

Mikrobiologie ovzduší pracovišť na UTB

Bc. Marta Gallinová

Diplomová práce
2006



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství a chemie
akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marta GALLINOVÁ**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Mikrobiologie ovzduší pracovišť na UTB**

Zásady pro vypracování:

Přístroj pro stanovení mikrobiologie ovzduší poskytnutý laskavostí firmy Biopro metodicky poskytuje nové pohledy na možnosti bakteriologické kontroly jakosti ovzduší.

Vypracováním techniky a ověření funkce přístroje je stěžejní náplní diplomové práce.



Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Dle doporučení vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce:

RNDr. Miroslav Grossmann

Ústav potravinářského inženýrství a chemie

Datum zadání diplomové práce:

10. října 2005


Termín odevzdání diplomové práce:

31. května 2006

Ve Zlíně dne 20. dubna 2006


prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Diplomová práce se zaměřuje na mikrobiální kontaminaci ovzduší vnitřního prostředí prostor UTB. Dává si za cíl monitorovat současný stav ve vybraných prostorách 5. patra technologické fakulty a tyto zjištěné hodnoty porovnat s doporučeními EUR ve zprávě EUR 14988 a zhodnotit zda je stávající stav vyhovující.

Odběr byl proveden metodou aktivního nasávání vzduchu odběrovým impaktorem Sampl'Air. Součástí práce je i posouzení snadnosti a kvality práce s tímto přístrojem. Stejnou metodou odběru vzduchu byla ověřována účinnost používaných germicidních zářičů, jako prostředku k obnovení kvality ovzduší, a zhodnotit režim jejich aplikace.

Pomocí dostupných biochemických kvalitativních testů byla typizována vybraná skupina mikroorganismů, za účelem posoudit zastoupení nepatogenních, podmíněně patogenních, nebo patogenních zástupců příslušného rodu.

Klíčová slova: hodnocení kontaminace ovzduší, mikroorganismy, infekční onemocnění, EUR 14988, germicidní svítidla, *Staphylococcus*

ABSTRACT

This diploma thesis dwells on microbial air contamination of the inner environment of the UTB. It focuses on monitoring of the present state in chosen areas of the 5th floor of The Faculty of Technology. The data obtained are compared with EUR 14988 report in order to verify if the conditions are suitable.

The taking in was made by active sucking off the air using the Sampl'Air apparatus. Actually, one objective of this thesis was to examine the attendance of this apparatus. The effectivity of germicide lamps used to restitution of the air quality was verified using the same method.

A typical group of organisms was standardized using accessible biochemic qualitative tests in order to quantify the percentage of nonpathogenic, conditionally pathogenic and pathogenic specimens of appropriate genus.

Key words: air contamination, microorganisms, infectious disease, EUR 14988, germicide lamp, *Staphylococcus*

Úvodem bych chtěla poděkovat vedoucímu své diplomové práce RNDr. Miroslavu Grossmannovi, za odborné vedení a cenné připomínky při řešení zadaného tématu.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Františku Buňkovi Ph.D za věcné připomínky a podporu, Bc. Olze Brázdilové za vstřícnost a ochotu a v neposlední řadě Jakobovi Faltovi za ochotnou pomoc při zpracování výsledků.

Také děkuji rodině a blízkým za podporu při studiu.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být naloženo podle uvážení vedoucího diplomové práce a vedoucího katedry. V případě publikace budu uvedena jako spoluautor.

Prohlašuji, že jsem na celé diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Ve Zlíně dne

.....

podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 PROBLEMATIKA OVZDUŠÍ.....	11
1.1 LEGISLATIVNÍ VÝCHODISKA	11
2 VÝVOJ A SLOŽENÍ OVZDUŠÍ	14
2.1 SLOŽENÍ VZDUCHU	14
2.1.1 Složení vnitřního ovzduší.....	14
2.1.2 Znečišťující plynné emise.....	15
2.1.3 Znečišťující tuhé emise	17
3 PŘÍTOMNOST MIKROORGANISMŮ V OVZDUŠÍ.....	18
3.1 OBSAH MIKROORGANISMŮ VE VZDUCHU	18
3.1.1 Vlhkost stěn.....	18
3.1.2 Voda ve vodovodních rozvodech.....	19
3.1.3 Vnitřní zařízení.....	19
3.2 FAKTORY PŮSOBÍCÍ NA MIKROORGANISMY	20
4 PROBLEMATIKA OVZDUŠÍ VE VZTAHU KE ZDRAVÍ ČLOVĚKA	23
4.1 MIKROORGANISMY V OVZDUŠÍ A JEJICH VLIV NA ZDRAVÍ	23
4.2 MIKROORGANISMY JAKO INFEKČNÍ AGENS.....	24
4.3 VNÍMAVOST ČLOVĚKA K INFEKCI	25
4.4 PŘENOS PŮVODCE NÁKAZY	25
4.5 RESPIRAČNÍ ONEMOCNĚNÍ.....	26
4.5.1 Vzdušné nákazy virové etiologie	26
4.5.2 Vzdušné nákazy bakteriální etiologie	28
4.5.3 Ostatní akutní respirační onemocnění (ARI)	31
4.5.4 Onemocnění způsobené kvasinkami a plísněmi.....	32
4.5.5 Nosokomiální nákazy	33
4.5.6 Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice	33
5 STAFYLOKOKY JAKO MOŽNÝ PATOGEN.....	34
5.1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS	37
6 METODIKA HODNOCENÍ KONTAMINACE OVZDUŠÍ.....	38
6.1 HODNOCENÍ KONTAMINACE MIKROORGANISMY	39
6.1.1 Absolutní hodnocení směsné populace mikroorganismů.....	39
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	42

6.2	CHARAKTERISTIKA MÍSTNOSTÍ	44
6.3	POUŽITÉ PŮDY	45
6.4	POUŽITÉ POMŮCKY, PŘÍSTROJE A ZAŘÍZEN	47
6.5	KVANTITATIVNÍ ČÁST	48
6.5.1	Odběr vzduchu aktivním nasáváním	48
6.5.2	Měření biologické kontaminace vzduchu ve stáji a v dojárně	49
6.6	STANOVENÍ STAFYLOKOKŮ	50
6.6.1	Identifikace zástupců rodu Staphylococcus	50
7	VÝSLEDKY A DISKUSE	52
	VÝSKYT MIKROORGANISMŮ V PROVOZU	52
	ÚČINNOST BAKTERICIDNÍCH SVÍTIDEL	55
	TYPIZACE STAFYLOKOKŮ	57
	ZHODNOCENÍ PRÁCE S AEROSKOPEM	61
	VÝZNAM MIKROBIOLOGICKÉHO MONITOROVÁNÍ OVZDUŠÍ	62
	ZÁVĚR	63
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	65
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	69
	SEZNAM TABULEK	70
	SEZNAM PŘÍLOH	71

ÚVOD

Poměrně málo studií ovzduší je věnováno konkrétním objektům, kde dochází k přechodné, větší koncentraci lidské populace jako v potravinářských provozech, dopravních prostředcích, koncertních sálech, učebnách apod., i když se dá předpokládat, že právě za těchto okolností dochází k masovému šíření vzdušných infekcí. Ve většině případů schází údaje kvantitativní, zejména pak ve vztahu ke změnám, které se odehrávají v prostředí, v návaznosti na možnosti ovlivňovat ho a téměř minimálně se vyskytují studie, zabývající se druhovým zastoupením jednotlivých mikroorganismů v ovzduší a možnostmi přenášení jednotlivých vzdušných infekčních agens infikovaným člověkem nebo zvířetem.

Vyšetřování koncentrací bakterií a mikroskopických vláknitých hub v ovzduší mají význam nejen v souvislosti s výskytem onemocnění, jehož projevy jsou spojovány s pobytem v určitém prostředí, ale i jako vyšetření preventivní.

Tato vyšetřování mají nezastupitelný význam i pro sledování kvality čistých provozů. Nejnovější výsledky výzkumu totiž ukazují, že mikroorganismy detekované z pevných povrchů nejsou vždy totožné s mikroorganismy nalézány v ovzduší. Člověkem inhalovány však mohou být pouze mikroorganismy ze vzdušného aerosolu. [8]

V poslední době v souvislosti s vytvářením komplikovaných operačních týmů a následné pooperační péče (srdeční operace, transplantace apod.) se problematika nosokomiálních nákaz šířených vzdušnou cestou stala stěžejní otázkou pro jejich úspěšný průběh a přežití pacienta. Objevují se práce pokoušející se odhalit možné šíření mikroorganismů vnitřním ovzduším. To má stěžejní význam i pro odhalování šíření multirezistentních kmenů.[33]

Patogenní a podmíněně patogenní mikroorganismy a jejich multirezistentní varianty se pochopitelně nešíří jenom v nemocničním prostředí, ale i v běžné populaci a stanou se každoročně pro mnoho lidí osudnými (např. meningokokové nákazy).

Práce díky zapůjčenému přístroji – aeroskopu Sampl'Air firmy BioPro je příspěvkem k částečnému překlenutí nedostatečných znalostí v této oblasti a kladla si dle dostupných možností tyto cíle:

- Porovnat stav ve vyšetřovaných objektech UTB se současnými normativními požadavky na kvalitu ovzduší v průběhu provozu.
- Zjistit účinnost používaných germicidních zářičů (tam, kde se využívají) jako prostředku k obnovení kvality ovzduší a navrhnout režim jejich aplikace.
- Kvantifikovat a pomocí biologických charakteristik, dostupných biochemických kvalitativních testů typizovat vybranou skupinu mikroorganismů – stafylokoků – izolovaných ve vyšetřovaných objektech UTB a porovnat jejich výskyt v prostorách v provozu mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova
- Porovnat a zhodnotit stav, význam a využívání mikrobiologického monitorování ovzduší jako jedno z možných metodických přístupů v technologii a hygieně ovzduší
- Zhodnotit funkčnost, snadnost práce a kvalitu zapůjčeného přístroje.

