otvore.(19) Od unutarnjih kemijskih kontaminanata, jednim od glavnih uzroka SBZ-a se smatraju hlapljivi organski spojevi koji već u malim količinama dovode do pojave simptoma. Hlapljivi organski spojevi vrlo lako isparavaju i na taj način apsorbiraju u organizam putem pluća, kože te probavnog trakta. U zatvorenim prostorima potječu iz različitih izvora kao što su primjerice građevinski materijal, uredska oprema, materijali za održavanje, dim, bojila i otapala. Fizički čimbenici uključuju temperaturu, relativnu vlažnost zraka, ventilaciju, intenzitet svjetlosti i buke, vibracije, itd.(20) Biološki kontaminanti se mogu razmnožavati u odvodnim cijevima, ventilacijskom sustavu, ovlaživačima zraka, a uključuju bakterije, viruse, plijesni i pelud. Uređaji za rashlađivanje mogu uzrokovati recirkuliranje patogena i raširiti ih po cijeloj zgradi. Psihološki čimbenici poput stresa na poslu, nezadovoljstva, loše komunikacije i međuljudskih odnosa također pridonose SBZ-a.(19)

Sam postupak dijagnosticiranja SBZ je specifičan zbog nemogućnosti utvrđivanja etiološkog uzročnika niti jedne specifične bolesti, a prisutni simptomi su povezani s boravkom u zgradi. Proučavanjem okoliša unutar zgrade, moguće je identificirati jedan ili više čimbenika koji se povezuju sa sindromom, ali uzročno-posljedične veze između određenih čimbenika i SBZ-a je teško utvrditi. Brojni slučajevi SBS-a su povezani s lošom praksom održavanja zgrada poput nedostatka održavanja sustava mehaničke ventilacije zgrade.(21)



Slika 3. Prikaz simptoma nastalih boravkom u zatvorenim prostorima loše kvalitete zraka (22)

Prilagođeno na hrvatski.

1.5. Gljive u zatvorenim prostorima

Gljivični aerosol ovisi o okruženju u kojemu je prisutan, obuhvaća spore, niti ili fragmente micelija, a razlikuje se po veličinama čestica, kao i njihovu sastavu i koncentraciji. Nadalje, aerosoli se mogu sastojati od živih ili mrtvih gljivičnih stanica povezanih s metabolitima kao što su mikotoksini i 1,3- β -D-glukani. Gljivični aerosoli koji se nalaze u atmosferi u određenom okruženju se miješaju s bakterijama, prašinom ili plinovima zbog čega su još složeniji. Koncentracije gljiva ovise o vremenu i prostoru unutar neke zgrade.(23) Prisutnost povišenog broja gljivičnih aerospora unutar zgrada je značajna jer prilikom izloženosti u zatvorenom prostoru mogu uzrokovati alergijske i razne respiratorne simptome. Respiratorne tegobe u tom slučaju najčešće uključuju pluća, nadraženost sluznice nosa i očiju, dok se alergijske reakcije javljaju kod osjetljivih ljudi. Ventilacijski sustav kao mjesto u kojem gljive aktivno rastu mogu pridonijeti njihovom širenju unutar određene zgrade. Nadalje, ventilacijskim sustavom se ispuštaju i hlapljive tvari neugodnog mirisa koje uzrokuju umor i mučninu kod izloženih osoba.(11)

Gljive obično dopijevaju u zgradu kroz sustav grijanja zraka, ventilacije i klimatizacije, kroz vrata i prozore te kao onečišćivači na građevinskom materijalu, pri čemu je vanjski zrak dominantan izvor unutarnjeg onečišćenja zraka gljivama. Koncentracije gljiva u vanjskom zraku uvelike ovise o godišnjem dobu, a veća koncentracija je prisutna prilikom toplijih razdoblja. U odnosu na vanjski zrak, koncentracije gljiva u zatvorenim prostorima su manje. Najčešće gljive u zraku, kako u zatvorenom tako i na otvorenom, su *Cladosporium*, *Penicillium*, nesporulacijske gljive i *Aspergillus*.(24)

1.6. Bakterije u zraku

Kao najrasprostranjeniji mikroorganizmi u zraku, bakterije znatno utječu na ljudsko zdravlje, regionalnu klimu i biogeokemijske cikluse. Uslijed različitih antropogenih aktivnosti kao što su primjerice poljoprivreda i stočarstvo, industrija, promet i brojne druge, koncentracija bakterijskog opterećenja u atmosferi neprestano raste te se lako prenosi i prilagođava različitim okolišnim uvjetima.(25) Nadalje, na prisutnost bakterija u zraku osim spomenutih antropogenih čimbenika, utječu i brojni drugi koji uključuju temperaturu, brzinu vjetra, relativnu vlažnost zraka (meteorološki čimbenici) kao i O₃, CO, SO₂, NO₂, PM₁₀ i PM_{2.5}. Na bakterijske zajednice prisutne u zraku veći utjecaj imaju meteorološki čimbenici od onečišćivača zraka.(26)

Bakterije su poznate kao ubikvitarni mikroorganizmi prisutni u svim vrstama staništa na Zemlji, a njihovim ključnim rezervoarom u zatvorenim prostorima se smatraju ljudi i životinje. U zatvorenim prostorima, dominantne su vrste bakterija *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. i *Bacillus* spp.(27)

Normalnu floru čovjeka čine Gram-pozitivni koki, dok su Gram-pozitivni i negativni štapići povezani s tlom i biljkama. Stoga je za očekivati kako će Gram pozitivnih koka biti više u zraku u zatvorenom i tijekom ljeta, kada je koža ljudi više izložena.(28)

1.6.1. *Staphylococcus*

Stafilokoki su Gram-pozitivne, nepokretne i asporogene bakterije, a najčešće se javljaju u parovima ili u tetradama, ali i pojedinačno te u nakupinama u obliku grozda. Bakterije roda *Staphylococcus* su katalaza pozitivni fakultativni anaerobi, a njihove kolonije su okrugle, glatke i uzdignute te mogu biti okružene zonom hemolize kada se uzgajaju na krvnom agaru. Staflokokne vrste koloniziraju kožu i sluznicu, ali mogu kolonizirati i gornje dišne putove, gastrointestinalni trakt, genitourinarni trakt te mliječne žlijezde. Čak petnaest vrsta čini normalnu ljudsku floru: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saccharolyticus*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. caprae*, *S. pasteurii*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosum*, *S. simulans*, *S. auricularis*, *S. lugdunensis* i *S. schleiferi*. Najvažnijim ljudskim patogenom se smatra *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* koji za razliku od ostalih stafilokoka ima sposobnost koagulaze krvne plazme. Također, za razliku od koagulaza negativnih stafilokoka (engl. Coagulase-negative *Staphylococci* - CoNS), *S. aureus* proizvodi i virulentne egzotoksine. No, zbog sklonosti prijanzanja na nežive predmete poput katetera i proteza, kao i sposobnosti

izbjegavanja odgovora domaćina i otpornosti na antibiotike, infekcije uzrokovane većinom CoNS-a su dugotrajne.(29)

Među sojevima unutar jedne vrste ovog roda bakterija postoji visok stupanj varijacije u prehrambenim potrebama, a općenito su prilično otporni na isušivanje i visokoosmotske uvjete. Zbog navedenih svojstava lako opstaju u okolišu i jednostavno dolazi do njihovog razmnožavanja. Patogeni stafilokoki često sadrže dodatne elemente patogeneze koji kodiraju toksine ili otpornost na antimikrobna sredstva i mogu se prenijeti u druge sojeve.

Ovisno o anatomskom mjestu, na zdravoj ljudskoj koži ili sluznici može biti $10^1 - 10^6$ CFU / cm^2 koagulaza negativnih stafilokoka. (30)

1.6.2. Prisutnost bakterija roda *Staphylococcus* u zatvorenom prostoru

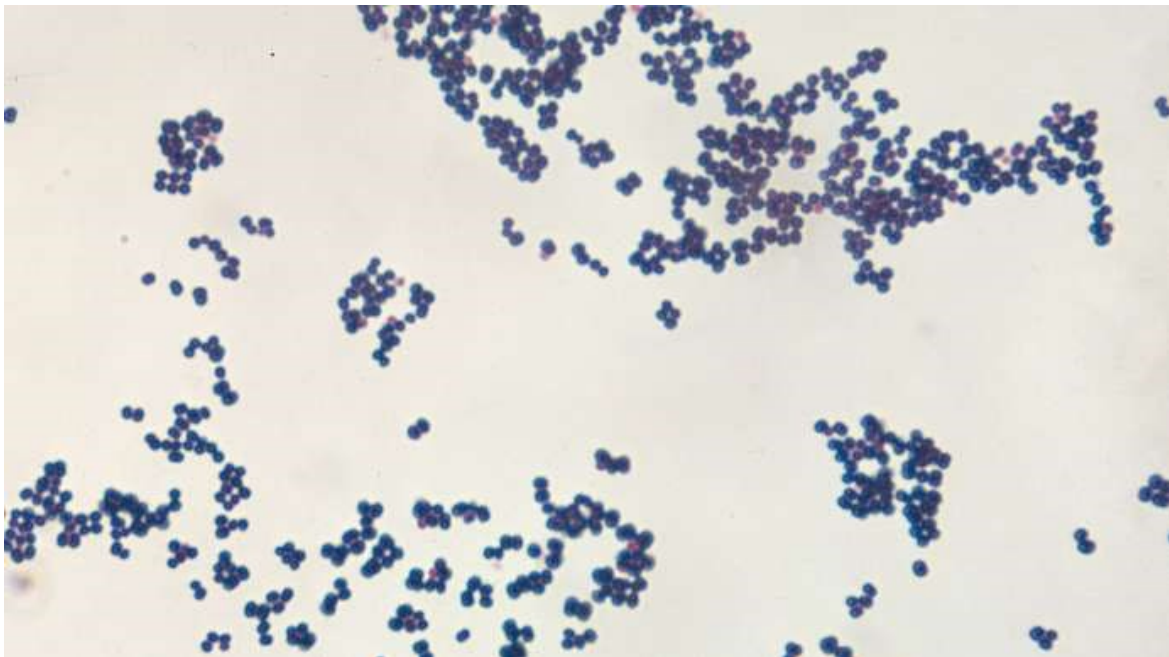
CoNS zajedno s *S. aureus* ima visoku stopu preživljavanja u suhom okruženju pa su stoga izdržljivi u okolišu. Upravo zbog njihovog spomenutog svojstva, zrak predstavlja mogući način prijenosa stafilokoka putem aerosola. Broj ukupnih bakterija u zraku u zatvorenom je značajno povezan s brzinom strujanja zraka, relativnom vlažnošću zraka, godišnjim dobom, ali i prisutnošću ljudi u zatvorenom prostoru.(31)

1.6.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus trajno kolonizira nosnice 20% ljudskog stanovništva, privremeno 60% dok preostalih 20% ni u jednom trenutku nije kolonizirano sa *S.aureus*. Nazalna kolonizacija, posebice kod imunokompromitiranih osoba, povećava rizik nastanka infekcija, pa je stoga upravo nazalna dekolonizacija učinkovita metoda za prevenciju nastanka invazivnih infekcija.(32) Nadalje, prilikom kontakta s oštećenim tkivom domaćina, *S. aureus* kao oportunistički bakterijski patogen, može izazvati infekciju. Dolaskom u krvotok može uzrokovati pneumoniju, endokarditits ili bakterijemiju. Ključan problem prilikom liječenja infekcije uzrokovane ovom vrstom stafilokoka predstavlja stečena otpornost na brojna antimikrobna sredstva zbog čega predstavlja značajnu prijetnju javnom zdravlju.(33) Virulencija *S. aureus* ovisi o regulacijskom sustavu koji se aktivira ovisno o signalima okoliša modulirajući tako ekspresiju gena. Osim spomenutih vanjskih, odnosno okolišnih čimbenika, *S. aureus* reagira i na staničnu gustoću pomoću autoinduciranog kvorumskog signala.(34)

Većina infekcija uzrokovanih *S. aureus*-om se razvija u gnojnu leziju uzrokovanu akutnom upalom. Nastaju apscesi s gnojnim središtem koji sadrže leukocite, tekućinu i bakterije. Do infekcije može doći na bilo kojem dijelu tijela, a septikemijom se bakterija može proširiti po raznim dijelovima tijela prilikom čega može doći do nastanka apscesa iznutra.