I. TEXT TEORETICKÁ ČÁST

1 PROBLEMATIKA OVZDUŠÍ

Vzduch je pro člověka životním prostředím. Význam kvality ovzduší vynikne z faktu, že dospělý člověk vdechne za 24 hod cca 20 m³ vzduchu, což představuje při 24°C 24 kg. Ve srovnání s denní spotřebou přibližně 1,5 kg potravin a příjmem asi 2 l vody je to značné množství. Navíc vodu a potraviny lze upravovat různými způsoby, ale člověk je vždy odkázán na ovzduší ve kterém se nachází. [21]

V současné době se pozornost věnovaná znečištění vzduchu přesouvá z venkovních prostředí do vnitřních budov. Je to dáno především tím, že člověk v našich klimatických podmínkách tráví okolo 95 % denní doby uvnitř uzavřených prostor. S přihlédnutím k vzájemné výměně vnějšího a vnitřního ovzduší se jeví vliv vnitřního ovzduší na zdraví v porovnání s vlivem vnějšího ovzduší ne-li dominantní, tedy alespoň jako rovnocenný.

Znečištění vnitřního prostředí pochází z prostředí venkovního a ze specifických vnitřních zdrojů. Parametry prostředí budov závisí na stavu venkovního ovzduší, na počtu osob, které se v něm zdržují a jejich činnostech. Dále je také ovlivňují použité stavební materiály, splnění požadavků na větrání, typy instalovaného technického zařízení, vytápění a vnitřní vybavení interiéru, ale také způsob získávání teplé vody a energie. To všechno jsou potenciální zdroje škodlivin a jiného zhoršování vnitřního prostředí.

Za hlavní škodliviny vnitřního prostředí jsou považovány oxidy dusíku, formaldehyd, těkavé organické látky, roztoči a mikroorganismy. Některé z těkavých organických látek ve vnitřním prostředí jsou produkovány také činností mikroorganismů. Všechny škodlivé látky ve vnitřním prostředí působí na zdraví člověka komplexně, pouze ve výjimečných případech dochází k expozici jen jedné škodlivé látky. Odhad zdravotního rizika je tudíž velmi obtížný. Jednotlivé látky mohou mít aditivní, synergické nebo antagonistické interakce-např. oxidy dusíku zvyšují zdravotní důsledky inhalace alergenů, včetně plísní a bakterií. [29]

1.1 Legislativní východiska

Problematika výskytu zdrojů znečištění ovzduší je propracována a definována prostřednictvím ČSN o kvalitě ovzduší a ochraně ovzduší. Tyto normy zahrnují metodiku stanovení jednotlivých parametrů a možnou úroveň znečištění v jednotlivých prostředích. Tyto normy ovšem neřeší problematiku kontaminace ovzduší biologickými činiteli.

Nejvýznamnější normy ve vztahu k ovzduší:

ČSN ISO 9169 Kvalita ovzduší – Stanovení charakteristik metod měření.

ČSN ISO 4225 Kvalita ovzduší - Obecná hlediska – Slovník

ČSN EH ISO 16017-1 Vnitřní, venkovní a pracovní ovzduší – Odběr vzorků těkavých organických sloučenin sorpčními trubicemi, tepelná desorpce a analýza kapilární plynovou chromatografií.

ČSN 83 4011 Ochrana ovzduší. Zdroje znečišťování ovzduší. Názvosloví.

ČSN 83 4421 Ochrana ovzduší. Emise znečišťujících látek z motorových vozidel. Názvosloví a rozdělení.

ČSN 83 4501 Ochrana ovzduší. Měření emisí ze zdrojů znečišťování ovzduší. Základní pojmy, názvosloví a rozdělení. [26]

Problematiku úrovně kontaminace ovzduší mikroorganismy řeší § 13 zákona č. 258/2000 Sb., O ochraně veřejného zdraví.

V souladu s tímto zákonem jsou uživatelé staveb zařízení pro výchovu a vzdělávání, vysokých škol, škol v přírodě, staveb pro zotavovací akce, staveb zdravotnických zařízení léčebně preventivní péče, ústavů sociální péče, ubytovacích zařízení, staveb pro obchod a pro shromažďování většího počtu osob povinni zajistit, aby vnitřní prostředí pobytových místností v těchto stavbách odpovídalo hygienickým limitům chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů, upravených prováděcími právními předpisy. Jeden ze sledovaných biologických ukazatelů, uvedený v návrhu vyhlášky k výše uvedenému zákonu, jsou koncentrace mikroorganismů, tj. bakterií a plísní v ovzduší.

Další právní předpis, který popisuje danou problematiku je:

ČSN EN 13098 Ovzduší na pracovišti - Směrnice pro měření vzdušných mikroorganismů a endotoxinů

Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí definuje Evropská unie ve zprávě 14988.

EUR 14988 (Report No. 12: Biological Particles in Indoor Environments, Commission of the European Communities, Report No. 12, Luxembourg, 1994)

Tato směrnice dělí vnitřní prostředí na dvě kategorie:

1. Domácnosti a neprůmyslové prostředí, s výjimkou nemocnic
2. Nemocnice

Tyto kategorie znečištění jsou uváděny Evropskou unií na základě průměrných naměřených hodnot v ovzduší vnitřního prostředí.

Hodnocení se provádí po zařazení stanovené koncentrace bakterií a plísní v ovzduší do jedné z pěti kategorií znečištění: velmi nízké, nízké, střední, vysoké a velmi vysoké.

Kultivace mikroorganismů byla provedena dle :

ČSN ISO 4833 Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.

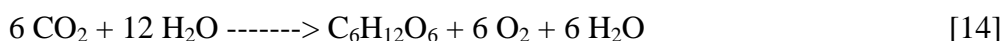
ČSN EN 13098 Ovzduší na pracovišti - Směrnice pro měření vzdušných mikroorganismů a endotoxinů.

2 VÝVOJ A SLOŽENÍ OVZDUŠÍ

Atmosféra se vyvíjela spolu s pevným tělesem Země asi 4,5 miliardy let a prodělala složitý vývoj. Za nejvýznamnější změnu v chemickém složení vzduchu lze považovat vznik života na Zemi, přesněji rozvoj zelených rostlin. Současný obsah kyslíku v ovzduší je nepochybně produktem fotosyntézy. [24]

Volný kyslík se v atmosféře objevil mnohem později, asi před dvěma miliardami let, možná až před 1,5 miliardami let. Ozónová vrstva odstínila ultrafialové záření, které ničí organické složky a proto se život zprvu rozvíjel ve vodě, kam toto záření neproniká a v oblastech, které byly před UV zářením chráněny. V tomto prostředí žily na Zemi řasy a takové organismy, které dokázaly uskutečňovat fotosyntetické reakce. V okamžiku, kdy koncentrace atmosférického kyslíku dosáhla asi 1 %, došlo k výraznému rozvoji života. [25]

Při fotosyntéze se využívá energie slunečního záření k syntéze energeticky bohatých organických sloučenin (cukrů) z jednoduchých anorganických látek - oxidu uhličitého a vody. Uvedený proces, probíhající v chloroplastech za účasti fotosyntetických barviv (hlavně chlorofylu), lze velmi zjednodušeně vyjádřit následující sumární rovnicí:



2.1 Složení vzduchu

Atmosféra je směs plynů a par, v nichž se ve formě aerosolů vyskytují i další organické a anorganické látky. [17]

Vzduch je směsí plynů nižších vrstev atmosféry. Při hladině moře se suchý vzduch skládá ze 78,08 % dusíku, 20,95 % kyslíku, 0,93 % argonu a 0,03 % oxidu uhličitého a zastoupena jsou velmi malá množství ostatních plynů. Vodní páry jsou zastoupeny v různém množství. [19]

2.1.1 Složení vnitřního ovzduší

Kyslík

Ve vnitřním prostředí se koncentrace kyslíku vlivem dýchání přítomných osob snižuje. Za běžných okolností nepřesahuje toto snížení 1% oproti normálnímu složení.

Při normálním tlaku se jeho nedostatek začíná projevovat zřetelnými obtížemi až tehdy, když koncentrace kyslíku klesne na 10-12 objemových procent.

Oxid uhličitý

Je produkován samotnými lidmi (ve vydechovaném vzduchu jsou 4 % CO₂), a dále vzniká například při spalování zemního plynu a je významnou složkou cigaretového kouře. Proto je používán jako indikátor znečištění ovzduší ve vnitřních prostorech.

Koncentrace nad 1 % již u některých osob působí obtíže. Při 2 % objemových se již projevuje snížení pozornosti, při 4-6 % se prohlubuje dýchání.

Vodní páry

Jsou stálou součástí ovzduší, ale jejich obsah v atmosféře je závislý na teplotě, tlaku a proudění vzduchu. [17]

Ke zvýšení vodních par ve vnitřním prostředí dochází vlivem dýchání – člověk v klidu vyprodukuje 8 g vodních par za hodinu, a dalších lidských činnostech, které jsou rozdílné dle charakteru místnosti.

2.1.2 Znečišťující plynné imise

Oxid siřičitý

Do ovzduší se dostává např. s kouřovými emisemi ze spalování paliv fosilního původu obsahující síru (uhlí, ropa).

Oxid siřičitý způsobuje hlavně poškození výstelky dýchacích cest.

Oxid uhelnatý

V lokalitě kolem dopravních cest se může vnější ovzduší podílet na koncentraci tohoto plynu v interiérech z 30 až 100 %. Na imisích ve vnitřním prostředí se však podílí i kouř z tabákových výrobků, nedokonalé spalování v topeništích a na plynových vařičích. Oxid uhelnatý vazbou na červené krevní barvivo brání přenosu kyslíku k buňkám a dochází k tzn. vnitřnímu dušení. To se projevuje bolestmi hlavy, malátností a při vysokých koncentracích může dojít až k smrtelné otravě.

Formaldehyd

Je bezbarvý plyn ostrého zápachu. Zdrojem jsou výrobky z lisovaného dřeva spojené močovino-formaldehydovou nebo fenol-formaldehydovou pryskyřicí. Uvolňuje ho i syntetické linoleum, podlahoviny, nátěry, barvy, tapety a textilie.

Úroveň kontaminace vnitřního ovzduší závisí na stavebních materiálech a intenzitě větrání – formaldehyd je poměrně dobře větratelný.

Kromě dráždění očí, nosu a hrdla může formaldehyd u některých osob vyvolat dýchací potíže, kašel, vyrážku a další alergické reakce.

Formaldehyd je imunosupresivní a podezřelý z národotoxického účinku.

Oxidy dusíku

Biologicky aktivní pro člověka je oxid dusičitý – NO₂. Oxidy dusíku se do interiéru dostávají jednak z vnějšího ovzduší, kde jsou hlavními zdroji výfukové plyny a emise spalování fosilních paliv, avšak ve větší míře jsou vnitřní prostory zatěžovány produkty spalování plynu při vaření.

Oxid dusičitý dráždí hlavně dýchací cesty.

Ozón

Většina ozónu je koncentrována ve stratosféře, kde vzniká fotochemickými reakcemi z kyslíku a jeho význam spočívá v ochraně zemského povrchu před dopadajícím ultrafialovým zářením. Tento ozón není pro člověka zdravotní hrozbou.

Člověka ohrožuje ozón nacházející se v přízemních vrstvách atmosféry. Zde je ozón sekundární emisí, z velké části je vytvořený fotochemickou reakcí NO₂ (z výfukových plynů). Ve vnitřním prostředí je ozón spojen s činností záření využívající vysoké napětí a ultrafialové zařízení. Dále jde o zařízení využívající ozón pro čištění vzduchu a vody. Ovšem množství ozónu v místnostech závisí hlavně na venkovní koncentraci ozónu.

Nízké koncentrace způsobují podráždění očí, dýchacích cest, vyšší koncentrace může narušit činnost plic.

Dlouhodobé působení má za následek poškození plicní tkáně a změny v centrálním nervovém systému. [19]

Těkavé organické sloučeniny

Do ovzduší se uvolňují ze stavebních materiálů, z čistících prostředků, z textilií, z barev, při kouření tabákových výrobků, z nedokonalého spalování apod. Patří sem např. alifatické uhlovodíky, cykloalkany (cyklohexan), aromáty (benzen, toluen), polyaromatické uhlovodíky (benzopyren) a další.

2.1.3 Znečišťující tuhé emise

Azbest

Karcinogenní látka, která by z našeho prostředí měla být jednoznačně eliminována.

Používá se pro tepelné izolační materiály, protipožárních zástěnách apod.

Tuhý aerosol

Zdroje prachu jsou prachové částice z vnějšího ovzduší a prach vznikající činností lidí.

Podle velikosti se dělí na hrubý, jemný a respirovatelný. Za ten se považují prachové částice velikosti 100 μm a menší – díky své velikosti se dostává hluboko do plic, kde zůstává trvale usazen.

Částice větších rozměrů se zachytí v horních a středních cestách dýchacích. [10]

3 PŘÍTOMNOST MIKROORGANISMŮ V OVZDUŠÍ

3.1 Obsah mikroorganismů ve vzduchu

Mikroorganismy jsou přítomny ve všech složkách životního prostředí: vodě, půdě i ovzduší. Výskyt mikroorganismů v ovzduší bývá označován pod pojmem bioaerosol. Bioaerosol obsahuje vzdušné částice, které obsahují mikroorganismy a jejich produkty jako jsou metabolity, toxiny a jejich fragmenty. [35]

Vzduch je znečištěný nejvíce při zemském povrchu. Směrem od země do výšky se množství bakterií úměrně snižuje. Při výstup do vzduchu je vzduch čistější dokonce i nad velkými průmyslovými městy. Je uváděno, že už ve výšce 500 m nad Moskvou neobsahuje litr vzduchu víc jako 2-3 bakterie, ve výšce 1000 m průměrně 1,5 bakterie a ve výšce 2000 m průměrně 0,5 bakterií. Ve vzdálenosti 5-7 km od města je ve stejné výšce 2-3 krát méně bakterií než v atmosféře přímo nad městem. Mikroorganismy se dají zjistit i ve stratosféře, ale jejich počet je zde minimální.

Poměrně málo mikroorganismů obsahuje i atmosféra nad rozsáhlými lesy, nad mořem a nad oceány.

Ve městech je ovzduší v důsledku intenzivního pouličního ruchu znečištěné mnohokrát více než za hranicemi měst. V oblastech se zelení a v malých prostorách je obsah mikroorganismů ve vzduchu menší než na ulicích a náměstích bez zeleně. [21]

3.1.1 Vlhkost stěn

Vlhké stěny jsou osidlovány mikroorganismy, které jsou většinou původem z venkovního prostředí. Když na stěnách často žijí konsorcia mikroorganismů – bakterie, aktinomycety, kvasinky a plísně, je pozornost věnována především plísním. Plísně se na vlhkých stěnách rozmnožují a v závislosti na ostatních podmínkách (druh podkladu, živiny a teplota) vytvářejí útvary různé velikosti a vzhledu, tzn. mapy. [8]

Jednotlivé druhy mikroskopických vláknitých hub mají různou schopnost se uvolňovat a stát se součástí bioaerosolu vnitřního ovzduší, ze kterého mohou být inhalovány člověkem. Dalším důvodem pro stanovení koncentrace plísní v ovzduší je skutečnost, že není přímá korelace mezi plochou kontaminovanou plísněmi a jejich koncentrací ve vzduchu. [8]

3.1.2 Voda ve vodovodních rozvodech

V této vodě se vyskytují mikroorganismy, které se cestou vzdušného aerosolu mohou dostat do dýchacího systému člověka a způsobit mu vážné zdravotní problémy.

Např. bakterie rodu *Legionella* (izolované z teplé vody opt. 30 – 50°C) představují skupinu grampozitivních bakterií, které jsou v poslední době velmi často uváděny v souvislosti s onemocněním lidí (zvláště jedinců s oslabeným imunitním systémem) po inhalaci kontaminovaného aerosolu. [31]

3.1.3 Vnitřní zařízení

Z vnitřního zařízení je nejdůležitější tzn. „měkký nábytek“, tj. koberce, čalounění, závěsy a ostatní předměty, které umožňují usazování prachových částic. Z pracovního prostředí je nutné se zmínit o archivech, kde na volně uložených materiálech se na prachové částice váží mikroorganismy, zejména plísně, které se při víření vzduchu s prachem dostávají do ovzduší. [31]

Technické systémy ovlivňující koncentrace mikroorganismů v ovzduší

Ke zvýšení koncentraci mikroorganismů ve vnitřním prostředí může dojít v případech nedostatečné kontroly při používání zařízení, která ovlivňují kvalitu vzduchu vnitřního prostředí:

- Klimatizační a vzduchotechnické systémy (zařízení pro regulaci vlhkosti vnitřního vzduchu nebo vzduchu přiváděného do budov)
- Filtrační systémy (zařízení pro čištění vzduchu v ústředních vzduchotechnických zařízeních, v okenních klimatizačních jednotkách a jiná filtrační zařízení)
- Jiné klimatizační prvky a systémy (speciální větrací otvory, odsávací ventilátory pro jednotlivé prostory, systémy pro přirozené větrání větracími průduchy, systémy pro nucené větrání, vzduchotechnická potrubí a jejich součásti).

Z mikrobiologicko-hygienického hlediska je při použití těchto zařízení důležité sledovat nejen průtok vzduchu, účinnost při odstraňování ostatních škodlivých látek ze vzduchu, ale i kontrola mikrobiologické čistoty vnitřního ovzduší.

V případě instalace technického zařízení na údržbu vzduchu v interiéru je důležitá řádná údržba těchto zařízení včetně pravidelné výměny filtrů dle doporučení výrobce. [31]

Aktivita osob

Vydechováním osob, které se nachází v daných prostorách, se do ovzduší dostávají mikroby nacházející se na sliznici dýchacích cest, což je příčinou kapénkové infekce.

Pohybující se osoby dále zvyšují koncentraci mikroorganismů v ovzduší převážně vířením prachu. [31]

Klimatické podmínky

Výskyt mikroorganismů v ovzduší ovlivňují i klimatické podmínky.

Atmosférické srážky při průchodu vzdušnou vrstvou rozpouštějí a absorbují plyny a částičky suspendované ve vzduchu. V 1 ml dešťové vody ve větších městech jsou stovky až tisíce mikroorganismů.

Po dešti nebo sněžení se atmosféra do jisté míry očišťuje od mikroorganismů. Naopak vítr, nejvíce při suchém počasí, zvedá prach z povrchu země a vodní kapky z nádrží a tak zvyšuje počet mikroorganismů ve vzduchu. Nejvíce mikroorganismů obsahuje atmosféra v létě a nejméně v zimě. [21]

3.2 Faktory působící na mikroorganismy

Záření

Na bakterie působí škodlivě každé záření, které může být absorbováno buňkami a vyvolávat v nich chemické změny. Škodlivost účinku závisí na množství energie obsažené v absorbovaném kvantu, přičemž obsah energie v kvantu závisí nepřímo na vlnové délce záření.

Chemické změny molekul, případně atomů, vyvolávají kvanta záření absorbovaná bakteriální buňkou o vlnové délce zhruba do 1000 nm. Energie světelných kvant o větší vlnové délce je příliš malá, než aby stačila k vyvolání chemických změn. [11]

Sluneční světlo

Je nejpřirozenější zdroj záření, které působí destruktivně na bakterie. Výjimkou jsou fototrofní bakterie, pro které je sluneční záření zdrojem energie.

Na buňky bakterií může sluneční záření působit i nepřímo změnami příslušného prostředí. Např. stafylokoky nerostou na agarových plotnách vystavených po několik hodin účinku

slunečního světla. Soudí se, že v ozařované půdě vznikají toxické zplodiny typu peroxidů, které působí baktericidně. [11]

Ultrafialové záření

Ultrafialové záření (UV) má silné mutagenní a letální účinky na mikroorganismy. Největší mutagenní a letální účinky má UV záření o vlnové délce, jež je nejvíce absorbována nukleovými kyselinami a nukleoproteiny a to je UV záření s vlnovou délkou 265 nm. Ačkoliv i sluneční světlo je zčásti složeno z UV paprsků, většina záření o kratších vlnových délkách je zadrženo atmosférou, takže dopad UV paprsků na Zemi je velmi omezen. Z toho důvodu má sluneční světlo menší baktericidní účinek než samotné UV paprsky používané v laboratoři. Vlnové délky germicidních lamp se pohybují obvykle v oblasti 210 až 310 nm. [11]

Mechanismus působení

Intenzita účinku UV světla je závislá na množství pohlceného záření, jež je úměrné síle zdroje a době ozařování a klesá se čtvercem vzdálenosti od zdroje záření. Pronikavost UV záření je velmi malá, a proto se toto záření používá pouze pro sterilaci vzduchu, povrchovou sterilaci předmětů, pracovních ploch, provozního zařízení apod.