Određeni sojevi *S. aureus* proizvode egzotoksine koji pridonose nastanku dviju bolesti; sindromu toksičnog šoka i stafilokoknom sindromu ogoljele kože. U obje bolesti, egzotoksini se oslobađaju tijekom infekcije, difundiraju se s mjesta infekcije i prenose se krvlju na druga mjesta u tijelu zbog čega se simptomi razvijaju i na mjestima udaljenim od infekcije. Sindrom toksičnog šoka je akutna, po život opasna bolest, posredovana stafilokoknim superantigenim egzotoksinima. Stafilokokni sindrom ogoljele kože (Ritterova bolest) uzrokovan je egzotoksinom eksfolijatinom (tzv. epidermolizin) tipa A i B, a karakteriziran je dermatološkim abnormalnostima. (30)



Slika 4. Mikroskopski prikaz kulture *Staphylococcus aureus* (35)

1.6.4. *Staphylococcus chromogenes*

Staphylococcus chromogenes pripada skupini CoNS-a, a izvorno se smatrao podvrstom *Staphylococcus hyicus*-a. Ne uzrokuje hemolizu, a njegove kolonije su pod mikroskopom vidljive kao žuto-narančasti koki. *S. chromogenes* se smatra najrasprostranjenijom vrstom

CoNS-a povezanih sa subkliničkom intramamarnom infekcijom u mliječnih goveda. Također, povezuje se i s trajnim infekcijama i povišenim brojem somatskih stanica mlijeka. (36)

1.6.5. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis dio je normalne ljudske mikrobiote, a obično se nalazi na koži i sluznici. Pomoću specifičnih adhezina pridržava se na površini tkiva domaćina te je sposoban uspostaviti cjeloživotni komenzalni odnos s ljudima. Smatra se da kao komenzal, *S. epidermidis* pruža različite dobrobiti ljudskom domaćinu među kojima je i nadmetanje virulentnijim patogenima.(37) Međutim, zbog sposobnosti stvaranja biofilma na materijalu i tkivima implantata, *S. epidermidis* se smatra jednim od glavnih uzročnika bolničkih infekcija. Broj infekcija uzrokovanih njime neprestano se povećava s rastućim brojem imunokompromitiranih pacijenata u bolnicama i raširenom uporabom protetskih i ostalih medicinskih uređaja. Iako infekcije uzrokovane ovom vrstom u rijetkim slučajevima postaju po život opasne, predstavljaju značajan teret za zdravstveni sustav zbog njihove velike pojavnosti i poteškoća u njihovu liječenju. Iako čini više od 90% aerobne rezidencijalne flore kože, ako se kod imunokompromitiranih osoba u organizam unese sistemski, *S. epidermidis* može uzrokovati sepsu, endokarditis i niz drugih akutnih ili kroničnih stanja. (38)

1.6.6. *Staphylococcus haemolyticus*

Staphylococcus haemolyticus spada u skupinu CoNS-a, a kao komenzal nastanjuje kožu. *S. haemolyticus* ima sposobnost stvaranja biofilma uz pomoć kojeg inhibira rast drugih bakterija, smanjujući njihovu sposobnost stvaranja biofilma i na taj način doprinosi uspostavljanju infekcije. Zbog prilagodbe i razvijene rezistencije na različite antibiotike, često sudjeluje u oportunističkim infekcijama kod imunokompromitiranih pacijenata te uzrokuje ozbiljne infekcije u različitim organskim sustavima, uključujući meningitis, endokarditis i bakterijemiju.(39)

1.6.7. *Staphylococcus lentus*

Staphylococcus lentus je koagulaza negativni stafilokok iz skupine *Staphylococcus sciuri*. U tu skupinu se uz njega ubrajaju *S. sciuri* i *S. vitulinus*. Stafilokoki ove vrste rašireni su u prirodi, a poznati su kao životinjski patogeni izolirani iz sisavaca, pilića, glodavaca, ali i poljoprivrednih

terena i vode. Ukoliko koloniziraju ljudski organizam mogu dovesti do ozbiljnih infekcija kao što su primjerice endokarditis, septički šok, infekcija mokraćnog sustava, infekcija rana, endoftalmitis i upalna bolest zdjelice. U usporedbi s ostalim članovima ove skupine, *S. lentus* je najosjetljiviji na antibiotike zbog izostanka Mec A gena koji je prisutan kod ostala dva stafilokoka ove skupine.(40)

1.6.8. *Acinetobacter lwoffii*

Općenito, bakterije roda *Acinetobacter* su ubikvitarne i često se nalaze u tlu, vodi, suhom okruženju i bolnicama, a kao izvor energije mogu koristiti širok spektar podloga. U hrani pretežno iz ovog roda dominiraju *A. lwoffii* i *A. johnsonii*, a pronalaze se na slanini, piletni, jajima i ribi koji se čuvaju u hladnjaku. *A. lwoffii* može rasti na širokom rasponu temperatura, a na suhim površinama može preživjeti u prosjeku 10,2 dana. Također, izolati *A. lwoffii* su se pokazali relativno otpornim na zračenje što zbog njihove postojanosti na medicinskim uređajima koji se steriliziraju zračenjem, posebno u jedinicama intenzivne njege, predstavlja problem. Nadalje, navedeni mikroorganizmi također imaju sposobnost preživljavanja izloženosti najčešće korištenim dezinficijensima poput klorheksidin glukonata i fenola.

Većina slučajeva infekcije uzrokovanih rodom *Acinetobacter* javlja se u bolesnika s oštećenim imunološkim sustavom. Čimbenici rizika koji pridonose nastanku infekcije kod pacijenata uključuju maligne bolesti, opekline, imunosupresiju i veće kirurške zahvate. Povremeno se javljaju i sporadični slučajevi u zdravih osoba izloženih izvorima iz okoliša. Glavne vrste povezane s bolničkim infekcijama su *A. baumannii*, *Acinetobacter* sp. 3, *A. johnsonii* i *A. lwoffii*. (41)

Acinetobacter lwoffii je nefermentirajući, aerobni, Gram-negativni bacil. U približno 25% zdravih osoba smatra se normalnom florom orofarinksa i kože. Potencijalni je oportunistički patogen u bolesnika s oštećenim imunološkim sustavom, a identificiran je kao uzrok bolničkih infekcija poput septikemije, upale pluća, meningitisa, mokraćnog sustava, infekcije kože i rana.

Strana tijela, poput primjerice katetera, igraju ključnu ulogu u patogenezi bakterijemije uzrokovane bakterijom *A. lwoffii*. Infekcije krvotoka su uglavnom povezane s kateterom. Postoji samo nekoliko zabilježenih slučajeva bakterije *Acinetobacter lwoffii* u imunokompromitiranih bolesnika.(42)

1.6.9. *Bacillus* spp.

Bakterije roda *Bacillus* čine Gram-pozitivni, aerobni i spirogeni bacili široko rasprostranjeni u prirodi. Prisutni su u tlu, prašini i vodi, ali i u ljudima, životinjama te biljkama. Većina bakterija roda *Bacillus* se smatra apatogenim, ali pojedine vrste stvaranjem različitih toksina mogu izazvati bolesti kod ljudi i životinja. (43)

Zbog sposobnosti stvaranja endospora, bakterije roda *Bacillus* mogu preživjeti u različitim uvjetima, uključujući i ekstremne temperature, pH vrijednosti i koncentracije soli. Osim endospora, kako bi preživjeli u dužim stresnim okolišnim uvjetima, *Bacillus*-i su razvili višeslojnu staničnu stijenku te sposobnost izlučivanja peptidnih signalnih molekula, peptidnih antibiotika i izvanstaničnih enzima. S druge strane, kako bi se prilagodili okruženjima koja se brzo mijenjaju, modificiraju DNA zbog čega nastaju različite fenotipske varijacije. (44)

Bakterije roda *Bacillus* se često koriste kao sredstva za prevenciju ili liječenje različitih biljnih i životinjskih infekcija zbog antimikrobne aktivnosti protiv mnogih bakterijskih i gljivičnih patogena. (45)

1.6.10. *Corynebacterium* spp.

Bakterije roda *Corynebacterium* su Gram-pozitivni, asporogeni, nepokretni, katalaza pozitivni bacili čiji oblik je često nalik na palicu. Većina bakterija roda *Corynebacterium* su normalna flora kože i nazofarinksa. (46) Smatraju se oportunističkim patogenima jer imaju nizak indeks patogenosti, a kao takvi povezuju se s bakterijemijom, endokarditisom, upalom pluća, infekcijama mokraćnog sustava te protetskim dodacima u imunokompromitiranih domaćina. (47)

1.6.11. *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus je Gram-pozitivni nepokretni koki karakteristične žute boje koji formira tetrade ili čini nepravilne nakupine. Prisutan je u tlu, prašini i vodi, ali je i dio normalne flore kože ljudi. Smatra se oportunističkim patogenom te može uzrokovati infekcije kože, bolničke infekcije te septički šok kod osoba oslabljenog imuniteta. Prilikom identifikacije se često zamijeni sa *S. aueris*-om, pa su za identifikaciju značajna obilježja da je katalaza i ureaza pozitivan, a koagulaza negativan mikroorganizam. (48)

1.6.12. *Micrococcus* spp.

Bakterije roda *Micrococcus* su Gram-pozitivni, asporogeni koki čiji promjer iznosi 0,5–2,0 µm. Javljaju se u parovima, tetradama ili nepravilnim nakupinama. Radi se o obligatnim aerobima, pozitivnim na katalazu. Optimalna temperatura za rast mikrokoka je u rasponu 25-37 °C, a rastu na jednostavnim podlogama stvarajući kolonije sa žutim ili crvenim pigmentom. Mikrokoki se obično nalaze u različitim kopnenim i vodenim ekosustavima, uključujući tlo, slatku i morsku vodu, pijesak i vegetaciju. Koža toplokrvnih životinja, uključujući i ljude, glavni je spremnik za sojeve *Micrococcus*-a koji često kontaminiraju hranu životinjskog podrijetla. (49)

1.7. Maske i pandemija COVID-19

S pojavom globalne pandemije COVID-19 uzrokovane SARS-CoV-2, nastupile su preporuke Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), a nakon određenog vremena i obveze nošenja zaštitnih maski za lice u zajednici kako bi se spriječio daljnji prijenos virusa.(50) Smatra se da je glavni izvor zaraze putem respiratornih kapljica koje sadrže virus između 5 i 10 µm i kroz aerosole manje od 5 µm, a do širenja virusa dolazi putem zraka i kontakta. Zračni prijenos rezultira izravnom infekcijom zbog udisanja kapljica u zraku. Prijenos kontakta rezultat je slijetanja kapljica na pojedinca, koje se zatim prenose na područje gdje se može dogoditi infekcija, na primjer rukom koja dodiruje lice. I kapljice u zraku i kontaktne kapi mogu se prenositi unutar 1 m od osobe koja je zaražena virusom te zakašlje ili kihne.(51)

Izraz „maska za lice“ označava zaštitnu opremu čija je primarna funkcija smanjenje prijenosa kapljica ili čestica. Kirurške maske za lice su primarno uvedene kako bi zaštitile osobe koje se nalaze u neposrednoj blizini njihovog nositelja, primjerice kako bi se od kirurškog tima zaštitili pacijenti s otvorenim ranama. Stoga je zbog pretpostavke da će nošenje maske za lice smanjiti širenje respiratornih kapljica koje sadrže virus SARS-CoV-2, uvedena obveza njihova nošenja. (52)

Učinkovitost maske za lice definirana je s dva značajna čimbenika - učinkovitosti filtriranja i prijanjanja uz lice. Učinkovitost filtriranja je pokazatelj koliko dobro maska filtrira čestice u određenom rasponu veličina (uključujući viruse i druge mikroorganizme), dok prijanjanje maske uz lice služi kao pokazatelj koliko dobro maska spriječava širenje čestica zajedno s kapljicama izvan maske. Na temelju prethodno opisane učinkovitosti filtriranja i standarda Food and Drugs Administration (FDA), zaštitne maske se mogu svrstati u tri kategorije

označene brojevima 1,2 i 3. Najveća učinkovitost bakterijske filtracije označava se razinom 3. Maske s filterom imaju sposobnost sprječavanja prolaska vrlo malih čestica ($<5 \mu\text{m}$) kroz respiratorni trakt osobe. Kirurške maske su u usporedbi s filter maskama manje učinkovite.(51)

1.7.1. Povijest zaštitnih maski za lice

Prva zabilježena upotrebljena medicinska maska se sastojala od jednog sloja gaze koja je prekrivala usta nakon čega je uočeno kako maske mogu smanjiti širenje kapljica iz korisnikovih usta. Daljnjim proučavanjima primijećeno je da se povećanjem slojeva gaze povećava i stupanj zaštite upotrebljene maske. Do prve šire upotrebe "štitnika za usta" došlo je 1905. godine kako bi se spriječio prijenos tuberkuloze zaustavljanjem kapljica koje se šire iz usta oboljelog. S vremenom su za proizvodnju maski uvedeni i slijedeći zahtjevi; materijal treba biti periv, usta i nos trebaju biti prekriveni te ne smije dolaziti do prijenosa mikroorganizama kroz materijal. Kako bi se povećala učinkovitost maski, između slojeva gaza počeli su se stavljeti različiti materijali. Daljnjim razvojem maski pokazalo se da su maske na bazi filtra učinkovitije. Šezdesetih godina prošlog stoljeća razvijene su maske koje sadrže filtre od polipropilena.(51)

Kirurške (medicinske maske) i respiratorne N95 maske namijenjene su prvenstveno zaštititi korisnika od čestica i kapljica prisutnih u zraku, kao i od tjelesnih ili drugih opasnih tekućina. Kirurške maske stvaraju fizičku barijeru između usta i nosa korisnika i potencijalnih onečišćivača u njegovoj neposrednoj okolini dok N95 maske postižu vrlo učinkovitu filtraciju čestica prisutnih u zraku zbog vrlo bliskog prilijeganja licu.

Maske od tkanine (nemedicinske maske) se proizvode od različitih materijala ili kombinacije materijala kao što je primjerice šifon, pamuk, flanel ili svila, a dizajnirane su da smanje prijenos respiratornih kapljica prilikom disanja, govora ili kašljanja. Korištenjem platnenih maski ne postiže se zaštita osobe koja koristi masku, već zaštita ljudi u njegovoj neposrednoj blizini.(53)

1.7.2. Platnena maska

Korištenje platnenih maski, od kojih su mnoge napravljene u kućnoj radinosti, postalo je široko rasprostranjeno kao odgovor na pojavu SARS-CoV-2. Međutim, o njihovoj učinkovitosti filtracije različitih veličina aerosola u rasponu od 10 nm do 10 μm su dostupni ograničeni podaci.