Účinnost UV světla se snižuje intenzivním osvětlením viditelných světlem, nebo krátce po něm (do tří hodin), neboť se umožňuje tzv. fotoreaktivace, tj. enzymové rozštěpení pyrimidinových dimérů. Kromě přímého účinku na nukleové kyseliny působí UV světlo také tvorbu toxických peroxidů a ozónu. [3]

Letální účinek UV paprsků, které jsou absorbovány hlavně pyrimidinovými bázemi thyminem a cytozinem, spočívá především v ionizaci a excitaci atomů, což má za následek poškození struktury, případně rozpad příslušných molekul. U thyminu tak vzniká dimerizace thyminu, která inhibuje replikaci DNA.

Tato změna spočívá v dimerizaci dvou sousedních molekul thyminu, které se nachází na stejném polynukleotidovém řetězci. Dimery, které se takto po ozáření UV světlem vytvoří jsou chemicky stabilní a lze je snadno zjistit chromatografií hydrolyzátů ozářené DNA.

Existují celkem tři opravné mechanismy, které umožňují buňkám po ozáření přežít. Jsou to fotoreaktivace, excizní a postreplikační oprava. [11]

Působení UV paprsků nemá vždy jen letální účinek, ale také může vést k poškození genetického materiálu a tím k mutačním změnám. Mutace se fenotypově projeví ztrátou schopnosti některé syntetické reakce, jako je například zvýšení intenzity některých metabolických procesů. Změny vyvolané tímto zásahem jsou dědičné.

Mikroorganismy se vzájemně značně liší svou odolností k účinkům UV světla. Poměrně odolné jsou např. spory rodů *Bacillus*, *Clostridium* a *Desulfotomaculum*, avšak ještě odolnější jsou buňky bakterií nebo kvasinek, které obsahují karotenoidní barviva. Také černě zbarvené spory plísní absorbují méně UV světla, a jsou proto k němu odolnější. Vyšší odolnost těchto barevných mikroorganismů k UV složce slunečního světla způsobuje, že se nacházejí jako častá vzdušná kontaminace. [3]

X paprsky

Jsou škodlivé nejen pro mikroorganismy, ale i pro buňky vyšších organismů. Na rozdíl od UV paprsků mají X paprsky značnou penetrační schopnost. [11]

Gama paprsky

Mají značnou schopnost pronikat hmotou a jsou pro mikroorganismy většinou letální. Bakterie jsou k tomuto záření citlivé podobně jako k UV záření a k X paprskům. [11]

4 PROBLEMATIKA OVZDUŠÍ VE VZTAHU KE ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Mikroorganismy jsou důležitou formou organického znečištění ve vnitřním prostředí. Obecně se jedná o saprofyty, jejichž existence je spojena s rozkladem organické hmoty. Zdravotní důsledky jsou známy i v souvislosti s inhalací saprofytických mikroorganismů. Někteří saprofyté se mohou stát příležitostnými patogeny – např. *Legionella*.

Člověk vždy inhaluje saprofytické mikroorganismy ve většině případů bez nějaké odezvy. Nemocí, které mají souvislost s pobytem v určitém vnitřním prostředí, však celosvětově přibývá. Mikroorganismy v aerosolu vnitřního prostředí mohou vyvolat několik nežádoucích účinků na zdraví, od nevolností a potíží smyslového ústrojí až k vážnému ohrožení zdraví. [29]

4.1 Mikroorganismy v ovzduší a jejich vliv na zdraví

Zdravotní obtíže způsobené mikroorganismy jsou jak nemoci dobře definované, tak méně dobře definované syndromy. Mezi nejznámější patří rýmy, kašel, bolesti hlavy, astma, záněty průdušek, atopické dermatitidy.

Bakterie a plísně jsou ve vnitřním prostředí významnými alergeny hned za roztoči, prachem a alergeny domácích živočichů.

Ze zdravotního hlediska je také závažná produkce toxinů. Ty jsou produkovány jak bakteriemi, tak plísněmi. Bakterie, zejména gram negativní tyčinky produkují enterotoxiny. K poškození lidského organismu dochází po inhalaci bakteriálních toxinů nebo digesci těchto látek.

Plísněmi produkované mykotoxiny mohou způsobovat mykotoxikózy.

V odborné literatuře se uvádí i jejich karcinogenní účinek a schopnost negativně působit na imunitní systém. [20]

Přesto, že je problematice inhalace mikroorganismů věnována pozornost již řadu let, jsou výsledky v mnoha ohledech nedostatečné. Jako jednu z mnoha okolností, které toto vysvětlují lze uvést to, že jsou exponováni lidé s rozdílnou úrovní obranyschopnosti imunitního systému, tak jako u jiných kontaminantů prostředí, i v tomto případě závisí důsledek na toxicitě a době expozice. Toxické působení mikroorganismů na lidský

organismus je ovlivněno jak koncentrací mikroorganismů, tak jejím složením a vlastnostmi jednotlivých kmenů a aktuálním stavem lidského organismu.

Mikroorganismy se mohou v různých místech vnitřního prostředí kumulovat a při vhodných podmínkách rozmnožovat. To znamená, že se za určitých podmínek mohou ve vnitřním prostředí vyskytovat v koncentracích několikanásobně vyšších, než je jejich koncentrace ve venkovním vzduchu.

Mikroorganismy, které jsou nejčastěji uváděny jako kontaminanty v ovzduší jsou:

Gram negativní: *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Legionella*, *Moraxella*, *Pseudomona*, *Xanthomonas*

Gram pozitivní: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Kocuria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*

Gramem se špatně barvící : *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Norcardiopsis*, *Streptomyces*, *Saccharopolyspora*

Kvasinky: *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*

Plísně, které produkují mykotoxiny: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Ulocladium sp.*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* [35]

4.2 Mikroorganismy jako infekční agens

Infekční onemocnění je výsledek invaze patogenního mikroba do hostitelského organismu. Vzniklý konflikt mezi oběma organismy se projeví klinickými znaky, charakteristickými pro určitou infekční nemoc. [7]

Invaze patogenního mikroorganismu do hostitelského organismu nemusí vždy vyvolat infekční onemocnění. Vznik onemocnění závisí v první řadě na vnímavosti hostitelského organismu k pronikajícímu infekčnímu agens.

Infekce je proniknutí mikroorganismu schopného vyvolat onemocnění do makroorganismu. Jak se toto projeví, záleží na výsledku vzájemného působení mikroorganismu a makroorganismu v podmínkách vnějšího a vnitřního prostředí. Skutečností je, že všichni lidé jsou schopni žít v koexistenci s mikroby schopnými vyvolat

nemoc, protože tkáně hostitele mají své přirozené obranné mechanismy. Toto vzájemné působení je velmi složité. Ze strany původce se uplatňuje celý komplex činitelů.

4.3 Vnímavost člověka k infekci

Patogenita je všeobecná vlastnost mikrobiálního druhu nebo rodu, je to schopnost vyvolat v organismu patologický stav charakterizovaný anatomickými a funkčními změnami.

Virulence je individuální patogenní schopnost mikrobiálního kmene pro určitý živočišný druh. Je konkrétním, kvantitativním vyjádřením jeho patogenity.

Patogenita i virulence jsou pojmy relativní, ne každý příslušník patogenního druhu musí být za každých podmínek virulentní. Nepatogenní bakteriální druhy nejsou schopny překonat přirozené obranné mechanismy hostitele. Patogenní buď překonají obranu příležitostně, v průběhu koexistence, nebo překonají obranu rychle a vyvolají nemoc bezprostředně po infekci.

Rozdíly v individuální vnímavosti k patogennímu mikroorganismu se mohou měnit od maximální až po rezistenci. Tyto odlišnosti vyjadřujeme pojmem „dispozice k onemocnění“, která může být jak malá, tak velmi vysoká. [1]

4.4 Přenos původce nákazy

Přenos původce od zdroje k vnímavému jedinci se může uskutečňovat mnoha různými způsoby. Způsob jakým se přenos může uskutečnit, je určován třemi hlavními faktory:

1. Lokalizací původce ve zdroji
2. Vlastnostmi původce, hlavně jeho odolností k zevním vlivům
3. Vstupní bránou infekce

Tyto faktory odpovídají třem fázím přenosu: vyloučení původce z organismu, jeho pobyt ve vnějším prostředí a vstup do nového organismu. [1]

Dělení cest přenosu může být prováděno z různých hledisek:

1. Přenos přímý
2. Přenos nepřímý [2]

Přenos přímý

Přenos přímý přímým kontaktem s vnímavým jedincem a tedy s vyloučením prostředí je poměrně vzácný. Uskutečnit se může přímým stykem nemocné sliznice nebo kůže se zdravou a podobně.

Přenos nepřímý

Je uskutečňován prostřednictvím nejrůznějších faktorů přenosu.

V zásadě se může nepřímý přenos uskutečnit:

1. Ingecí
2. Inhalací
3. Inokulací

4.5 Respirační onemocnění

Základním znakem nálezů přenášených vzduchem je lokalizace infekčního procesu v dýchacích cestách a přenos je tím pádem uskutečňován vzdušnou cestou.

Nákazy přenášené vzdušnou cestou představují velkou skupinu, která může mít nejrůznější etiologii. Základní charakteristikou této skupiny je přenos původců nákazy, kdy vstupní bránou jsou horní cesty dýchací a vylučování těchto původců je opět sekrety dýchacích cest. Důležité je, že zdrojem nákazy u této skupiny je vždycky člověk. [5]

4.5.1 Vzdušné nákazy virové etiologie

Nejčastěji jsou to onemocnění z nachlazení, rýma nebo lehké onemocnění horních cest dýchacích. Celá řada virů může vyvolat onemocnění se stejnými klinickými obrazy. Jsou to viry parainfluenzae, některé typy adenovirů, reoviry a rinoviry.

Zdrojem nákazy je opět nemocný člověk, nebo kontaminované předměty. Onemocnění je charakteristické sezónním výskytem v zimních a jarních měsících.

Chřipka

Je akutní onemocnění s příznaky společnými pro většinu respiračních onemocnění - teplota, někdy i velmi vysoká, bolest hlavy, malátnost, bolest ve svalech, rýma, kašel.

Po několika dnech se mohou připojit komplikace bakteriálního původu. Původce jsou viry náležející do skupiny ortomyxovirů, který má tři sérotypy: A, B,C.

Zdrojem infekce je pouze člověk, nemocný nebo infikovaný, u něhož se onemocnění neprojevuje. Přenos je kapénkový, převládá přenos velkými kapénkami na malé vzdálenosti, možný je však i přenos malými kapénkami. Virus je přítomen v sekretu dýchacích cest již před začátkem klinických příznaků.

Chřipka se vyskytuje v epidemiích, nebo i v lokálních výskytech sporadicky.

Spalničky

Spalničky probíhají jako akutní horečnaté onemocnění.

Původcem onemocnění je skupina Paramyxovirů. Přenos onemocnění je uskutečňován přímým stykem, nebo nepřímo předměty denního užívání.

Zdrojem je vždy nemocný člověk.

Zarděnky

Ve většině případů probíhají zarděnky jako lehké horečnaté onemocnění. Časté jsou horečky a bolesti hlavy.

Původcem je virus rubeoly ze skupiny Toga virů.

Přenos je uskutečňován nejčastěji přímým stykem s nemocným člověkem, který je vždy zdrojem nákazy.

U výskytu je patrná určitá sezónnost a to vždy v zimním a jarním období.

Plané neštovice

Onemocnění začíná mírnou teplotou a postupně se vysévá exantém ve vlnách. Častou komplikací onemocnění je pneumonie. Zdrojem onemocnění je nemocný člověk.

Epidemický zánět průšnic

Původcem onemocnění je virus ze skupiny paramyxovirů.

Přenos je uskutečňován kapénkovou infekcí, přímým stykem s nemocným, nebo nepřímo pomocí kontaminovaných předmětů.

Zdrojem je jedině nemocný jedinec.

Neštovice

Onemocnění začíná teplotou, bolestmi hlavy, šije, malátností. Po poklesu teploty se začne vysávat exantém.

Původcem nákazy je virus za skupiny Pox virů.

Přenos je uskutečňován přímým stykem s nemocným, kapénkovou infekcí, ale i předměty denní potřeby.

Zdrojem je nemocný člověk.

Nákazy vyvolané adenoviry

Klinické projevy jsou velmi pestré, od respiračních onemocnění s horečkami, přes onemocnění spojivek a rohovky, až k onemocnění lymfatických tkání.

Nákaza se šíří kapénkovou infekcí, hlavně v úzkém kolektivu. Možný je i nepřímý přenos kontaminovanými předměty. Zdrojem nákazy je i v tomto případě nemocný člověk. Ovšem výskyt těchto onemocnění nemá sezónní charakter.

Infekční mononukleóza

Typickým projevem mononukleózy je angína se zvětšením podčelistních a dalších uzlin.

Přenos se děje přímým stykem, vzdušnou cestou.

[5]

4.5.2 Vzdušné nákazy bakteriální etiologie

Tuberkulóza

Původcem onemocnění je *Mykobacterium tuberculosis*.

Přenos se děje v převážné většině případů vzdušnou cestou, především kapénkovou infekcí.

Zdrojem je především člověk, ale mohou jím být i zvířata, především hovězí dobytek.

Lepra

Původcem onemocnění je *Mykobacterium leprae*

Nákaza se přenáší především sekrety z lézí, hlavně hnisem.

Zdrojem nákazy je výhradně nemocný člověk.

Záškrt

Původcem tohoto akutního horečnatého onemocnění je *Corynebacterium diphtheriae*.

K přenosu dochází především kapénkovou infekcí, ojediněle může dojít k přenosu nepřímým různými předměty.

Zdrojem je nemocný člověk, nosič v rekonvalescenci nebo zdravý bacilonosič.

Streptokokové nákazy

Původcem této skupiny nákaz je *Streptococcus pyogenes* skupiny A. Streptokoky skupiny B mohou vyvolat meningitidy a sepse u novorozenců.

Klinický obraz těchto nákaz může probíhat v nejrůznějších formách.

Spála a angína

Spála je v podstatě streptokoková angína s exantémem, který je vyvolán toxinem, produkovaným streptokokem.

Původcem je teda *Streptococcus pyogenes* skupiny A, někdy může spálu vyvolat i streptokok skupiny C a G.

Přenos je uskutečňován přímým kontaktem s nemocným spálou, angínou, nebo jinou streptokokovou nákazou, nebo nosičem.

Erysipel

Erysipel je streptokokové onemocnění kůže a podkoží.

Původce je *Streptococcus* skupiny A.

Přenos nákazy je možný přímo i nepřímo, věcmi denní potřeby apod.

Zdrojem je postižený člověk.

Dávivý kašel

Původce onemocnění je *Bordetella pertusis*.

Přenos nákazy je přímým stykem nemocným a uskutečňuje se kapénkovou infekcí. Nepřímou cestou je uskutečňován věcmi, potřísněnými hlenem.

Zdrojem nákazy je vždy člověk.

Meningokoková nákaza

Klinický průběh onemocnění má velmi pestrý obraz. Nejlehčí forma, nazofaryngitida, je nejčastějším onemocněním.

Tato forma může někdy přecházet v septikémii s teplotami, bolestí v kloubech a tvorbou petechií na kůži a sliznicích. Další nejvážnější forma je přestup krevní cestou na mozkové pleny a vznik hnisavé cerebrospinální meningitidy.

Původcem je *Neisseria meningitidis*.

Přenos probíhá vzdušnou cestou, kapénkovou infekcí, přímým stykem nemocným nebo bacilonosičem.

Zdrojem je zdravý člověk bacilonosič nebo člověk nemocný meningitidou.

Purulentní meningitidy

Etiologie onemocnění je velmi pestrá.

Původců je celá řada. Může jím být *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, zástupci rodu *Streptococcus* a dále např. *Listerie*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Flavobacterium*.

Přenos u primárních nákaz probíhá vzdušnou cestou, kapénkovou infekcí, přímým stykem, u sekundárních proniknutím agens z primárního ložiska krevní nebo lymfatickou cestou.

Zdrojem u primárních nákaz je člověk s onemocněním dýchacích cest. Někdy může být zdrojem nákazy nosič.

Bakteriální pneumonie

Onemocnění postihuje dolní dýchací cesty.

Etiologie bakteriálních pneumonií může být velmi rozmanitá. Původcem může být : *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella pneumoniae*.

Přenos probíhá vzdušnou cestou, přímým stykem s nemocným nebo nosičem, kteří jsou zdrojem nákazy.

Nákazy vyvolané *Haemophilus influenzae*

Původce nákazy je *Haemophilus influenzae*.

Přenos je kapénkovou infekcí, zdrojem je nemocný člověk.

Pneumokokové nákazy

Klinické formy onemocnění jsou velmi pestré. Původcem této nákazy je *Streptococcus pneumoniae*.

Přenos je uskutečňován přímým stykem, vzdušnou cestou, nemocným člověkem, ale i bacilonosičem.

Zdrojem je nemocný člověk bacilonosič, ale také zvířata, hlavně hlodavci.

Atypické pneumonie

Etiologie atypických pneumonií je velmi pestrá. Mohou to být viry (nejčastěji chřipkové viry A a B), chlamydie, mykoplazmata, mykózy a prvoci.

[5]

4.5.3 Ostatní akutní respirační onemocnění (ARI)

Zvláštní skupina onemocnění, kterou nelze zařadit podle původce, je akutní respirační infekce (onemocnění /ARI,ARO/).

Tato onemocnění jsou nejrozšířenější skupinou mezi nákazami, které jsou přenášeny vzdušnou cestou. Jsou nejčastějším lidským onemocněním vůbec. Uvádí se, že dospělý člověk prožije v průměru dvě taková onemocnění do roka. Akutní respirační onemocnění se vyskytuje hlavně v zimních měsících, kdy se zvyšuje možnost přenosu vzdušnou cestou zvýšeným pobytem lidí v místnostech. [23]

Výčet možných původců infekcí dýchacích cest by měl, pokud jde o druhy, více než 100 položek. Původce lze určit pouze přesným virologickým a mikrobiologickým vyšetřením. Z 80 % tato onemocnění způsobují viry a *Streptococcus pneumoniae*. Na zbylých 20 % se podílejí nejružnější infekční agens. Z mikrobusů jsou to především streptokoky, dále stafylokoky, neisserie a *Haemophilus influenzae*. [4]

4.5.4 Onemocnění způsobené kvasinkami a plísněmi

Mykoalergózy

Tento pojem označuje přecitlivělost na některé metabolické produkty, nejčastěji jde o různé typy spor. Dochází k podráždění spojivek, dýchacích cest, vznikají alergická respirační onemocnění, bronchitidy. Zhoršují se také již vzniklá onemocnění jiného původu.

Podle statistiky alergologů jsou plísně jako alergeny na třetím místě za pyly a roztoči. [12]

Vláknité mikromycety produkují při svém růstu do prostředí těkavé organické látky – mykotoxiny. Pokud se člověk dlouho vystavuje zaplísněnému prostředí dodatečně dlouho, mohou tyto látky vyvolávat bolesti hlavy, dráždění spojivky očí, sliznice nosu, uší a způsobovat únavu. Působí také jako alergeny.

Z alergie způsobené plísněmi, které se vyskytují ve vnitřním ovzduší, jsou nejčastěji zodpovědní zástupci rodů:

Alternaria – Vyskytuje se nejčastěji na jaře a na podzim při zvýšené vlhkosti, v domácím a pracovním prostředí člověka na odumřelých i živých rostlinách.

Cladosporium - Jejich výskyt je sezónní na vlhkém zdivu a na omítkách, jako součást domácího a pracovního prostředí na organických substrátech.

Botrytis (*B. cinerea*) – Častý je výskyt zárodků v ovzduší panelových domů, na odumřelých i živých rostlinách a vlhkém vzduchu.

Aspergillus – Nejčastější výskyt je na podzim, v domácnostech především na rostlinných zbytcích a v půdě.

Penicillium – Typický půdní mikroorganismus, je součástí domácího prachu, velmi častý v ovzduší. Výskyt je celoroční.

Mucor – Nachází se v půdě, v domácím prachu a pracovním prostředí člověka a to v domácím prachu, dále v tělocvičnách.

Mykotoxikózy

Další významnou schopností mikroskopických vláknitých hub je produkovat sekundární metabolity – mykotoxiny, které vyvolávají řadu onemocnění, chronických i akutních, které

častou mohou končit smrtí. Záleží ovšem na tom, jaké množství toxinů se dostane do organismu.