U članku *Aerosol Filtration Efficiency of Common Fabrics Used in Respiratory Cloth Masks* ispitivana je učinkovitost filtracije aerosolnih čestica platnenim maskama načinjenim od različitih dostupnih tkanina. Rezultati su pokazali da pamuk, prirodna svila i šifon ukoliko imaju čvrsto tkanje mogu pružiti dobru zaštitu, obično iznad 50%. Nadalje, učinkovitost filtriranja četveroslojne svile u rasponu veličine aerosolnih čestica 10 nm - 6 μ m je iznosila > 85%. Također, pokazalo se kako otvori i procjepi (poput onih između ruba maske i kontura lica) znatno utječu na učinkovitost maske, pri čemu se učinkovitost može pogoršati za čak 50% ili više.(54)

Maske za svakodnevnu upotrebu izrađene od tkanine i drugih materijala ne pružaju zaštitu korisniku od zaraze uzrokovane SARS-CoV-2. Međutim, moguć je smanjeni prijenos kapljica, posebno tijekom izdisaja, što u konačnici rezultira smanjenjem potencijalnog širenja virusa. Stoga se platnene maske ne koriste u zdravstvenom sustavu, ali se preporučuju široj populaciji za šetnju, kupovinu ili za vrijeme boravka u javnom prijevozu.(55)

1.7.3. Kirurška maska

Kirurška maska je izrađena od najmanje troslojnog materijala, primjerice polipropilena, a njezina učinkovitost filtriranja bakterija treba iznositi najmanje 80%. Kirurške maske nemaju adekvatne značajke filtriranja kako bi pružile zaštitu dišnim sustavima, a pomažu u sprječavanju onečišćenja radnog okruženja ili sterilnog polja od velikih čestica koje stvara osoba koja ih nosi.(56) Dakle, kirurške maske se koriste za vrijeme operacijskih zahvata jer služe kao barijera bakterijama prisutnim u kapljicama izlučevina iz usta i nosa medicinskog osoblja. Disanje, kao i ostale uobičajene aktivnosti poput kihanja, kašljanja i govora oslobađaju različite oralne, dermalne i nazofaringealne bakterije koje mogu uzrokovati postoperativne infekcije. Sposobnost mikroorganizama da prodru u masku za lice ovisi o njihovim karakteristikama kao što su oblik i veličina. U bolničkom okruženju susreću se različiti patogeni kao što su *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* i *Candida albicans*, a koji su uzročnici bolničkih infekcija.(57)

Medicinske kirurške maske su jednokratne, odnosno nisu namijenjene korištenju više od jednog puta, a njihova djelotvornost odnosno učinkovito vrijeme zaštite je ograničeno na 4 sata. Medicinske kirurške maske imaju sposobnost blokiranja čestica većih od 5 μ m zbog čega mogu zaustaviti širenje kapljica.(58)

1.7.4. FFP maske

Općenito, FFP maske (engl. filtering facepiece) se upotrebljavaju za sprječavanje ulaska patogena kroz dišni sustav, a uloga im je zaštititi kako osobu koja ih koristi, tako i ljude u njezinoj neposrednoj blizini. Razlikuju se od medicinskih maski (koje se često nazivaju kirurškim maskama) i od samostalno izrađenih platnenih maski za svakodnevnu upotrebu. Naime, navedene maske za razliku od FFP maski nisu „nepropusne“ i ne pružaju potpunu zaštitu dišnih putova jer zrak može prolaziti kroz njih. FFP maske mogu biti s ventilom ili bez. FFP s ventilima omogućuju protok zraka iznutra u vanjsku stranu maske.(55)

FFP maske se klasificiraju u tri kategorije; FFP1, FFP2 i FFP3. Učinkovitost filtriranja prve maske iz ove kategorije - FFP1 iznosi 80%, potom slijedi FFP2 s učinkovitošću od 94% i u konačnici FFP3 maska s učinkovitosti filtriranja od čak 99%.

Naime, FFP1 maske su prvenstveno maske sa sposobnošću filtriranja prašine, stoga su prikladne za radna okruženja u kojima se nalazi samo netoksična prašina, dok su FFP2 maske prikladne za radna okruženja u kojima se u sastavu zraka nalaze patogeni i mutageni. FFP2 maske, kao i N95, zadovoljavaju skup strožih zaštitnih normi, a štite osobu koja ih nosi, jer zadržavaju > 95% čestica i kapljica prilikom udisanja. U konačnici, FFP3 maske su još djelotvornije od FFP2 maski, pa još više štite korisnika jer se > 99% kapljica i čestica filtrira prilikom udisanja.(55)



Slika 5. Prikaz različitih kategorija FFP maski- FFP1, FFP2 i FFP3. (59)

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Uz različite ljudske aktivnosti i brojne kemikalije, danas sve značajniji izvor onečišćenja zraka predstavljaju mikroorganizmi prisutni u okolišu. Aktualna pandemija uzrokovana SARS-CoV-2 nametnula je obvezu nošenja zaštitnih maski za lice. Uz pretpostavku da će zaštitne maske za lice filtrirati bakterije, kvasce i plijesni, cilj ovog diplomskog rada bio je prikazati, odnosno usporediti stupanj djelotvornosti filtriranja navedenih mikroorganizama prisutnih u odgojno-obrazovnim ustanovama korištenjem različitih vrsti zaštitnih maski za lice. Kako bi se utvrdila učinkovitost određenih maski, u ovom radu su korištene hranjive podloge (Tryptic Soy Agar, Sabouraud, kromogeni te krvni agar) te tri vrste zaštitnih maski - jednoslojna platnena, kirurška te FFP2 maska.

3. MATERIJALI I METODE

Zrak se uzorkovao u dječjem vrtiću u skupinama Ribice i Bubamare te u osnovnoj školi u 4.b i 8.b razredu. Uzorci zraka su uzeti za vrijeme boravka djece u vrtiću, odnosno za vrijeme odvijanja nastave u školi kako bi se dobio uvid u učinkovitost filtriranja maski na bakterije, kvasce i plijesni koji su prisutni u ispitivanim skupinama spomenutih ustanova. U vrtičkim skupinama (Ribice i Bubamare) mjerenja su provedena 18.02.2021., dok su u školi (4.b i 8.b) provedena 24.02.2021.

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Hranjive podloge

3.1.1.1. Tryptic Soy Agar (Biolife, Italija)

Triptoza sojin agar (engl. Tryptic Soy Agar (TSA)) je neselektivni medij koji se koristi za rast širokog spektra mikroorganizama zbog toga što sadrži brojne hranjive tvari korisne bakterijama (dušik, vitamini i minerali). Glukoza služi kao izvor ugljikohidrata, a natrijev klorid pospješuje održavanje osmotske ravnoteže. Primjena TSA- a je raznovrsna, a uključuje različita ispitivanja okoliša, hrane, vode, kozmetike i industrije.

Nakon suspendiranja TSA-a u hladnoj destiliranoj vodi, dobivena je suspenzija koja je potom i sterilizirana u autokavu na 121°C tijekom 15 minuta. Nakon hlađenja na temperaturi od 50°C suspenzija je prelivena u Petrijeve zdjelice i kao takva ostavljena na sobnoj temperaturi. Po završetku uzorkovanja zraka, Petrijeve zdjelice s TSA-om su inkubirane na 36°C tijekom 48 h, nakon čega su prebrojane porasle bakterijske kolonije.(60)

3.1.1.2. Kromogeni agar

Kromogeni agar je diferencijalna podloga koja sadrži dva specifična kromogena supstrata koje metaboliziraju mikroorganizmi oslobađajući kromogen pri čemu dolazi do promjene boje medija. *BrillianceTM* UTI agar (Oxoid, Engleska) je kromogeni medij koji služi za identifikaciju i diferencijaciju onih mikroorganizama koji su glavni uzročnici infekcija mokraćnog sustava.

Nakon suspendiranja *Brilliance*TM UTI agara u destiliranoj vodi, dobivena otopina je stavljena u autoklav na 121°C tijekom 15 min kako bi se sterilizirala. Dobivena suspenzija je ohlađena (50°C) te prelivena u Petrijeve zdjelice. Nakon uzorkovanja, Petrijeve zdjelice s kromogenim agarom stavljene su na inkubaciju tijekom 48 h na temperaturu od 37°C nakon čega su prebrojne različito obojene bakterijske kolonije.(61)

3.1.1.3. Krvni agar

Krvni agar je neselektivni medij koji služi za diferencijaciju bakterijskih vrsta na temelju stupnja hemolize različitih mikroorganizama kao što su primjerice *Staphylococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium* spp., *Campylobacter jejuni* i *Actinomyces* spp. Dok peptoni predstavljaju izvor dušika i ugljika bitnih za rast bakterija, a natrijev klorid održava osmotsku ravnotežu, dodatak ovčje krvi omogućuje uočavanje nastale hemolize koja omogućuje identificiranje mikroorganizama.

Krvni agar N° 2, proizvođača Biolife (Blood agar base N° 2, Biolife) suspendiran je u hladnoj destiliranoj vodi. Dobivena suspenzija je zagrijavana, a potom i sterilizirana u autoklavu na 121°C tijekom 15 minuta. Nakon hlađenja na temperaturi od 50°C suspenzija je obogaćena dodatkom 5%-tne defibrirane ovčje krvi, nakon čega je dobro promiješana i prelivena u Petrijeve zdjelice i kao takva ostavljena na sobnoj temperaturi. Po završetku uzorkovanja zraka, Petrijeve zdjelice s krvnim agarom su inkubirane na 37°C tijekom 48 h nakon čega se promatralo je li prisutna hemoliza i u kojem stupnju.(62)

3.1.1.4. Sabouraud dekstroza agar

Sabouraud dekstroza agar je neselektivni medij koji služi za izolaciju i identifikaciju kvasaca i plijesni, posebice dermatofita. Niski pH pogodan je za rast gljiva, a služi i kao inhibitor za rast bakterija. Glukoza u visokim koncentracijama predstavlja izvor energije i ugljika.

Sabouraud Dextrose Agar proizvođača Biolife suspendiran je u hladnoj destiliranoj vodi. Kako bi se dobivena suspenzija sterilizirala, stavljena je u autoklav na 121°C tijekom 15 min nakon čega je ohlađena i prelivena u Petrijeve zdjelice. Nakon uzorkovanja zraka, Petrijeve zdjelice sa Sabouraud dekstroza agarom stavljene su na inkubaciju tijekom 5 dana na temperaturu od 25°C nakon čega su prebrojani porasli kvasci i plijesni.(63)

3.1.2. MAS-100 uređaj (Merck)

MAS-100 je instrument koji kroz perforiranu glavu uvlači zrak, a temelji se na principu Andersenovog uzorkovača. Izabrani volumen zraka se zatim usmjerava na Petrijevu zdjelicu s izlivenim agarom. Nakon provedenog uzorkovanja, Petrijeva zdjelica se stavlja na inkubaciju pri određenoj temperaturi te se porasle kolonije prebroje, a rezultat interpretira kao CFU/L. Mjereći protok zraka na ulazu, sistem regulira volumen na vrijednost od 100 L zraka u minuti. U slučaju da ugrađeni senzor ne registrira 100 L zraka u minuti, zbog vanjskih čimbenika koji sprječavaju stabilan protok zraka ili ako ga blokira prenapunjena Petrijeva zdjelica, uzorkovanje se zaustavlja te je potrebno ukloniti Petrijevu zdjelicu i započeti novo mjerenje.[64]

3.1.3. Zaštitne maske za lice

- Jednoslojna platnena maska; MAS1- MASKICA ZA LICE; Proizvođač: RT 2 d.o.o.
- Kirurška maska; Kirurška maska za lice; Proizvođač; DELT Papir d.o.o.; Stavlja na tržište: Hygiene4 you;
- FFP2 maska; Particle Filtering Half Mask; Proizvođač: Innovation for you; Klasifikacija: FFP2 NR; Model:DM9501; LOT: 603744

3.1.4. Ostali materijali

- Termometar s vlagomjerom
- Alkohol za dezinfekciju
- Petrijeve zdjelice
- Inkubator (Binder, Njemačka)
- Eza
- Pokrovno stakalce
- Plamenik
- Gram kristalviolet 1%-tna otopina (Biognost, Hrvatska)
- Gram lugolova otopina (Biognost, Hrvatska)
- Gram dekolorizator (Biognost, Hrvatska)
- Gram safranin (Biognost, Hrvatska)
- Svjetlosni mikroskop (Olympus)

- Filter papir
- TMPD (hidroklorid) (Cayman chemical company, SAD)
- API Staph biokemijski niz (Biomérieux, France)
- 3%-tna otopina H₂O₂
- Kapaljka
- Automatska pipeta
- Fiziološka otopina
- Plazma

3.2 METODE

3.2.1. Uzorkovanje zraka pomoću MAS-100 uređaja

Prilikom uzorkovanja zraka, MAS-100 uređaj je stavljen na čvrstu podlogu te je okretanjem udesno otvorena perforirana glava uređaja. Zatvorena Petrijeva zdjelica je stavljena na vrh podloge uređaja te je uklonjen poklopac. Nakon što se glava uređaja zatvorila, namješten je kut uzorkovanja zraka. Izabrao se volumen uzorkovanja od 250 litara, skinuo zaštitni poklopac i započeo ciklus uzorkovanja pritiskom na tipku „Yes“ u izborniku „Start “. Nakon završenog uzorkovanja uključila se crvena lampica te se na ekranu prikazala vrijednost uzorkovanog volumena (250 L). Zatim je otvorena glava uzorkovača te se Petrijeva zdjelica, spremna za inkubaciju, zatvorila. Postupak je ponovljen 64 puta, odnosno u svakoj skupini je provedeno kontrolno mjerenje te mjerenja s platnenom, kirurškom i FFP2 maskom na sva 4 primijenjena agara.



Slika 6. Uzorkovanje zraka korištenjem MAS-100 uređaja.

Izvor: Lucija Ražov



Slika 7. Uzorkovanje zraka korištenjem platnene zaštitne maske za lice MAS-100 uređajem.

Izvor: Lucija Ražov



Slika 8. Uzorkovanje zraka korištenjem kirurške zaštitne maske za lice MAS-100 uređajem.

Izvor: Lucija Ražov

3.2.2. Određivanje broja poraslih bakterijskih kolonija te kvasaca i plijesni

Kako bi se odredio ukupni broj aerobnih mezofilnih bakterija korišten je TSA, dok je za ukupan broj kvasaca i plijesni korišten Sabouraud agar. Krvni agar je korišten kako bi se dobio uvid stvaraju li bakterije alfa, beta ili gama hemolizu. Nadalje, za određivanje broja poraslih kolonija točno određenih bakterijskih vrsti, korišten je kromogeni agar.

3.2.3. Obrada rezultata

Zbog činjenice da porastom broja mikroorganizama, odnosno čestica koje udaraju o ploču, raste i vjerojatnost da dvije čestice prođu kroz isti otvor, a da pri tome nastaje samo jedna kolonija, za određivanje broja mikroorganizama se koristi tablica statističkih korekcija prema Feller-u. Korekcija se provodi prema slijedećoj formuli:

$$Pr = N (1/N + 1 N/N-1 + 1/N-2 \dots 1/N-r +1)$$

Pri čemu Pr označava vjerojatni (statistički) ukupni broj, r broj izbrojanih kolonija, a N broj otvora na glavi uređaja (400).