Některé mykotoxiny jsou prokázané karcinogeny (např. aflatoxin). Mykotoxiny produkuje nejen mycelium do substrátu, ale mohou být obsaženy i ve sporách plísní. [12]

Jedním z nejvýznamnějších onemocnění této skupiny je pulmonální mykotoxikóza. Onemocnění se projevuje náhlým horečnatým stavem se zimnicí, kašlem, chrapotem případně dalšími příznaky. Typicky je bezprostředně předchází práce nebo jiná tělesná námaha v silně zaprášeném prostředí, prach obsahuje spory a další částice plísní. [20]

4.5.5 Nosokomiální nákazy

Nosokomiální - nemocniční nákazy jsou definovány jako infekce, které při příjmu do zdravotnického zařízení pacient neměl ani ve fázi inkubace. Mnoho nosokomiálních nákaz je přenášeno vzdušnou cestou.

Nosokomiální nákazy (NN) postihují na jednotkách intenzivní péče (JIP) asi 30 % pacientů a jsou podstatou závažné nemoci a úmrtnosti.

NN mohou postihnout kteroukoliv oblast těla. Nejčastější však bývá postižení dýchacích cest, následované katetrovými infekcemi, infekce močového traktu a ran.

Původcem NN se může stát každý mikrob.

V řadě případů má NN polymikrobiální etiologii. V posledních letech převládají mezi původci NN gram pozitivní mikrobi.

Projekt surveillance a kontroly epidemiologicky významných patogenů ukázal, že 64 % nosokomiální bakteriémie bylo vyvoláno gram pozitivními koky. K často nalézaným původcům NN patřil: *Staphylococcus aureus* (30 %), *Pseudomonas aeruginosa* (29 %), koaguláza-negativní stafylokoky (nejčastěji *Staphylococcus epidermis*) (19 %), kvasinky (17 %), *Escherichia coli* (13 %), enterokoky (12 %), *Acinetobacter spp.* (9 %) a *Klebsiella spp.* (8 %). [27]

Děle i kvasinky, zejména *Candida spp.*, jsou stále častějšími původci NN.

4.5.6 Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice

Do evropských zemích zapojených v síti EISS (European Influenza Surveillance Scheme), patří také Česká republika. Z toho vyplývá povinnost podávat pravidelná

hlášení sumarizovaná a zpracovávaná SZÚ v Praze. Jsou zde vedle chřipky a ostatním chřipce podobným infekcím označovaným jako ILI (influenza-like illness) zpracovávána i data a hlášení o akutních respiračních infekcích.

Stav je popisován dle typu onemocnění, kmenu původce, výskytu v kalendářních týdnech a trendech onemocnění v jednotlivých věkových kategoriích. [34]

Každoročně představují ARI nejenom ČR, ale i jinde ve světě značné ekonomické ztráty. Zásadní podíl na šíření těchto infekcí má bezesporu ovzduší. Je s podivem jak málo se věnuje pozornosti tomuto faktoru a to nejenom v epidemiologickém vztahu člověk - ovzduší - člověk, ale i člověk - ovzduší - potravina.

Vývoj vybraných bakteriálních vzdušných nákaz za léta 2002 – 2005 v ČR také demonstruje Tab. 1

Tabulka 1: Vývoj vybraných bakteriálních nákaz za léta 2002 – 2005 v ČR

Název onemocnění	2002	2003	2004	2005
Meningokoková onemocnění	95	81	87	90
Legionelóza	16	10	13	10
Závažné hemofilové infekce	47	36	16	11
Bakteriální meningitida	135	132	125	144

Stav Epidatu ke dni 15.6.2006 [28]

5 STAFYLOKOKY JAKO MOŽNÝ PATOGEN

Stafylokoky jsou grampozitivní koky velikosti asi 1 μm , které se vyskytují jednotlivě, v párech, v tetrádách, ve velmi krátkých řetězcích o nejvýše čtyřech buňkách a především v nepravidelných shlucích tvaru hroznů. Mohou mít pouzdra. Jsou nepohyblivé. [6], [41]

Zástupci tohoto rodu jsou fakultativně anaerobní druhy, takže jsou schopni zkvašovat cukry za tvorby kyselin. Tvoří žluté až oranžové kolonie, některé kmeny však tvoří i kolonie bílé. Rozmnožuje se i na 10 hmotnostních % chloridu sodného, čehož lze využít k selektivní kultivaci stafylokoků. Stafylokoky dobře snášejí nepříznivé zevní podmínky a patří mezi nejodolnější nesporeující bakterie. [3], [6]

Stafylokoky jsou ve vztahu ke člověku součástí fyziologického osídlení kůže a sliznic a chovají se jako potenciálně patogenní.

Stafylokoky působí hnisavé záněty kůže povrchové i hluboké. Původcem onemocnění je nejčastěji *Staphylococcus aureus*. Přenos je uskutečňován vzdušnou cestou, přímým stykem s nemocným, eventuelně nosičem, ale i nepřímo kontaminovanými předměty. Zdrojem je nemocný člověk s hnisavými afekcemi kůže, onemocnění dýchacích cest nebo nosiči stafylokoků na sliznici horních cest dýchacích. [5]

Stafylokoková enterotoxikóza

Pro toto onemocnění je charakteristický náhlý začátek s nauseou, křečemi a zvracením, obvykle i s průjmem. Příznaky jsou vyvolány enterotoxinem *Staphylococcus aureus*. Nákaza je přenášena požitím potravy, která byla kontaminována tímto mikroorganismem a po určitou dobu uchována za podmínek, které umožnily pomnožení stafylokoků a produkci enterotoxinu.

Zdrojem je člověk postižený stafylokokovou infekcí, obvykle kožní, ale i s onemocněním horních dýchacích cest, s nosním nosičstvím, případně s angínou. [5]

U rodu *Staphylococcus* bylo již popsáno 47 druhů, z nichž jen některé se uplatňují v humánní medicíně, ostatní se vyskytují pouze u zvířat. [32]

Pro ukázkou nečastěji zastoupených kmenů KNS, uvádím jejich četnost jak ji publikoval Petráš v roce 2004.

Tabulka 2: Četnost kmenů KNS humánního klinického materiálu zaslaných NRL v letech 1998-2003 [24]

Pořadí	<i>Staphylococcus</i>	Počet kmenů	%
1	<i>S. epidermis</i>	995	33,5
2	<i>S. haemolyticus</i>	664	22,3
3	<i>S. hominis subsp. hominis</i>	363	12,2
4	<i>S. hominis subsp. novobiosepticus</i>	264	8,9
5	<i>S. weneri</i>	95	3,2
6	<i>S. lugdunensis</i>	77	2,6
7	<i>S. sciuri subsp. sciuri</i>	71	2,4

8	<i>S. saprophyticus subsp. saprophyticus</i>	54	1,8
9	<i>S. capitis subsp. urealyticus</i>	52	1,8
10	<i>S. capitis subsp. capitis</i>	42	1,4
11	<i>S. xylosus</i>	41	1,4
12	<i>S. simulans</i>	40	1,3
13	<i>S. intermedius</i>	37	1,2
14	<i>S. pasteurii</i>	34	1,1

Z hlediska patogenity pro člověka má význam dělení stafylokoků podle schopnosti tvořit plazmakoagulázu na koaguláza pozitivní a koaguláza negativní.

Koaguláza negativní stafylokoky (KNS)

Koaguláza negativní stafylokoky jsou běžně součástí flóry, ale projevují se také jako potencionální patogeny, které se mohou uplatnit jako patogeny u oslabeného jedince. Většinou se jedná o predisponované jedince. KNS vyvolávají onemocnění především u pacientů, kteří jsou oslabeni, ať už nízkým nebo vysokým věkem, případně při léčbě imunosupresivy.

Ze všech KNS jsou nejčastěji původci lidských onemocnění *S. epidermis* a *S. saprophyticus*. [6]

Koaguláza pozitivní stafylokoky (KPS)

Koaguláza pozitivní druh *S. aureus* je významným lidským a zvířecím patogenem. Další koaguláza pozitivní druh *S. intermedius* je součástí normálního bakteriálního osídlení kůže a sliznic zvířat a může být vyjíměčně izolován i u lidí, zejména u těch, kteří přicházejí do styku se zvířaty.

Koaguláza pozitivní jsou i některé kmeny *S. hyicus*, *S. aureus subsp. anaerobius*, *S. delphini*, *S. schleiferi subsp. coagulans* a *S. lutrae*. Tyto druhy se ovšem vyskytují pouze u zvířat. [6]

5.1 *Staphylococcus aureus*

Tato bakterie je dobře adaptovaná na život v lidském organismu. Její komplexní stěna a množství bílkovinných exoproduktů, jejichž bohatstvím *S.aureus* vyniká mezi ostatními bakteriemi, představují velký soubor antigenů a biologicky aktivních látek uplatňujících se jako faktory virulence či patogenity.

Lidský organismus je proti *Staphylococcus aureus* značně odolný. K onemocnění dochází zpravidla při oslabení organismu, nebo při infekci velkou dávkou virulentního kmen. Zdrojem infekce může být nemocný člověk nebo zvíře, ale také nosič nebo vlastní kolonizující stafylokoky. Více ohroženi jsou novorozenci, kojenci a starci.

Místem vstupu infekce jsou nejčastěji sliznice horních cest dýchacích, poškozená kůže a rány. Rozvoj infekce podporuje jakékoli oslabení organismu.

Od ostatních kmenů rodu *Staphylococcus* lze kmen *S. aureus* odlišit na základě některých typických vlastností jako např.:

Plazmakoagulázový test

Průkaz produkce volné koagulázy představuje jeden z nejspolehlivějších testů k diferenciaci stafylokoků na koaguláza pozitivní a koaguláza negativní. Nejčastěji se vyskytujícím stafylokokem je *Staphylococcus aureus*, dále se v klinickém materiálu člověka může prokázat *S. intermedius*, který se častěji vyskytuje u psů a dalších zvířat. [15]

Pro kmen *Staphylococcus aureus* je typická produkce enzymu plazmakoagulázy, kterou uvolňuje do svého okolí. Tato koaguláza působí srážení plasmy konverzí fibrinogenu na fibrin. Důkaz této produkce má diferenciálně diagnostický význam, protože ho netvoří jiný druh lidských stafylokoků. [18]

Aglutinace plazmatu

Vázaná koaguláza je koaguláza vázaná na bakteriální stěnu. Působí konverzi fibrinogenu na fibrin, což se projeví shlukováním bakterií suspendovaných v plasmě. Přítomnost shlukovacího faktoru je typická pro *Staphylococcus aureus*. [6]

Stanovení oxidázy

Enzym cytochrom – oxidáza je produkován mnoha organismy. Tento test je důležitý a běžně používaný pro screening a identifikaci mikrobiálních kultur. [37]

Stanovení katalázy

Kataláza je enzym rozkládající peroxid vodíku na volný kyslík a vodu. Zkouška zjišťuje schopnost testovaných bakterií produkovat katalázu. [15]

6 METODIKA HODNOCENÍ KONTAMINACE OVZDUŠÍ

Hygienický význam má vyšetřování koncentrace mikroorganismů ve vnitřním ovzduší, ve vzdušném aerosolu, protože ten je člověkem inhalován. Ve vnitřním prostředí se vyšetřuje směsná populace bakterií a směsná populace plísní.

V zásadě jsou metody vyšetřování stejné pro bakterie i pro plísně. Metody odběru vzorků pro stanovení koncentrací mikroorganismů se dělí na odběry vzduchu aktivním nasáváním a nebo volnou sedimentací.

Přístroje, které vzduch nasávají se nazývají aeroskopy. Vzduch je nasáván do vložených Petriho misek s agarovými živnými půdami, na vkládané proužky agaru se živnou půdou („stripy“), nebo do tekutin, ze kterých je prováděn rozsev. U aeroskopů je výhodou možnost vyjádřit výsledek jako počet mikroorganismů v jednom metru krychlovém

vzduchu. Tento způsob vyšetření je mnohem přesnější, výsledky jsou dobře srovnatelné. Rovněž doba měření je kratší a kolonie jsou rovnoměrněji rozptýleny po živné půdě. Nevýhodou je nutnost přístrojového vybavení.

Sedimentační metody využívají sedimentace částic vzdušného aerosolu na otevřené Petriho misky se živnými půdami. Při použití této metody je vyjádřením počet sedimentovaných mikroorganismů na misce za určitou časovou jednotku.

Výhodou této metody její jednoduchost, nenáročnost na materiál a pracovní postup. Sedimentační metoda je ale dost nepřesná, protože rychlost sedimentace částic je různá a je ovlivněna celou řadou vnějších faktorů, jako je velikost částic, proudění okolního vzduchu apod. [13], [29]

Po určité době expozice jsou uzavřené misky nebo stripy uloženy do termostátů. Po inkubaci jsou počítány kolonie bakterií, plísní a kvasinek, které vyrostly na agarech, miskách nebo stripech.

Obě metody dovolují stanovit počet tzn. „kultivovatelných“ mikroorganismů, které rostou za daných kultivačních podmínek.

Např.: Směsná populace bakterií: agarová půda dle ČSN ISO 4833, inkubace 48 hodin při 30°C

Směsná populace plísní: agarová půda dle ČSN ISO 7954, inkubace 3-5 dnů při 25 °C . [8]

6.1 Hodnocení kontaminace mikroorganismy

Hodnocení výsledků je v zásadě dvojitá: absolutní a relativní. Absolutní vychází ze stanovené koncentrace mikroorganismů ve sledovaném prostředí a z porovnání této hodnoty s koncentrací pro toto prostředí doporučenou.

Při relativním hodnocení se porovná koncentrace ve vnitřním prostředí s koncentrací v prostředí venkovním. [29]

6.1.1 Absolutní hodnocení směsné populace mikroorganismů

Hodnocení se provádí po zařazení stanovené koncentrace bakterií a plísní v ovzduší do jedné z pěti kategorií znečištění: velmi nízké, nízké, střední, vysoké a velmi vysoké. Tyto

kategorie znečištění jsou uváděny Evropskou unií na základě průměrných naměřených hodnot v ovzduší vnitřního prostředí (EUR 14988). Kategorie znečištění jsou odlišné pro domácnosti a neprůmyslové prostředí (s výjimkou nemocnic). [30]

Na základě těchto hodnot je možno zařadit vyšetřené prostředí do pěti kategorií znečištění: velmi nízké, nízké, střední, vysoké a velmi vysoké.(viz. Tab. 3 a 4)

Tabulka 3: Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí podle hodnot, které uvádí Evropská unie (EUR 14988) – kritérium směsná populace bakterií

Objekt	Domácnost	Neprůmyslové prostředí
Kategorie znečištění	Koncentrace (počet) bakterií na m ³	
Velmi nízké	< 100	< 50
Nízké	< 500	< 100
Střední	< 2 500	< 500
Vysoké	< 10 000	< 2 000
Velmi vysoké	> 10 000	> 2 000

Tabulka 4: Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí podle hodnot, které uvádí Evropská unie (EUR 14988) – kritérium směsná populace plísní

Objekt	Domácnost	Neprůmyslové prostředí
Kategorie znečištění	Koncentrace (počet) plísní na m ³	
Velmi nízké	< 50	< 25
Nízké	< 200	< 100
Střední	< 1000	< 500
Vysoké	< 10 000	< 2 000
Velmi vysoké	> 10 000	> 2 000

Hygienicky doporučenou hodnotou je koncentrace směsné populace bakterií a směsné populace plísní v kategorii znečištění do (včetně) střední. [30]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

Pro vlastní sledování ovzduší byly vybrány tři místnosti zvolené podle celkového objemu vzduchu (v m³) a cyklického provozu charakterizovaném počtem přítomných lidí v určitých intervalech. Z těchto hledisek můžeme místa sledování rozdělit na místnosti:

- s velkým objemem vzduchu – chodba,
- s menším objemem vzduchu – laboratoř,
- s malým objemem vzduchu – kabinet.

Z hlediska provozu pak opět na tři skupiny a to s frekvencí pohybu osob:

- velmi častou,
- střední,
- malou.

Ve všech místnostech byl odebírán vzduch pomocí aeroskopu Sampl'Air firmy BioPro podle doporučeného návodu výrobcem. Na úspěšnosti odběru se rozhodujícím způsobem podílí správný odhad zvolené časové expozice, kterou je nutné volit tak, aby počet vyrostlých kolonií splňoval optimální počet kolonií pro statistické předpoklady při jejich počítání. Časový sled odběrů byl volen náhodně a také frekvence provozu byla učiněna odhadem.

Ve všech místnostech byly kvantitativně stanoveny tři skupiny mikroorganismů:

- celkový počet aerobních bakterií,
- celkový počet kvasinek a plísní,
- celkový počet „stafylokokových“ bakterií.

Tyto hodnoty slouží pro porovnání stavu v prostorách UTB se současnými normativními požadavky na kvalitu ovzduší v průběhu provozu.

V laboratoři byl dále učiněn pokus o kontrolu účinku instalovaných UV zářičů v závislosti na provozu.

Byly provedeny odběry vzduchu v laboratoři po expozici UV zářiči. Expozice probíhala přes noc a režim byl nastaven na 5 hodin expozice.

Odběry byly prováděny ráno před zahájením výuky. Případný nárůst hodnot mohl být způsoben pohybem a přítomností osoby uskutečňující odběr.

Následně byly provedeny odběry na stejném místě, ve stejný den, během výuky, ale místnost byla plně obsazena studenty. Porovnání hodnot pro zjištění účinnosti UV zářičů by bylo vhodnější provést s hodnotami, které by se získaly odběrem vzduchu před vlastní expozicí UV zářičů. Tento odběr ovšem z technických a časových možností nebyl proveditelný a proto je porovnání provedeno s hodnotami, získanými v tentýž den, ale během provozu v místnosti.

Závěrečným cílem bylo kvantifikovat pomocí biologických charakteristik, dostupných biochemických kvalitativních testů, typizovat vybranou skupinu mikroorganismů – stafylokoků izolovaných ve vyšetřovaných objektech UTB a porovnat jejich výskyt oproti výskytu v prostorách mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova. [42]

Bakterie označené jako „stafylokokové“ byly podrobně testovány níže popsanými metodami, vyloučeny kmeny nenáležící do rodu *Staphylococcus* a se zbývajících provedena biochemické typizace pomocí testu Pliva-Lachema STAPHYTEST 16.

V tomto případě lze charakterizovat „stafylokokové“ bakterie jako gram pozitivní koky tvořící shluky, rostoucí na níže popsaném selektivním mediu. Podrobné testy ukázaly, že se zde objevují gram pozitivní koky jiných systematických skupin jmenovitě rodu *Micrococcus* a *Sarcina*.

6.2 Charakteristika místností

Veškeré místnosti a prostory v nichž bylo prováděno měření se nachází v pátém patře technologické fakulty. Toto patro bylo rekonstruováno a tato rekonstrukce byla ukončena v prosinci 2004.

Chodba 5. patra

Chodba, na níž bylo prováděno měření, má rozměry 6 metrů na šířku, 10 metrů na délku a vysoká je 4 metry, což s objemem 240 m³, prezentuje místnost s velkým objemem vzduchu. Tento prostor zastupuje prostor s velmi častou frekvencí pohybu osob.

Mikrobiologická laboratoř, místnost 514

Tato místnost slouží pro praktickou výuku mikrobiologie. Je vybavena základním laboratorním vybavením. Lavice jsou organizovány v sedmi řadách po třech stolech. Na stěnách jsou instalována baktericidní svítidla PROLUX G 30W/A SPH-01.

Místnost je vysoká 4 metra, na délku má 10 metrů a šířka je 4 metry a se svým objemem 160 m³ vzduchu, prezentuje místnost středně velkou. Frekvence pohybu v této místnosti je střední.

Kabinet, místnost 528

Tato místnost slouží jako kabinet pro dvě osoby. Rozměry této místnosti jsou 3 metry na šířku, 6 metrů na délku a vysoká je 4,5 metrů, což představuje objem 81 m³ vzduchu a tudíž tato místnost prezentuje nejmenší prostor, v kterém bylo prováděno vzorkování. Vzhledem k účelu místnosti a její velikosti tento prostor představuje místnost s nejnižší frekvencí pohybu osob.

6.3 Použité půdy

Veškeré použité půdy použité v pokusech jsou od fy HiMedia s uvedenými kódovými čísly.