R	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r
1	1	51	54	101	116	151	189	201	279	251	394	301	557	351	836	
2	2	52	56	102	118	152	191	202	281	252	397	302	561	352	844	
3	3	53	57	103	119	153	193	203	283	253	400	303	565	353	853	
4	4	54	58	104	120	154	194	204	285	254	402	304	569	354	861	
5	5	55	59	105	122	155	196	205	287	255	405	305	573	355	870	
6	6	56	60	106	123	156	197	206	289	256	408	306	578	356	879	
7	7	57	61	107	124	157	199	207	291	257	411	307	582	357	888	
8	8	58	63	108	126	158	201	208	293	258	413	308	586	358	897	
9	9	59	64	109	127	159	202	209	295	259	416	309	591	359	907	
10	10	60	65	110	128	160	204	210	297	260	419	310	595	360	917	
11	11	61	66	111	130	161	206	211	299	261	422	311	599	361	927	
12	12	62	67	112	131	162	207	212	301	262	425	312	604	362	937	
13	13	63	68	113	133	163	209	213	304	263	428	313	608	363	947	
14	14	64	70	114	134	164	211	214	306	264	431	314	613	364	958	
15	15	65	71	115	135	165	212	215	308	265	433	315	618	365	969	
16	16	66	72	116	137	166	214	216	310	266	436	316	622	366	981	
17	17	67	73	117	138	167	216	217	312	267	439	317	627	367	992	
18	18	68	74	118	140	168	218	218	314	268	442	318	632	368	1005	
19	19	69	76	119	141	169	219	219	317	269	445	319	637	369	1017	
20	20	70	77	120	142	170	221	220	319	270	449	320	642	370	1030	
21	22	71	78	121	144	171	223	221	321	271	452	321	647	371	1043	
22	23	72	79	122	145	172	224	222	323	272	455	322	652	372	1057	
23	24	73	80	123	147	173	226	223	325	273	458	323	657	373	1071	
24	25	74	82	124	148	174	228	224	328	274	461	324	662	374	1086	
25	26	75	83	125	150	175	230	225	330	275	464	325	667	375	1102	
26	27	76	84	126	151	176	232	226	332	276	467	326	673	376	1118	
27	28	77	85	127	153	177	233	227	335	277	471	327	678	377	1134	
28	29	78	87	128	154	178	235	228	337	278	474	328	684	378	1152	
29	30	79	88	129	156	179	237	229	339	279	477	329	689	379	1170	
30	31	80	89	130	157	180	239	230	342	280	480	330	695	380	1189	
31	32	81	90	131	158	181	241	231	344	281	484	331	701	381	1209	
32	33	82	92	132	160	182	242	232	346	282	487	332	706	382	1230	
33	34	83	93	133	161	183	244	233	349	283	491	333	712	383	1252	
34	35	84	94	134	163	184	246	234	351	284	494	334	718	384	1276	
35	37	85	95	135	164	185	248	235	353	285	497	335	724	385	1301	
36	38	86	97	136	166	186	250	236	356	286	501	336	730	386	1327	
37	39	87	98	137	167	187	252	237	358	287	504	337	737	387	1356	
38	40	88	99	138	169	188	254	238	361	288	508	338	743	388	1387	
39	41	89	101	139	171	189	255	239	363	289	511	339	749	389	1420	
40	42	90	102	140	172	190	257	240	366	290	515	340	756	390	1456	
41	43	91	103	141	174	191	259	241	368	291	519	341	763	391	1496	
42	44	92	104	142	175	192	261	242	371	292	522	342	769	392	1541	
43	45	93	106	143	177	193	263	243	373	293	526	343	776	393	1591	
44	47	94	107	144	178	194	265	244	376	294	530	344	783	394	1648	
45	48	95	108	145	180	195	267	245	378	295	534	345	791	395	1715	
46	49	96	110	146	181	196	269	246	381	296	537	346	798	396	1795	
47	50	97	111	147	183	197	271	247	384	297	541	347	805	397	1895	
48	51	98	112	148	185	198	273	248	386	298	545	348	813	398	2028	
49	52	99	114	149	186	199	275	249	389	299	549	349	820	399	2228	
50	53	100	115	150	188	200	277	250	391	300	553	350	828	400	2628	

Slika 9. Tablica statističkih korekcija prema Feller-u. (64)

3.2.4. Bojanje po Gramu

Bojanje po Gramu je složena i diferencijalna metoda koja se u mikrobiologiji koristi za podjelu bakterija u dvije velike grupe ovisno o sastavu njihove stanične stijenke. Naime, stanična stijenka Gram-pozitivnih bakterija sadrži gusti sloj peptidoglikana koji zadržava kristalno ljubičastu boju kojom su ove stanice obojene. S druge strane, stanična stijenka Gram-negativnih bakterija se sastoji od debelog lipidnog sloja te tankog sloja peptidoglikana zbog čega bakterije iz ove skupine ne zadržavaju ljubičastu boju, već se boje crveno.(65) Dakle, u prvom koraku ove metode jest dodana otopina kristal violeta fiksiranom preparatu. Potom je slijedilo

dodavanje otopine lugola kako bi se stvorio kompleks između prethodno dodanog kristal violeta i joda. Uzorku je potom dodan dekolorizator čija je uloga dehidrirati sloj peptidoglikana koji se potom skuplja i zateže. Spomenuti nastali kompleks kod Gram-pozitivnih bakterija ostaje zarobljen u bakterijskoj stanici zadržavajući boju na taj način, dok se membrana Gram-negativnih bakterija razgrađuje te dolazi do obezbojenja kompleksa. U posljednjem koraku prije mikroskopiranja jest dodana otopina safranina, crvenog bojila, koji prethodno obezbojene stanice Gram-negativnih bakterija boji u crveno, ne narušavajući ljubičastu obojenost Gram-pozitivnih bakterija.(66)

3.2.5. Oksidaza test

Biokemijska reakcija kojom se ispituje prisutnost enzima citokrom oksidaze koji boji reducirani bezbojni reagens je nazvana oksidaza testom. Mali komad filter papira namočen je TMPD (hidroklorid) reagensom te je ezom pikirana bakterijska kolonija koja je zatim utrljana na filter papir. Kod oksidaza pozitivnih mikroorganizama boja reagensa se promijeni u tamnoljubičastu u roku od 5 do 10 sekundi, dok se kod onih negativnih na oksidazu boja ne promijeni ili je potrebno duže od 2 minute da dođe do promjene boje.(67)

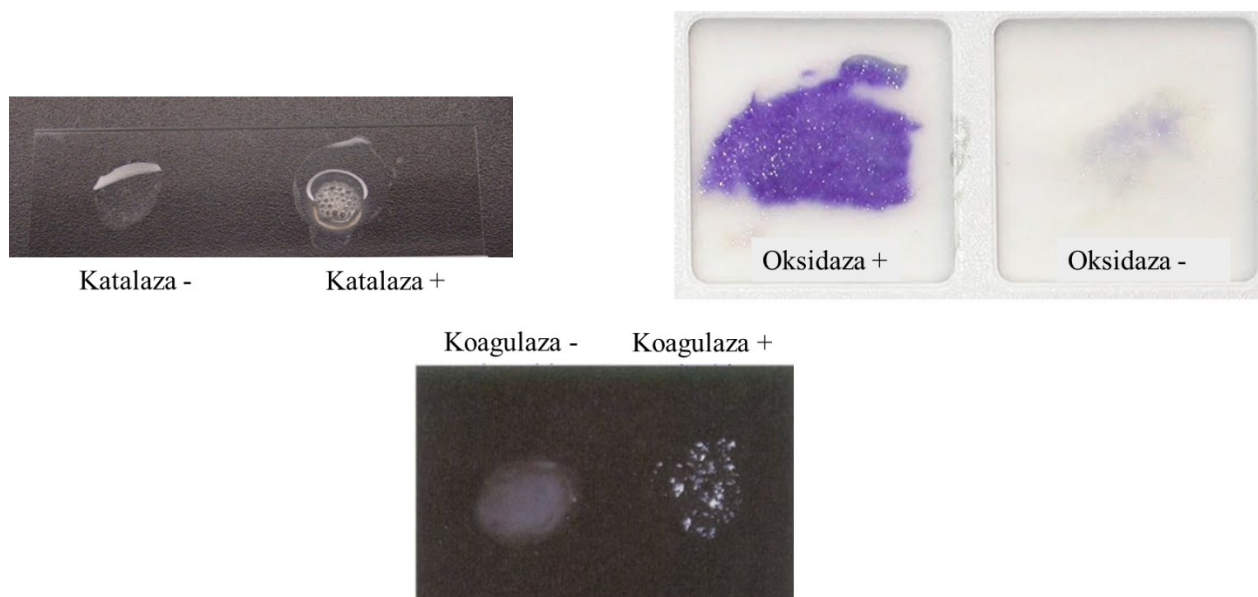
3.2.6. Katalaza test

Da bi preživjeli oksidativni stres uzrokovan vodikovim peroksidom, mikroorganizmi se oslanjaju na različite obrambene mehanizme među kojima je i enzim katalaza kao neutralizator baktericidnog učinka vodikovog peroksida. Naime, katalaza potiče i ubrzava razgradnju vodikovog peroksida (H_2O_2) na H_2O i O_2 pri čemu dolazi do stvaranja mjehurića koji reakciju čine vidljivom. Pomoću eze pikirana je bakterijska kolonija koja je zatim prenesena na predmetno stakalce. Potom je na stakalce dodana 3%-tna otopina H_2O_2 pomoću kapaljke. Ukoliko je došlo do nastanka mjehurića, znači da se radi o katalaza pozitivnim, odnosno ukoliko su mjehurići izostali, riječ je o katalaza negativnim mikroorganizmima.(68)

3.2.7. Koagulaza test

Koagulaza test je biokemijski test pomoću kojeg se *Staphylococcus aureus* na temelju sposobnosti proizvodnje koagulaze razlikuje od ostalih stafilokoka koji su koagulaza negativni (CoNS). Koagulaza je proteinski enzim sa sposobnošću pretvaranja fibrinogena u fibrin, a služi kao faktor virulencije povećavajući patogenost i otpornost *Staphylococcus aures*-a na reakciju

imunološkog sustava. Razlikuju se dvije vrste koagulaze - slobodna i vezana.(69) Provedena je vezana koagulaza kojom je na oba kraja predmetnog stakalca nanesa kap fiziološke otopine u koju je ezom umiješa bakterijska kultura. U samo jednu od suspenzija je dodana plazma kako bi bilo moguće razlikovati zrnate nakupine nastale koagulazom.



Slika 10. Usporedba pozitivnih i negativnih rezultata na katalaza, oksidaza i koagulaza test. (70), (71), (72)

3.2.8 API® Staph

API® Staph je standardizirani sustav koji koristi minijaturizirane biokemijske testove i posebno prilagođenu bazu podataka, a služi za identifikaciju rodova *Staphylococcus*, *Micrococcus* i *Kocuria*. Jedan strip sastoji se od 20 mikrocijevi u koji su inokulirane bakterijske suspenzije pripremljene uz pomoć API Staph medija. Nakon inokulacije, slijedila je inkubacija na 36-38°C tijekom 24 h. Crveno obojenje suspenzije predstavlja pozitivnu reakciju, dok žuto obojenje predstavlja negativnu reakciju. Zatim su u označenim mikrocijevima provedeni VP, NIT i PAL testovi dodavanjem zadanog reagensa, a očitavanje obojenja je provedeno nakon 10 minuta. Kod VP testa dodavanjem VP1 i VP2 reagensa, ljubičasto-rozo obojenje predstavlja pozitivnu, dok svijetlo ružičasto obojenje označava negativnu reakciju. Nadalje, za provođenje NIT testa korišteni su NIT1 i NIT2 reagensi koji crvenim obojenjem suspenzije označavaju pozitivnu reakciju. Naposljetku, ljubičasto obojenje kod provođenja PAL testa dodavanjem ZYM A i ZYM B reagensa označavalo je pozitivnu reakciju. Rezultati testova su označeni vrijednostima

1,2 ili 4, a podijeljeni su u sedam skupina po tri. Dobiveni zbroj je unosen u bazu podataka apiweb™ koja je potom izbacila vrstu i rod izoliranog mikroorganizma.(73)



Slika 11. Prikaz API Staph-a nakon inokulacije bakterijske suspenzije i inkubacije na 37 °C tijekom 24 sata. (primjer *Micrococcus* spp.)

Izvor: Lucija Ražov

4. REZULTATI

Prije samog uzorkovanja zraka, u svim ispitivanim skupinama izmjerene su temperatura i relativna vlažnost zraka.

Tablica 1. Prikaz izmjerene relativne vlažnosti zraka, temperature, broja prisutnih osoba i površine prostorije u kojoj je zrak uzorkovan.

	RH zraka/%	Temperatura/°C	Broj djece + odgajatelj/nastavnik	Površina prostorije/m ²
Bubamare	34	21	21	60
Ribice	33	21.5	10	60
4.b	35	23.3	23	55
8.b	38	22.1	18	49.30

Korištenjem MAS – 100 uređaja prilikom uzorkovanja zraka u dječjem vrtiću (skupine Bubamare i Ribice) i u školi (4.b i 8.b) dobiveni su slijedeći rezultati:

Tablica 2. Prikaz poraslih bakterijskih kolonija na TSA agaru.

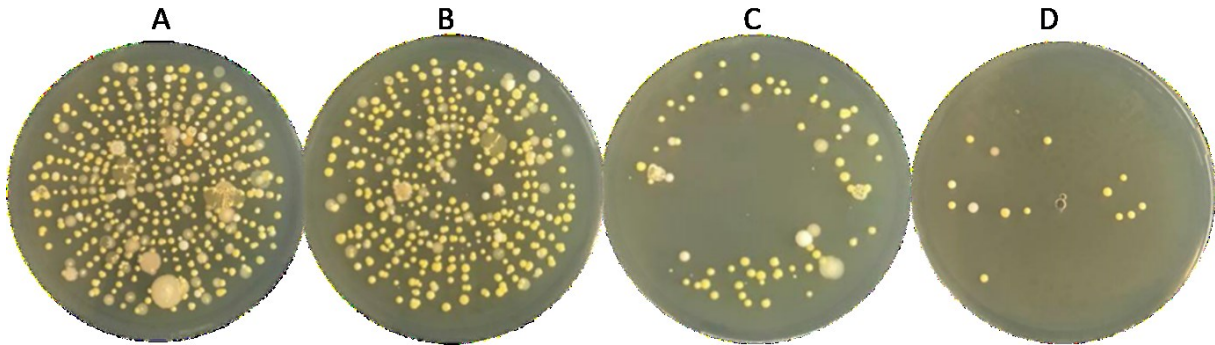
	AEROBNE MEZO FILNE BAKTERIJE/ CFU/ 250L zraka							
	KONTROLA		PLATNENA MASKA		KIRURŠKA MASKA		FFP2 MASKA	
SKUPINA	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
BUBAMARE	350	828	303	565	28	29	18	18
RIBICE	340	756	136	166	15	15	0	0
4. b	324	662	210	297	25	26	1	1
8. b	376	1118	348	813	72	79	14	14

r – broj izbrojenih kolonija u 250 L zraka

Pr - vjerojatni (statistički) ukupni broj kolonija u 250 L zraka

Iz priložene **Tablice 2.** vidljivo je kako je najveći broj bakterijskih kolonija porastao u kontrolnim uzorcima svake skupine, odnosno u uzorcima zraka na kojima se nije ispitivala učinkovitost filtriranja maski. Platnena maska se pokazala najmanje učinkovitom, dok su

kirurška i FFP2 maska pokazale visok stupanj učinkovitosti filtriranja ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija.



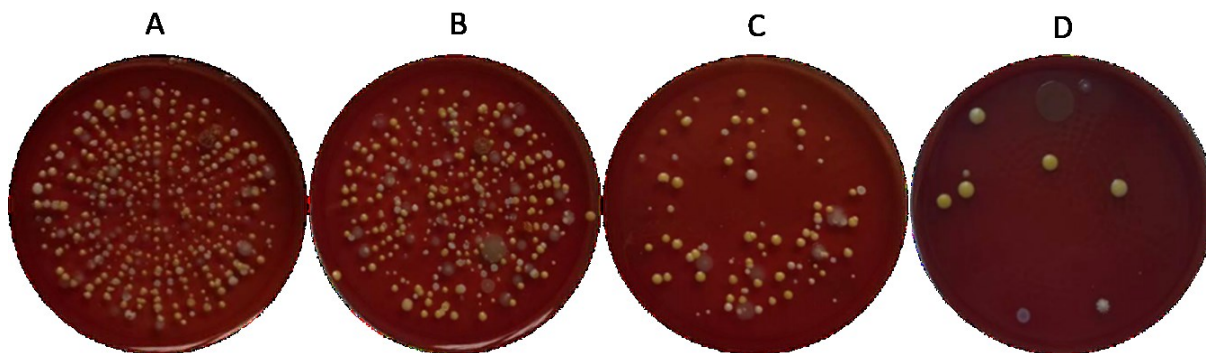
Slika 12. Porasle kolonije aerobnih mezofilnih bakterija na Tryptic Soy Agar.

Redom su prikazane porasle kolonije na kontrolnoj podlozi (A), zatim kolonije koje su porasle nakon filtriranja zraka jednoslojnom platnenom (B), kirurškom (C) te FFP2 maskom (D).

Izvor: Lucija Ražov

Kao što je vidljivo u tabličnom (**Tablica 2.**) i slikovnom prikazu (**Slika 12.**), platnena maska je najmanje učinkovita u filtriranju aerobnih mezofilnih bakterija. Broj poraslih kolonija na podlogama nakon što je zrak prošao filtraciju platnenom maskom neznatno je manji u usporedbi sa kontrolnim podlogama, odnosno podlogama na kojima su bakterije porasle bez ikakvog filtrirajućeg sredstva. Najučinkovitijom za filtraciju aerobnih mezofilnih bakterija se pokazala FFP2 maska kojom se postiglo višestruko smanjenje poraslih kolonija. Do značajnog smanjenja poraslih bakterijskih kolonija je došlo i primjenom kirurške maske kao filtrirajućeg sredstva.

Krvni agar je korišten kako bi se u ispitivanim uzorcima zraka klasificirali potencijalni streptokoki, kao i patogeni stafilokoki koji imaju sposobnost hemolize.

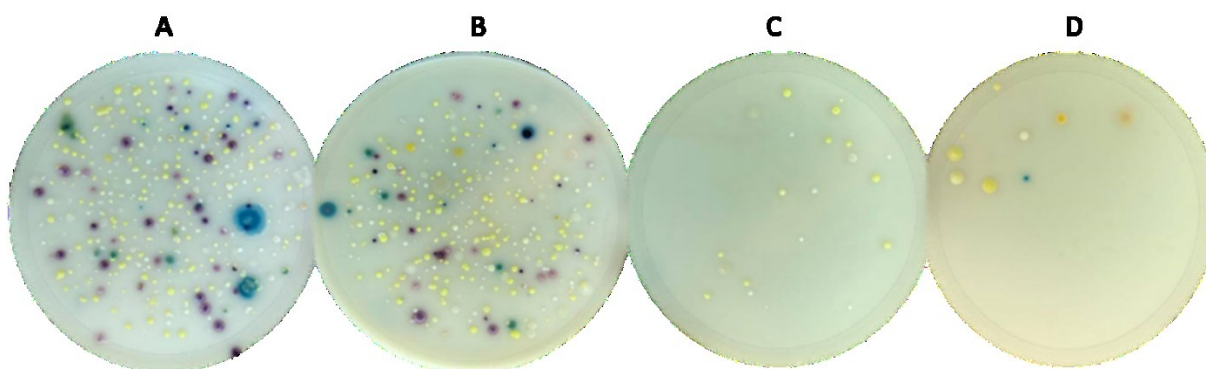


Slika 13. Prisutnost hemolize na krvnom agaru.

Prikazane su porasle kolonije na kontrolnoj podlozi (A) te kolonije koje su porasle nakon filtriranja zraka platnenom (B), kirurškom (C) i FFP2 maskom (D).

Izvor: Lucija Ražov

Nakon prebrojavanja poraslih bakterijskih kolonija na TSA-u, korišten je kromogeni agar za daljnju identifikaciju poraslih kolonija. Na podlogama su porasle različito obojene kolonije koje su se zatim pikirale i obojile po Gramu kako bi se dobio uvid radi li se o Gram-pozitivnim ili Gram-negativnim bakterijama. Također, za različito obojene kolonije prema potrebi su provedeni i katalaza, oksidaza te koagulaza test. Nadalje, za bakterijske kolonije za koje je iz pripremljenog preparata utvrđeno pod mikroskopom da se radi o Gram-pozitivnim kokcima, proveden je i API Staph kako bi se točno identificiralo koje vrste bakterija su prisutne u ispitanim skupinama.



Slika 14. Porast bakterijskih kolonija na kromogenom agaru.

Različito obojene kolonije predstavljaju različite bakterijske vrste. Prikazane su porasle kolonije na kontrolnoj podlozi (A) te kolonije koje su porasle nakon filtriranja zraka platnenom (B), kirurškom (C) i FFP2 maskom (D).

Izvor: Lucija Ražov

Slika 14. kao i **Tablice 3.,4.,5. i 6.** prikazuju kako platnena maska u najmanjoj mjeri filtrira sve vrste identificiranih bakterija prisutnih u ispitivanim skupinama. Većina identificiranih bakterija nije prošla kroz FFP2 masku pa je njihov porast na kromogenom agaru izostao. *Micrococcus luteus* i *Staphylococcus haemolyticus* su u svim ispitivanim skupinama porasli na podlogama nakon filtracije zraka kirurškom maskom, dok je nakon filtracije FFP2 maskom u pojedinim skupinama porastao neznatan broj kolonija. Također, *Staphylococcus aureus* kao najpatogenija bakterija iz roda stafilokoka ni u jednoj ispitivanoj skupini nije porasla na podlogama nakon filtriranja zraka kirurškom i FFP2 maskom.

Tablica 3. Prikaz poraslih bakterijskih kolonija na kromogenom agaru u vrtičkoj grupi Bubamare.

BAKTERIJA	CFU/ 250 L zraka							
	KONTROLA		PLATNENA MASKA		KIRURŠKA MASKA		FFP2 MASKA	
	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	59	64	43	45	2	2	0	0
<i>Bacillus spp.</i>	16	16	11	11	1	1	2	2
<i>Micrococcus luteus</i>	120	142	114	134	12	12	5	5
<i>Micrococcus spp.</i>	7	7	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	37	16	16	0	0	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	24	25	5	5	0	0	1	1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	52	56	51	54	6	6	1	1
<i>Staphylococcus lentus</i>	9	9	8	8	0	0	0	0
UKUPNO	322	356	248	273	21	21	9	9

r – broj izbrojenih kolonija u 250 L zraka

Pr - vjerojatni (statistički) ukupni broj kolonija u 250 L zraka

Iz priložene tablice (**Tablica 3.**) vidljivo je kako je najzastupljenija izolirana bakterija *Micrococcus luteus*, nakon kojeg slijede *Acinetobacter lwoffii* i *Staphylococcus haemolyticus*.

Tablica 4. Prikaz poraslih bakterijskih kolonija na kromogenom agaru u vrtičkoj grupi Ribice.

BAKTERIJA	CFU / 250L zraka							
	KONTROLA		PLATNENA MASKA		KIRURŠKA MASKA		FFP2 MASKA	
	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	22	23	9	9	2	2	0	0
<i>Bacillus spp.</i>	7	7	2	2	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	276	467	124	148	19	19	0	0
<i>Micrococcus spp.</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	5	5	3	3	2	2	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	8	8	11	11	2	2	0	0
UKUPNO	323	515	149	173	25	25	0	0

r – broj izbrojenih kolonija u 250 L zraka

Pr - vjerojatni (statistički) ukupni broj kolonija u 250 Lzraka

Iz **Tablice 4.** se može iščitati da je kod svih izoliranih bakterija došlo do pada poraslih kolonija filtriranjem ispitivanog zraka zaštitnim maskama za lice (najučinkovitija FFP2, zatim kirurška i naposljetku platnena maska). No, u odnosu na kontrolnu podlogu zabilježen je neznatni porast kolonija *Staphylococcus haemolyticus*–a primjenom platnene maske kao filtrirajućeg sredstva. Najzastupljeniji izolirani mikroorganizam je *Micrococcus luteus*.

Tablica 5. Prikaz poraslih bakterijskih kolonija na kromogenom agaru u 4.b.

BAKTERIJA	CFU/ 250 L zraka							
	KONTROLA		PLATNENA MASKA		KIRURŠKA MASKA		FFP2 MASKA	
	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	49	52	21	22	2	2	0	0
<i>Bacillus spp.</i>	9	9	6	6	0	0	0	0
<i>Corynebacterium spp.</i>	10	10	4	4	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	95	108	48	51	2	2	2	2
<i>Micrococcus spp.</i>	10	10	8	8	1	1	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	5	3	3	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis 1</i>	3	3	2	2	0	0	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	59	64	26	27	11	11	0	0
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
Ostale	5	5	3	3	0	0	0	0
UKUPNO	246	267	121	126	16	16	2	2

r – broj izbrojenih kolonija u 250 L zraka

Pr - vjerojatni (statistički) ukupni broj kolonija u 250 L zraka

Iz **Tablice 5.** je vidljivo kako je kod svih izoliranih bakterija došlo do pada poraslih kolonija filtriranjem ispitivanog zraka zaštitnim maskama za lice (najučinkovitija FFP2, zatim kirurška i naposljetku platnena maska). Najzastupljeniji izolirani mikroorganizam je *Micrococcus luteus*, nakon kojeg slijedi *Staphylococcus haemolyticus* i *Acinetobacter lwoffii*.

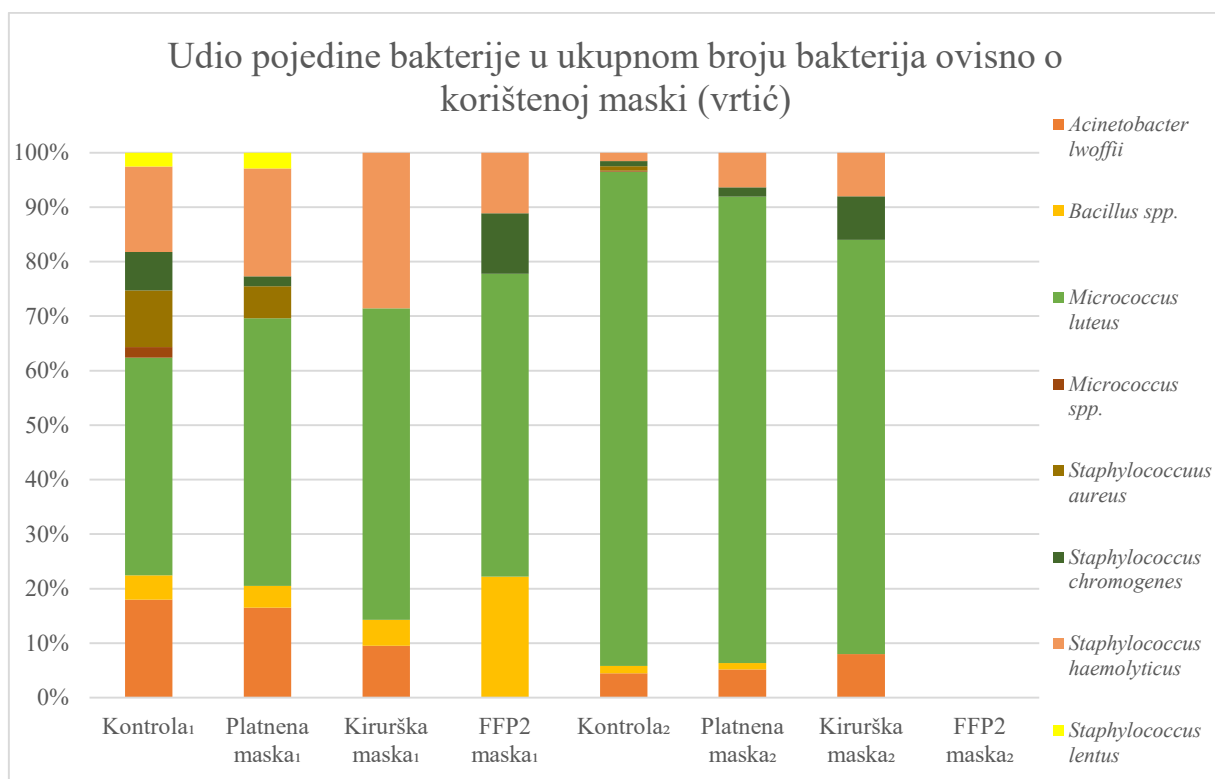
Tablica 6. Prikaz poraslih bakterijskih kolonija na kromogenom agaru u 8.b.

BAKTERIJA	CFU/250 L zraka							
	KONTROLA		PLATNENA MASKA		KIRURŠKA MASKA		FFP2 MASKA	
	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	42	44	26	27	10	10	2	2
<i>Bacillus</i> spp.	7	7	3	3	2	2	0	0
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	8	8	8	3	3	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	272	455	236	356	89	101	6	6
<i>Micrococcus</i> spp.	6	6	5	5	2	2	2	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	2	2	0	0	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	2	2	1	1	0	0	1	1
<i>Staphylococcus epidermidis 1</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	16	16	11	11	5	5	3	3
UKUPNO	358	543	292	413	111	123	14	14

r – broj izbrojenih kolonija u 250 L zraka

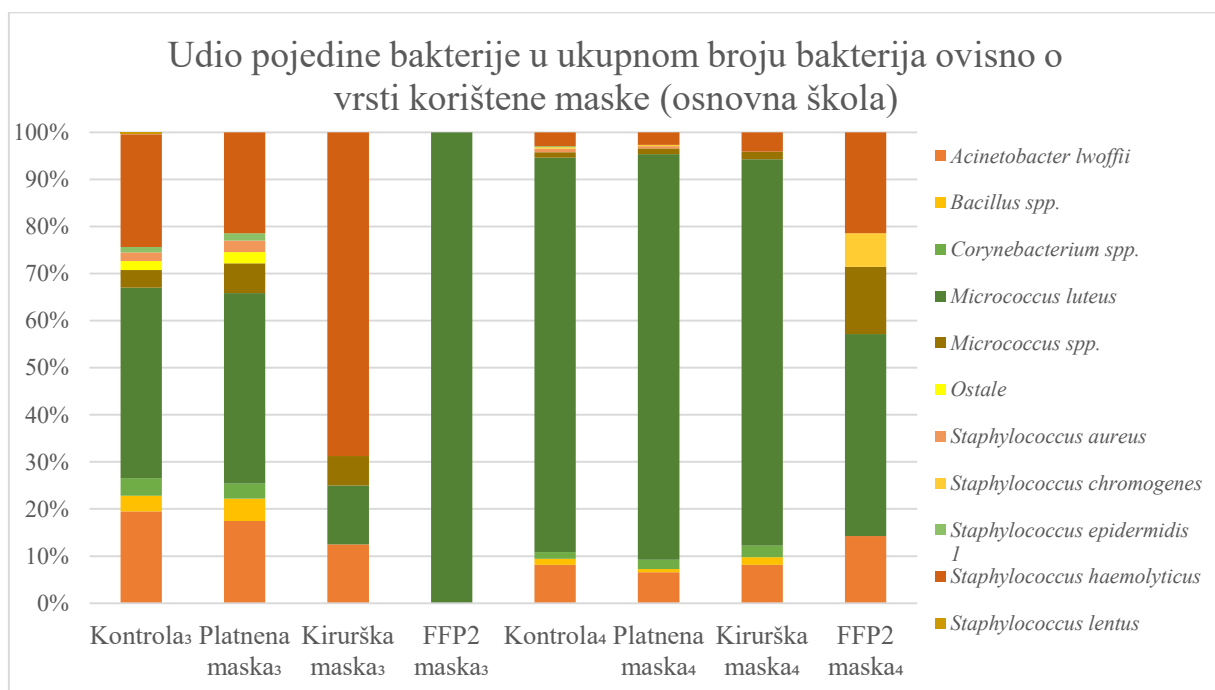
Pr - vjerojatni (statistički) ukupni broj kolonija u 250 L zraka

Kao i kod prethodno opisanih skupina, došlo je do pada poraslih kolonija filtriranjem ispitivanog zraka zaštitnim maskama za lice pri čemu se najučinkovitijom pokazala FFP2, zatim kirurška i naposljetku platnena maska. Najzastupljeniji izolirani mikroorganizam i u ovoj skupini je *Micrococcus luteus*. (**Tablica 6.**)



Slika 15. Udio pojedinih bakterijskih kolonija poraslih na kromogenom agaru.

Prva se četiri stupca označena indeksom 1 odnose na vrtičku grupu Bubamare, dok se druga četiri stupca označena indeksom 2 odnose na grupu Ribice.

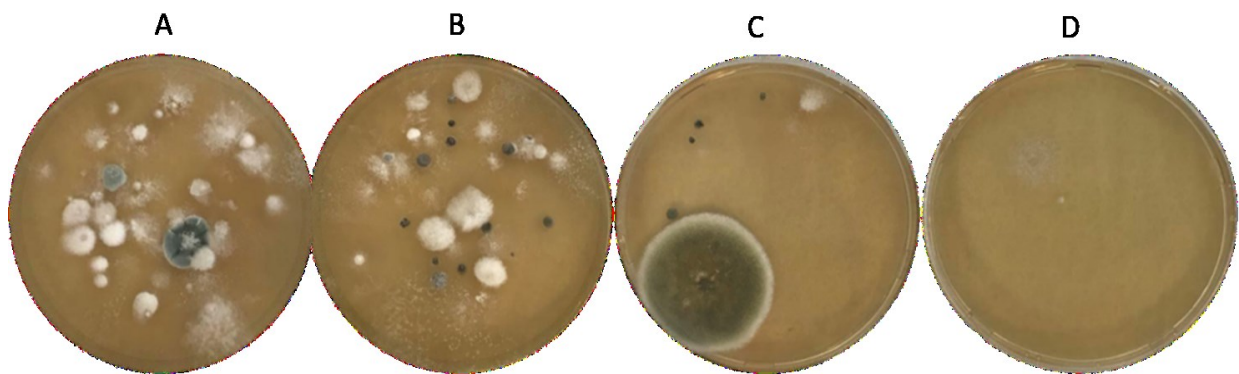


Slika 16. Udio pojedinih bakterijskih kolonija poraslih na kromogenom agaru.

Prva se četiri stupca označena indeksom 3 odnose na 4.b razred, dok se druga četiri stupca označena indeksom 4 odnose na 8.b razred.

Slike 15. i 16. prikazuju udjele poraslih bakterijskih kolonija u odnosu na ukupan broj. Vidljivo je kako je *Micrococcus luteus* najzastupljeniji u uzorcima zraka u grupama Bubamare i Ribice, ali i u 4.b i 8.b razredu, odnosno u svim ispitivanim skupinama. Osim *Micrococcus luteus*-a, u svim skupinama su identificirani i *Acinetobacter lwoffii*, *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus* te *Staphylococcus haemolyticus*.

Kao što je već spomenuto, osim učinkovitosti filtriranja bakterija različitih vrsta zaštitnih maski, u ovom radu se ispitivala i učinkovitost filtriranja kvasaca i plijesni. Određen je broj poraslih kvasaca i plijesni, ali daljnja identifikacija kako bi se definiralo koje točno vrste su prisutne u ispitivanim skupinama nije izvršena.



Slika 17. Porast kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru.

Na prvoj podlozi prikazan je porast kvasaca i plijesni na kontrolnoj podlozi (A), a zatim su redom prikazane podloge na kojima su porasli kvasci i plijesni koji su prošli kroz filtriranje zraka korištenjem platnene maske (B), kirurške maske (C) i FFP2 maske (D).

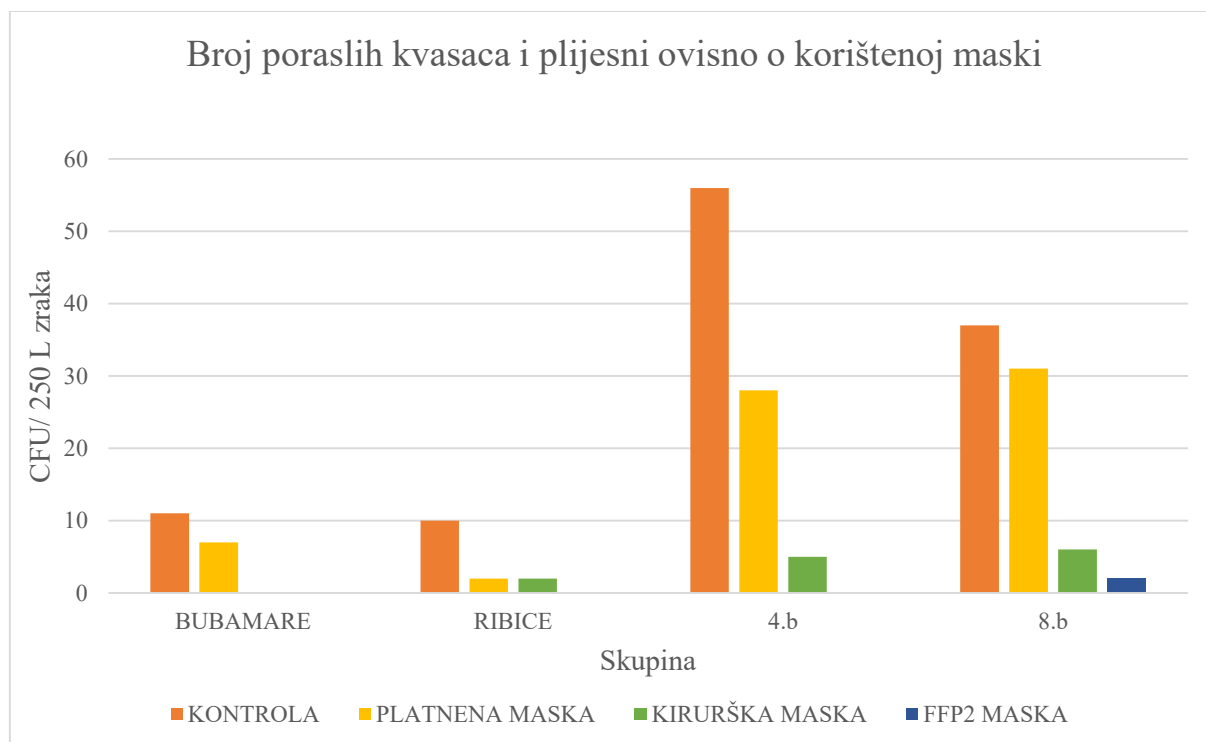
Tablica 7. Prikaz poraslih kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru.

SKUPINA	KVASCICI I PLIJESNI / CFU/250 L zraka							
	KONTROLA		PLATNENA MASKA		KIRURŠKA MASKA		FFP2 MASKA	
	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
BUBAMARE	11	11	7	7	0	0	0	0
RIBICE	10	10	2	2	2	2	0	0
4.b	52	56	27	28	5	5	0	0
8.b	35	37	30	31	6	6	2	2

r – broj izbrojenih kolonija u 250 L zraka

Pr - vjerojatni (statistički) ukupni broj kolonija u 250 L zraka

Iz priložene tablice (**Tablica 7.**) vidljivo je kako je najveći broj kvasaca i plijesni porastao u kontrolnim uzorcima svake skupine, odnosno u uzorcima zraka na kojima se nije ispitivala učinkovitost filtriranja maski. FFP2 maska se pokazala izrazito učinkovitim sredstvom u filtriranju kvasaca i plijesni dok se najmanje učinkovito pokazala platnena maska nakon koje slijedi kirurška maska, a koja je u većoj mjeri profiltrirala kvasce i plijesni.



Slika 18. Grafički prikaz poraslih kvasaca i plijesni u ispitivanim skupinama ovisno o korištenoj zaštitnoj maski.

U svim skupinama je najveći porast zabilježen na kontrolnim podlogama. Kao i kod TSA i kromogenog agara najmanje učinkovito u filtraciji kvasaca i plijesni se pokazala platnena maska, nakon koje slijedi kirurška maska. Prilikom filtriranja zraka FFP2 maskom u odnosu na kiruršku masku došlo je do porasta plijesni samo u 8.b razredu. Najveći porast kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru u ispitivanim skupinama je zabilježen u 4.b, nakon kojeg slijedi 8.b razred.

5. RASPRAVA

Različite kemikalije, čestice i biološki materijali prisutni u okolišu glavni su uzrok onečišćenja zraka što zbog činjenice da je zrak medij kojim se prenose različita onečišćenja okoliša na čovjeka, predstavlja problem za zdravlje ljudi. S obzirom na činjenicu da ljudi provode 90% svojeg vremena u zatvorenom, uz kemijska onečišćenja nastala antropogenim utjecajem, zbog suvremenog načina života sve više pažnje se predaje i onima biološkog karaktera. Naime, bioaerosol koji je prisutan i u zatvorenom i u otvorenom prostoru, a sadrži čestice mikroorganizama poput bakterija, virusa, gljiva i njihovih spora predstavlja izvor štetnih učinaka na zdravlje koji utječu na sve veću pojavnost alergija kao i poremećaja u respiratornom sustavu.

Osim respiratornog sustava, i koža predstavlja važan rezervoar mikroorganizama. Naime, kako se površinski slojevi kože neprestano regeneriraju, ljuskice kože zajedno sa bakterijama koje su dio normalne flore kože se tako šire u okolni prostor. Ova činjenica ima za posljedicu da u zatvorenom prostoru s porastom broja prisutnih ljudi dolazi i do porasta broja bakterija.

S dolaskom pandemije COVID-19 uzrokovane virusom SARS-CoV-2 uvedene su i obveze nošenja zaštitnih maski za lice s ciljem smanjenja transmisije virusa kod boravka ljudi u zatvorenim prostorima. Stoga se prilikom izrade ovog diplomskog rada postavilo pitanje na koji način uporaba spomenutih zaštitnih maski utječe na bakterije u zraku kojima smo inače svakodnevno izloženi, ali i na ukupan broj kvasaca i plijesni.

Za izradu rada uzeti su uzorci zraka u odgojno-obrazovnim ustanovama (dječji vrtić i osnovna škola), a korištene su 4 vrste hranjivih podloga; triptoza sojin agar, kromogeni agar, krvni agar te Sabouraud agar. Za svaku od ispitanih skupina uzet je volumen zraka, odnosno kontrola koja služi za usporedbu broja bakterija, kvasaca i plijesni prisutnih u zraku bez filtriranja zraka uporabom zaštitnih maski. Iz rezultata je vidljivo kako je u kontrolnim uzorcima na svim podlogama u svakoj od ispitanih skupina porastao najveći broj kako bakterijskih kolonija, tako i kolonija kvasaca i plijesni.

Nakon kontrolnih podloga, broj poraslih kolonija na svim korištenim agarima je najveći nakon korištenja jednoslojne platnene maske kao filtrirajućeg sredstva. Jedino je na kontrolnoj podlozi kromogenog agara u skupini Ribice zabilježen neznatno manji broj kolonija *Staphylococcus haemolyticus* (3 kolonije manje) u odnosu na broj poraslih kolonija nakon primjene platnene maske kao filtrirajućeg sredstva.

Uporabom kirurških i FFP2 maski kao filtrirajućih sredstava došlo je do smanjenja broja poraslih bakterijskih kolonija. Korištenjem FFP2 maske maksimalni broj poraslih kolonija aerobnih mezofilnih bakterija iznosi 18 CFU/250 L zraka, a uglavnom je riječ o kolonijama *Micrococcus luteus*-a kao općenito najzastupljenijeg mikroorganizma u ispitanim skupinama. Kada je riječ o kirurškim maskama, broj poraslih kolonija je u intervalu 15-29 CFU/250 L zraka te je nešto veći u usporedbi s rezultatima dobivenim korištenjem FFP2 maske. Najveći porast kolonija aerobnih mezofilnih bakterija koje su prošle kroz kiruršku masku je zabilježen u 8.b razredu, a iznosi 72 CFU/250 L zraka. Naime, općenito je i na kontrolnim podlogama u ovoj skupini ispitanika broj poraslih kolonija bio najveći. Razlog tomu može biti veća aktivnost djece, manja površina prostorije te veća relativna vlažnost zraka.

Smatra se da su u zatvorenim prostorima dominantne bakterije *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. i *Bacillus* spp. Provedenim klasičnim mikrobiološkim metodama utvrđeno je kako je u ispitanim ustanovama najzastupljenija bakterija *Micrococcus luteus*, nakon kojeg slijede *Acinetobacter lwoffii* i *Staphylococcus haemolyticus*. Uz njih u svakoj skupini izolirane su i *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus chromogenes*. Nadalje *Staphylococcus lentus* izoliran je u dvjema ispitivanim skupinama (Bubamare i 4.b), dok su u školi (4.b i 8.b) izolirani i *Corynebacterium* spp. te *Staphylococcus epidermidis*.

Koagulaza pozitivni stafilokok - *Staphylococcus aureus* koji inače kolonizira nosnice, zbog sposobnosti razvoja širokog spektra infekcija se smatra najpatogenijim od navedenih mikroorganizama. Ostale identificirane bakterije - *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter lwoffii* i *Corynebacterium* spp. su većinom također dio normalne flore čovjekove kože i kao takve ne predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje. No, navedene bakterije se smatraju oportunističkim patogenima, jer u pacijenata s oslabljenim imunološkim sustavom i ugrađenim kateterima često izazivaju infekcije koje predstavljaju izazov današnjoj medicini zbog sve učestalije pojavnosti otpornosti na antimikrobna sredstva.

Također, i na Sabouraud agaru korištenom kao mediju za rast kvasaca i plijesni, u usporedbi s kontrolnim uzorkom je došlo do pada poraslih kolonija korištenjem zaštitnih maski za lice. Jednoslojna platnena maska je imala najmanju učinkovitost, dok se najučinkovitijom ponovo pokazala FFP2 maska čijom primjenom u čak tri ispitane skupine nije došlo do porasta kvasaca i plijesni. Naime, do porasta je došlo u 8.b razredu, a zabilježen je porast od 2 CFU/250 L zraka. Kirurškim maskama je također postignut zadovoljavajući rezultat, a maksimalan zabilježen porast iznosi 6 CFU/250 L.

Dakle, proučavanjem učinkovitosti filtriranja aerobnih mezofilnih bakterija i kvasaca i plijesni pokazalo se kako je FFP2 maska u svim ispitivanim skupinama zadovoljila standard učinkovitosti filtriranja od 94%, dok je kirurška maska također zadovoljila učinkovitost filtriranja od 80%.

Čovjek udahne 12-16 puta u minuti, a količina zraka prilikom maksimalnog udaha iznosi oko 500 mL. Drugim riječima, u jednoj minuti čovjek udahne 6 000- 8000 mL, odnosno 6-8 L zraka. Volumen zraka koji djeca udahnu je sličan kao i u odrasla čovjeka jer se za vrijeme odrastanja neznatno mijenja, ali je frekvencija disanja veća i razlikuje se ovisno o dobi; u razdoblju 1-2 godine frekvencija disanja iznosi 24-40 puta u minuti, u dobi 3-5 godina iznosi 22-34 puta, dok u dobi 6-12 godina iznosi 18-30 puta u minuti. Dakle, volumen zraka koji djeca udahnu je viši od volumena kojeg udahne odrasla osoba, a u dobi 1-2 godine iznosi 12-20 L, u dobi 3-5 godina iznosi 11-17 L, a u dobi 6-12 godina iznosi 9-15 L zraka u minuti.

Naime, prilikom izvedbe ovog diplomskog rada korišten je MAS-100 uređaj čiji sistem regulira protok zraka na ulazu u sam uređaj na volumen vrijednost od 100 L zraka u minuti. Prije samog početka uzorkovanja zraka izabran je volumen od 250 L pa su rezultati iskazani kao broj poraslih kolonija u 250 L, odnosno kao CFU/250 L zraka. Spomenuti volumen zraka kojeg uređaj uvlači je višestruko veći od navedenih volumena zraka kojeg udahne odrasla osoba, odnosno dijete u jednoj minuti. Također, snaga kojom uređaj uvlači zrak je veća od snage udaha kod čovjeka, pa se pretpostavlja da je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, kao i kvasaca i plijesni koje čovjek udahne manji od onog koji prođe kroz uređaj.

Dobiveni rezultati su potvrdili pretpostavku da će korištenje zaštitnih maski za lice kao filtrirajućih sredstava dovesti do smanjenja bakterijskih kolonija, kao i kolonija kvasaca i plijesni. Također, pretpostavilo se da će od odabranih zaštitnih maski za lice, jednoslojne platnene maske imati najmanju učinkovitost zato što ne zadovoljavaju standardima, odnosno nisu certificirane. No, s njihovim nošenjem može se smanjiti prijenos respiratornih kapljica i usporiti strujanje daha. Nadalje, kirurške maske i FFP2 maske se razlikuju po svojoj namjeni, a zadovoljavaju propisanim standardima. Uloga kirurške maske je prvenstveno zaštita drugih osoba od respiratornih kapljica one osobe koja nosi masku, dok je uloga FFP2 maske zaštititi osobu koja nosi masku od čestica aerosola.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Zaštitne maske za lice kao filtrirajuća sredstva u zatvorenim prostorima smanjuju broj aerobnih mezofilnih bakterija kojima smo izloženi.
- Zaštitne maske za lice kao filtrirajuća sredstva u zatvorenim prostorima smanjuju broj kvasaca i plijesni kojima smo izloženi.
- U usporedbi s kirurškom i FFP2 maskom, jednoslojne platnene maske su manje učinkovite.
- Kirurške maske su manje učinkovite od FFP2 maski.
- U svim ispitivanim skupinama korištenjem kirurške maske je postignuta učinkovitost filtriranja aerobnih mezofilnih bakterija, kvasaca i plijesni od propisanih 80 %.
- U svim ispitivanim skupinama korištenjem FFP2 maske postignuta je učinkovitost filtriranja aerobnih mezofilnih bakterija, kvasaca i plijesni od propisanih 94%.

7. LITERATURA

1. Mason R.J., Broaddus V.C., Martin T.R., King JR T.E., Schraufnagel D.E., Murray J.F., et al.; Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine; Sixth Edition; Vol 1 ; Indoor and outdoor air pollution, 2016.; str. 1331–1342.
2. El Morabet R.; Effects of outdoor air pollution on human health; Encyclopedia of Environmental Health. Elsevier; 2019. str. 278–86.
3. Air pollution, Particulate matter (PM); Airatom smart solutions; Preuzeto sa: <http://airekart.com/particulate-matter-2-5-pm-2-5/> , (zadnji put pristupljeno: 20.6.2021.)
4. Fugaš M., Vađić V., Šega K., Kalinić N., Hršak J., Šišović A.; Air Pollution Studies. Arh Hig Rada Toksikol. [Internet].; 1999. ;50(2): str. 211-222., preuzeto sa: <https://hrcak.srce.hr/2763> (zadnji put pristupljeno 13.6.2021.)
5. Adams R.I., Bhangar S., Pasut W., Arens E.A., Taylor J.W., Lindow S.E., et al.; Chamber bioaerosol study: Outdoor air and human occupants as sources of indoor airborne microbes; PLoS One. 2015;10(5): str. 1–18.
6. Lax S., Smith D.P., Hampton-Marcell J., Owens S.M., Handley K.M., Scott N.M., et al.; Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment; Science; 2014 ;345(6200);str. 1048-52.
7. Jones B., Molina C.; Indoor Air Quality; Vol. 2; Encyclopedia of Sustainable Technologies. Elsevier; 2017.; str. 197–207.
8. Paleologos K.E., Selim M.Y.E., Mohamed A.O.; Chapter 8 - Indoor air quality: pollutants, health effects, and regulations; Pollution Assessment for Sustainable Practices in Applied Sciences and Engineering; Elsevier Inc.; 2021; str. 405–489.
9. Stetzenbach L.D., Amman H., Johanning E., King G., Shaugnessy R.J.; Microorganisms, mold and Indoor Air Quality [Internet]; American Society for Microbiology; 2004., preuzeto sa: <https://asm.org/ASM/media/docs/Iaq.pdf> (zadnji put pristupljeno 13.6.2021.)
10. Verdonck J., Vanoirbeeck J.A.J., Poels K., Hoet P.H.M., Godderis L.; Microorganisms reduce indoor air pollution; Toxicol Lett.; 2018;295:S265
11. Grisoli P., Rodolfi M., Chiara T., Zonta L.A., Dacarro C.; Evaluation of microbiological air quality and of microclimate in university classrooms; Environ Monit Assess. 2012;184(7): str. 4171–80.

12. Chegini F.M., Baghani A.N., Hassanvand M.S., Sorooshian A., Golbaz S., Bakhtiari R., et al.; Indoor and outdoor airborne bacterial and fungal air quality in kindergartens: Seasonal distribution, genera, levels, and factors influencing their concentration; *Build Environ.*; 2020;175:106690.
13. Romano S., Di Salvo M., Rispoli G., Alifano P., Perrone M.R., Talà A.; Airborne bacteria in the Central Mediterranean: Structure and role of meteorology and air mass transport; *Sci Total Environ.*; 2019;697:134020.
14. Yoo K., Lee T.K., Choi E.J., Yang J., Shukla S.K., Hwang S., et al.; Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in bioaerosols: A review; Vol. 51, *Journal of Environmental Sciences (China)*; Chinese Academy of Sciences; 2017; str. 234–47.
15. Gonzalez-Martin C.; Airborne infectious microorganisms; *Encyclopedia of Microbiology*; Elsevier; 2019.; str. 52–60.
16. Biological Contaminants in Indoor Air Quality: Allergens, Bacteria, Mites, Viruses [Internet], preuzeto sa: <https://emfsurvey.com/biological-contaminants-in-indoor-air-quality-allergens-bacteria-mites-viruses/>, (zadnji put pristupljeno 20.06.2021.)
17. Thach T.Q., Mahirah D., Dunleavy G., Nazeha N., Zhang Y., Tan C.E.H., et al.; Prevalence of sick building syndrome and its association with perceived indoor environmental quality in an Asian multi-ethnic working population; *Build Environ.*; 2019;166:106420.
18. Sarkhosh M., Najafpoor A.A., Alidadi H., Shamsara J., Amiri H., Andrea T., et al.; Indoor Air Quality associations with sick building syndrome: An application of decision tree technology; *Build Environ.*; 2021;188:107446.
19. Joshi S.M.; The sick building syndrome;. *Indian J Occup Environ Med*; 2008; 12(2): str. 61–64.
20. Dingle P.; Sick building syndrome; *Advances in Environmental Control Technology: Health and Toxicology* [Internet]; Elsevier; 1997. str. 67–92. preuzeto sa: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780884153863500060> (zadnji put pristupljeno 13.6.2021)
21. Laumbach R.J.; Sick building syndrome; *International Encyclopedia of Public Health*; Elsevier Inc.; 2008.; str. 4–8.,
22. Preuzeto sa: <https://www.secondnature.com/blog/test-your-indoor-air-quality>, (zadnji put pristupljeno 21.06.2021.)
23. Simon X., Loison P.; Airborne Fungi in Workplace Atmospheres: Overview of Active

- Sampling and Offline Analysis Methods Used in 2009–2019; Encyclopedia of Mycology; Elsevier; 2021. str. 49–58.
24. 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.
 25. Hu Z., Liu H., Zhang H., Zhang X., Zhou M., Lou L., et al.; Temporal discrepancy of airborne total bacteria and pathogenic bacteria between day and night; *Environ Res.*; 2020;186:109540.
 26. Mu F., Li Y., Lu R., Qi Y., Xie W., Bai W.; Source identification of airborne bacteria in the mountainous area and the urban areas; *Atmos Res*; 2020;231:104676.
 27. Bragoszewska E., Mainka A., Pastuszka J.S.; Bacterial and fungal aerosols in rural nursery schools in Southern Poland; *Atmosphere (Basel)*;2016;7(11).
 28. Paleologos K.E., Selim M.Y.E., Mohamed A-MO; Indoor air quality; *Pollution Assessment for Sustainable Practices in Applied Sciences and Engineering* [Internet]. Elsevier; 2021. str. 405–89. preuzeto sa: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128095829000086> (zadnji put pristupljeno 14.6.2021.)
 29. Toltzis P.; *Staphylococcus epidermidis* and Other Coagulase-Negative Staphylococci; Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. Elsevier Inc.; 2018.; str. 706–712.
 30. The Free Dictionary [Internet]. "*Staphylococcus*". The Columbia Electronic Encyclopedia®, Columbia University Press, 2013; preuzeto sa: <https://encyclopedia2.thefreedictionary.com/Staphlococci> (zadnji put pristupljeno 14.6.2021.)
 31. Madsen A.M., Moslehi-Jenabian S., Islam M.Z., Frankel M., Spilak M., Frederiksen M.W.; Concentrations of *Staphylococcus* species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and *S. aureus*-positive occupants; *Environ Res*; 2018.;160: str. 282–91.
 32. Laux C., Peschel A., Krismer B.; *Staphylococcus aureus* Colonization of the Human Nose and Interaction with Other Microbiome Members; *Microbiol Spectr.* 2019.;7(2).
 33. Chang J.O., Lee R.E., Lee W.; A pursuit of *Staphylococcus aureus* continues: a role of persister cells; *Arch Pharm Res*; 2020;43(6): str. 630–8.
 34. Balasubramanian D., Harper L., Shopsis B., Torres V.J.; *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments; *Pathog Dis*; 2017;75(1): str. 1–13.

35. T. Editors of Encyclopaedia; "*Staphylococcus*" Encyclopedia Britannica; 2017., preuzeto sa: <https://www.britannica.com/science/Staphylococcus> (zadnji put pristupljeno 15.06.2021.)
36. Fry P.R., Calcutt M.J., Foecking M.F., Hsieh H.Y., Suntrup D.G., Perry J., et al.; Draft genome sequence of *Staphylococcus chromogenes* strain MU 970, isolated from a case of chronic bovine mastitis; *Genome Announc*; 2014.;2(4): str. 1–2.
37. Bresc  M.S., Harris L.G., Thompson K., Stanic B., Morgenstern M., O’Mahony L., et al.; Pathogenic mechanisms and host interactions in *Staphylococcus epidermidis* device-related infection; *Front Microbiol*; 2017.
38. Raue S., Fan S.H., Rosenstein R., Zabel S., Luqman A., Nieselt K., et al.; The Genome of *Staphylococcus epidermidis* O47; *Front Microbiol*; 2020.; str. 1–17.
39. Eltwisy H.O., Abdel-Fattah M., Elsisi A.M., Omar M.M., Abdelmoteleb A.A., El-Mokhtar M.A.; Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus* on primary human skin fibroblast cells; *Virulence* 2020;11(1); str. 1142–57.
40. Rivera M., Dominguez M.D., Mendiola N.R., Roso G.R., Quereda C.; *Staphylococcus lentus* peritonitis: a case report; *Perit Dial Int*; 2014.;34(4): str. 469-70.
41. Rathinavelu S., Zavros Y., Merchant J.L.; *Acinetobacter lwoffii* infection and gastritis; *Microbes and Infection*. Elsevier Masson SAS; 2003.; str. 651–7.
42. Ku S.C., Hsueh P.R., Yang P.C., Luh K.T.; Clinical and microbiological characteristics of bacteremia caused by *Acinetobacter lwoffii*; *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 2000.;19(7); str. 501–5.
43. Delbrassinne L., Mahillon J.; *Bacillus*: Occurrence; *Encyclopedia of Food and Health* [Internet]; 1st ed. Elsevier Ltd.; 2015.; str. 307–11. preuzeto sa: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00050-7> (zadnji put pristupljeno 15.6.2021.)
44. Tiwari S., Prasad V., Lata C.; *Bacillus*: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biotechnology in Agro-environmental Sustainability* [Internet]. Elsevier B.V.; 2019.; str. 43–55.; preuzeto sa: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64191-5.00003-1> (zadnji put pristupljeno 15.6.2021.)
45. Kıvanç S.A., Takım M., Kıvanç M., Güllülü G.; *Bacillus* Spp. isolated from the conjunctiva and their potential antimicrobial activity against other eye pathogens; *Afr Health Sci*; 2014.;(2); str. 364-71.

46. Harrington A.T., Clarridge J.E., Mahlen S.D.; *Corynebacterium* spp. as Established and Emerging Respiratory Pathogens; Molecular Medical Microbiology: Second Edition [Internet]. Elsevier Ltd; 2014.; str. 1627–33. preuzeto sa: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00091-3> (zadnji put pristupljeno 15.6.2021.)
47. Prod'hom G., Bille J.; Aerobic Gram-Positive Bacilli. In: Infectious Diseases [Internet]. Fourth Edi. Elsevier Ltd; 2017.; str. 1537-1552., preuzeto sa: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-7020-6285-8.00178-7> (zadnji put pristupljeno 15.6.2021.)
48. Wickham Laboratories; Fact Sheet: *Micrococcus luteus* - Microbial Identification - MALDI ToF [Internet]. 2019.; preuzeto sa: <https://wickhamlabs.co.uk/technical-resource-centre/fact-sheet-micrococcus-luteus/> (zadnji put pristupljeno 15.6.2021.)
49. Nuñez M.; *Micrococcus*; Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition. 2014.; str. 627–33.
50. Whiley H., Keerthirathne T.P, Nisar M.A., White M.A.F., Ross K.E.; Viral filtration efficiency of fabric masks compared with surgical and N95 masks; Pathogens; 2020.;9(9):str. 1–8.
51. O'Dowd K., Nair K.M., Forouzandeh P., Mathew S., Grant J., Moran R., et al.; Face masks and respirators in the fight against the COVID-19 pandemic: A review of current materials, advances and future perspectives; Materials (Basel); 2020.;13(15).
52. Fischer E.P., Fischer M.C., Grass D., Henrion I., Warren W.S., Westman E.; Low-cost measurement of face mask efficacy for filtering expelled droplets during speech; Sci Adv; 2020.;6(36): str. 1–11.
53. Scheid J.L., Lupien S.P., Ford G.S., West S.L.; Commentary: Physiological and Psychological Impact of Face Mask Usage during the COVID-19 Pandemic; Int J Environ Res Public Health; 2020.;17(18):6655.
54. Konda A., Prakash A., Moss G.A., Schmoldt M., Grant G.D., Guha S.; Aerosol Filtration Efficiency of Common Fabrics Used in Respiratory Cloth Masks.; ACS Nano; 2020.;14(5):6339–47.
55. Matuschek C., Moll F., Fangerau H., Fischer J.C., Zänker K., Van Griensven M., et al.; Face masks: Benefits and risks during the COVID-19 crisis; Eur J Med Res;2020.;25(1):1–8.
56. Akduman C., Akcakoca Kumbasar E.P.; Nanofibers in face masks and respirators to provide better protection.; IOP Conf Ser Mater Sci Eng; 2018.;460(1), preuzeto sa:

- https://www.researchgate.net/publication/329895374_Nanofibers_in_face_masks_and_respirators_to_provide_better_protection (zadnji put pristupljeno 18.6.2021.)
57. Chellamani K.P., Veerasubramanian D., Vignesh Balaj R.S.; Surgical Face Masks: Manufacturing Methods and Classification; Journal of Academia and Industrial Research(JAIR); Volume 2; 2013.; str. 320-22, preuzeto sa: <http://docplayer.net/25274168-Surgical-face-masks-manufacturing-methods-and-classification.html> (zadnji put pristupljeno 18.6.2021.)
58. Qu J.M., Cao B., Chen R.C.; Prevention and disease control of COVID-19; 2021.; str. 75–88.
59. What is the difference between FFP1, FFP2 & FFP3 masks?;2020.; preuzeto sa: <https://dentagama.com/news/what-is-the-difference-between-ffp1-ffp2-ffp3-masks> , (zadnji put pristupljeno 22.06.2021.)
60. Biolife; Tryptic soy agar [Internet]; 2020.; preuzeto sa: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni/schede-tecniche-inglese/TS-4021504.pdf> (zadnji put pristupljeno 18.6.2021.)
61. Oxoid; Media C. Brilliance UTI [Internet]; 2008.; preuzeto sa: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0949 (zadnji put pristupljeno 15.6.2021.)
62. Biolife; Blood agar base N° 2 Dehydrated culture medium [Internet]; 2020.; preuzeto sa: <http://www.masciabrunelli.it/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni/schede-tecniche-inglese/TS-4011562.pdf> (zadnji put pristupljeno 18.6.2021.)
63. Biolife, Agar Sabouraud dextrose [Internet]; 2020.; preuzeto sa: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni/schede-tecniche-inglese/TS-4020052.pdf> (zadnji put pristupljeno 18.6.2021.)
64. Operating Manual MAS-100; EMD [Internet]; str.1–23., preuzeto sa: https://archive-resources.coleparmer.com/Manual_pdfs/39182-90,-82.pdf , (zadnji put pristupljeno 26.06.2021.)
65. Smith A.C., Hussey M.A.; Gram stain protocols; Am Soc Microbiol; 2005.;1:14.
66. Bruckner M.Z.; Gram Staining; Microbial life Educational Resources [Internet]; preuzeto sa: https://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/microscopy/gramstain.html (zadnji put pristupljeno 20.6.2021.)

67. Shields P., Cathcart L.; Oxidase Test Protocol; ASM Conf Undergrad Educ.[Internet] 2016.;str. 1–5, preuzeto sa: <https://asm.org/getattachment/00ce8639-8e76-4acb-8591-0f7b22a347c6/oxidase-test-protocol-3229.pdf> (zadnji put pristupljeno 21.6.2021.)
68. Reiner K. Catalase-Test-Protocol [Internet]. Am Soc Microbiol [Internet]; 2010.;str. 1–9.; preuzeto sa; <https://asm.org/getattachment/72a871fc-ba92-4128-a194-6f1bab5c3ab7/Catalase-Test-Protocol.pdf> (zadnji put pristupljeno 21.6.2021.)
69. Sapkota A.; Coagulase Test- Principle, Procedure, Types, Result, Uses; Microbe notes; [Internet];2018., preuzeto sa: <https://microbenotes.com/coagulase-test-principle-procedure-and-result-interpretation/> (zadnji put pristupljeno 21.6.2021.)
70. Izolacija i identifikacija *Streptococcus pneumoniae*, preuzeto sa: <http://nrlstrep.rs/documents/Identifikacija%20pneumokoka.pdf> (zadnji put pristupljeno 25.06.2021.)
71. Bakterije; Chegg Prep, preuzeto sa: <https://www.chegg.com/flashcards/bakterije-a16a2535-8430-43b4-854a-2127b5b4ba81/deck> (zadnji put pristupljeno 25.06.2021)
72. Coagulase Test- Principle, Procedure, Types, Interpretation and Examples; Aryal S.; Microbiology Info.com;2018.; preuzeto sa: <https://microbiologyinfo.com/coagulase-test-principal-procedure-types-interpretation-and-examples/> (zadnji put pristupljeno 25.06.2021.)
73. API Staph, Biomerieux. [Internet]; Vol. 1; African Journal of Biomedical Research. 2019.; Preuzeto sa: https://www.mediray.co.nz/media/15784/om_biomerieux_test-kits_ot-20500_package_insert-20500.pdf (zadnji put pristupljeno 26.6.2021.)

POPIS SLIKA I GRAFOVA

Slika 1. Onečišćenje zraka lebdećim česticama - PM₁₀ i PM_{2.5} (3)

Slika 2. Usporedba veličine čestica bioaerosola (16)

Slika 3. Prikaz simptoma nastalih boravkom u zatvorenim prostorima loše kvalitete zraka (22)

Slika 4. Mikroskopski prikaz kulture *Staphylococcus aureus* (35)

Slika 5. Prikaz različitih kategorija FFP maski- FFP1, FFP2 i FFP3. (59)

Slika 6. Uzorkovanje zraka korištenjem MAS-100 uređaja.

Slika 7. Uzorkovanje zraka korištenjem platnene zaštitne maske za lice MAS-100 uređajem.

Slika 8. Uzorkovanje zraka korištenjem kirurške zaštitne maske za lice MAS-100 uređajem.

Slika 9. Tablica statističkih korekcija prema Feller-u. (64)

Slika 10. Usporedba pozitivnih i negativnih rezultata na katalaza, oksidaza i koagulaza test. (70), (71), (72)

Slika 11. Prikaz API Staph-a nakon inokulacije bakterijske suspenzije i inkubacije na 37 °C tijekom 24 sata. (primjer *Micrococcus* spp.)

Slika 12. Porasle kolonije aerobnih mezofilnih bakterija na Tryptic Soy Agar.

Slika 13. Prisutnost hemolize na krvnom agaru.

Slika 14. Porast bakterijskih kolonija na kromogenom agaru.

Slika 15. Udio pojedinih bakterijskih kolonija poraslih na kromogenom agaru.

Slika 16. Udio pojedinih bakterijskih kolonija poraslih na kromogenom agaru.

Slika 17. Porast kvasaca i plijesni na Sabouraud agaru.

Slika 18. Grafički prikaz poraslih kvasaca i plijesni u ispitivanim skupinama ovisno o korištenoj zaštitnoj maski.

POPIS KORIŠTENIH SKRAĆENICA

PM - lebdeće čestice

SBZ – sindrom bolesnih zgrada

CoNS – koagulaza negativni stafilokoki

TSA – triptoza sojin agar

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

FDA - Food and Drugs Administration

ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Lucija Ražov

Datum rođenja: 26. prosinca 1997.

Mjesto rođenja: Zadar

Državljanstvo: Hrvatsko

Narodnost: Hrvatica

Adresa: Put Ražovljeve glavice 19, Škabrnja 23223

Telefon: +385 91 726 85 19

E-mail: lucija.razov97@gmail.com

Obrazovanje:

2004. – 2012. Osnovna škola Vladimira Nazora Škabrnja

2012. – 2016. Gimnazija Vladimira Nazora Zadar, opći smjer

2016. – 2019. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Preddiplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva

2019. – 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).