Plate count agar M091 (PCA)

Složení:

Enzymatický hydrolyzát kaseinu 5 g/l

Kvasniční extrakt 2,5 g/l

Agar 15 g/l

Konečné pH při teplotě 25 °C je $7 \pm 0,2$

Postup přípravy: 23,5 g půdy se suspenduje ve 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Následuje sterilizace v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min. Po ochlazení se půda asepticky nalévá do Petriho misek. (Ø 9 cm)

Použití: pro kultivaci bakterií vyskytujících se v jídle, vodě a odpadních vodách.

Manitol salt agar M118 (MAN)

Složení:

Proteose pepton 10 g/l

Hovězí extrakt 1 g/l

Chlorid sodný 75g/l

D-manitol 10 g/l

Fenolová červeň 0,025 g/l

Agar 15 g/l

Konečné pH při teplotě 25 °C je $7,4 \pm 0,2$

Postup přípravy: 111 g půdy se suspenduje ve 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Následuje sterilizace v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min. Po ochlazení se půda asepticky nalévá do Petriho misek. (Ø 9 cm)

Použití: jako selektivní médium pro izolaci patogenních stafylokoků.

Fungal agar M095 (FUN)

Složení:

Sojový pepton 10 g/l

Dextrose 10 g/l

Agar 15 g/l

Konečné pH při teplotě 25 °C je $4,8 \pm 0,2$

Postup přípravy: 35 g půdy se suspenduje ve 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Následuje sterilizace v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min. Po ochlazení se půda asepticky nalévá do Petriho misek. (Ø 9 cm)

Použití: jako selektivní médium pro kultivaci saprofytických hub a acidofilních bakterií

Nutrient agar M561A (NUT)

Složení:

Peptidový zvířecí výtažek

Tkáň 5 g/l

Hovězí extrakt 3 g/l

Agar 15 g/l

Konečné pH při teplotě 25 °C je $7 \pm 0,2$

Postup přípravy: 35 g půdy se suspenduje ve 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Následuje sterilizace v autoklávu při 121 °C po dobu 15 min. Po ochlazení se půda asepticky nalévá do Petriho misek. (Ø 9 cm)

Použití: selektivní médium pro salmonelu species, po přidavku 7 % NaCl selektivní pro stafylokoky

6.4 Použité pomůcky, přístroje a zařízení

Laboratorní vybavení

běžné laboratorní sklo

Laboratorní kahan Kavalies

Laboratorní mikroskop Intaco-micro

Lednice (2- 6 °C)

Sterilizátor Memmert

Laboratorní váhy Kern KB

Autokláv H + P Laborortechnik AG Varioklav

Termostat 37 °C BT 120

Sušárna skla Premed KBC

Baktericidní svítidla PROLUX G 30W/A SPH-01

Odběrový impaktor Sampl'Air zapůjčený firmou BioPro

Výrobce AES Laboratoire FRANCE

Princip

Životaschopné částice, přítomné ve vzduchu, jsou pohlcovány sací schopností aeroskopu na použité půdy. Nasávání je prováděno přes vzorkovací hlavu umístěnou několik mm nad Petriho miskou.

Impakce je nejpoužívanější metoda vzorkování, protože je spolehlivá, snadno proveditelná a ekonomická. Touto metodou se snadno zjistí množství zárodků v KTJ/m³. [42]

Odečítání výsledků a metoda výpočtu

Po provedení inkubace, byly počítány KTJ bakterií a plísní, které vyrostly v Petriho miskách na příslušných půdách. Odečtené hodnoty byly vyjadřovány po přepočtu jako KTJ/m³. [42] Tyto výsledky byly zpracovány aritmetickým průměrem na konečnou hodnotu. Uváděny jsou společně se směrodatnou odchylkou v části výsledky a diskuse.

6.5 Kvantitativní část

6.5.1 Odběr vzduchu aktivním nasáváním

Expozice

Odběry vzorků byly provedeny ve středu místnosti ve výšce 100 cm nad zemí s průtokem vzduchu 100 l/min.

V každé místnosti nebo v prostoru, který byl zahrnut do monitorování, byly exponovány tři druhy půd:

- Plate count agar
- Manitol salt agar
- Fungal agar

Doba expozice byla pro jednotlivé půdy rozdílná. Půdy PCA a MAN byly exponovány na čtyřech miskách a to tři po deseti minutách a jedna po pěti minutách.

Všechny misky s půdou FUN byly exponovány 5 minut.

Desinfekce vzorkovací hlavičky byla prováděna 94 % alkoholem.

Inkubace

Umožňuje stanovit počet kultivovatelných mikroorganismů na daných půdách za daných kultivačních podmínek :

- směsná populace bakterií: (rostoucí na PCA) inkubace 48 hod v termostatu při 37 °C
- „stafylokokové bakterie“: (rostoucí na MAN) inkubace 48 hod v termostatu při 37 °C
- směsná populace plísně: (rostoucí na FUN) 7 dní při 25°C

Stanovení počtu kultivovaných mikroorganismů

Na půdách PCA a MAN bylo počítány kolonie bakterií po 24 hod a 48 hod, které vyrostly v Petriho miskách na příslušných půdách. Výsledkem byl počet kolonií tvořících zárodky mikroorganismů (KTJ) na misce. Tyto výsledky byly přepočítány dle délky expozice a rychlosti nasávání vzduchu dle doporučení výrobce odběrového impaktoru. (AES Laboratoire FRANCE) Přepočet byl proveden dle tabulky přejaté od výrobce a uvedené v příloze č.21. Výsledky jsou uvedeny jako KTJ/m³ vzduchu.

Podrobné výsledky a porovnání se současnými normativními požadavky jsou součástí diskuse.

6.5.2 Měření biologické kontaminace vzduchu ve stáji a v dojárně

Metodika

Odběry vzorků byly provedeny ve středu stáje (dojárny) ve výšce 100 cm nad zemí s průtokem vzduchu 100 l/min . Byly provedeny 3 odběry po 10 minutách a 1 odběr po 5 minutách u půd PCA a MAN. Tyto vzorky byly inkubovány v termostatu při teplotě 37°C a výsledky byly odečteny po 24 hodinách a 48 hodinách. Pro zjištění počtu kvasinek a plísní na Fungal agaru byly odebrány 4 vzorky po 5 minutách. Odebrané vzorky plísní a kvasinek byly inkubovány při teplotě 25°C a výsledky byly odečteny za 5 dní inkubace.

[42]

6.6 Stanovení stafylokoků

Bakterie označené jako „stafylokokové“, rostoucí na mediu Manitol salt agar M118 byly dále izolovány, aby došlo k vyloučení kmenů nenáležících do rodu *Staphylococcus*. Tato selekce byla uskutečněna izolací na Nutrient agar M561A s přidavkem 7 hmotnostních % NaCl. Tento přídavek je schopen inhibovat růst jiných bakterií. Zástupci rodu *Staphylococcus* snášejí vysoké koncentrace NaCl a to až 10-15%. [6]

Před biochemickou typizací testem Pliva-Lachema STAPHYTEST 16, bylo provedeno barvení dle Grama. Kolonie jeví se jako gram pozitivní koky tvořící shluky byly dále biochemicky typizovány.

Barvení dle Grama

Toto barvení zavedl Ch. Z. Gram (1884). Gramovo barvení se používá při určování rodů bakterií, tj. při diagnostice barvení.

Barvení využívá rozdílného složení v buněčné stěny bakterií. Barvitelnost podle Grama koreluje s řadou dalších fyziologických vlastností jako je tvorba spor, rezistence na antibiotika a na desinfekční prostředky. [7]

Preparát mikroskopujeme za použití imerzního objektivu.

6.6.1 Identifikace zástupců rodu *Staphylococcus*

STAPHY test 16

Pro tento účel byla použita souprava STAPHYtest 16. Dehydratovaná diagnostická média jsou u této soupravy řazena na výšku ve sloupcích ve dvou po sobě následujících řádcích. Kmeny lze tedy testovat pomocí 16 testů: ureázy, arginin, ornitin, β -galaktosidáza, β -glukuronidáza, nitráty, fosfatáza, pyrolidonylamidáza, eskulin, sacharóza, trehalóza, mannitol, xylóza, maltóza, manóza, a glukóza-novobiocin.

Identifikace je doplněna testy na průkaz tvorby acetoinu a důkaz oxidázy, dodávanými ve formě diagnostických proužků – VP test a OXI test.

Pracovní postup, inkubace a hodnocení jsou popsány v soupravě firmy Pliva-Lachema.

Identifikace kmenů byla provedena pomocí identifikačního programu TNW.

Výsledky biochemické typizace jsou součástí příloh.

Plazmakoagulázový test

Test byl proveden jako sklíčková aglutinace plazmy. Byla použita citrátová plazma.

Aglutinace plazmatu

Byla užitá sklíčková metoda zjišťování vázané koagulázy, jež se také označuje jako shlukovací faktor. Při tomto průkazu byla použita králičí plazma. Metoda je však dosti nespolehlivá a může vykazovat značné procento mylně negativních výsledků. [15]

Stanovení oxidázy

Stanovení oxidázy se provádělo papírkovým testem firmy Oxoid. Papírkové indikátory napuštěné upraveným roztokem ethyloxetylparafenilendiaminem se aplikují jednotlivou kolonií a intenzivní zmodrání indikuje přítomnost oxidačních enzymů. [31]

Stanovení katalázy

Zkouška byla provedena v kapilárách s 3 % peroxidem vodíku. Jako pozitivní reakce byl hodnocen vznik bublinek.

Výsledky obou testů byly ověřeny dle Bergey's manual of Determinative Bacteriology [16].

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

Vyhodnocením vyšetření vnitřního prostředí pracovišť UTB je porovnání hodnot naměřených v jednotlivých prostorách a porovnání zjištěných hodnot v daných prostorách s hodnotami doporučenými zprávou EU. Podobně je hodnoceno snížení počtů mikroorganismů po expozici germicidní lampou. Dále byl učiněn pokus o kvantifikaci a biochemickou typizaci stafylokoků ve všech uvedených místnostech a porovnání výskytu „stafylokokových“ bakterií vůči prostorám mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova.

Přístrojem, aeroskop Sampl'Air firmy BioPro, bylo vyšetřeno ovzduší ve třech prostorách označených jako laboratoř, chodba a kabinet.

Kvantitativně na objem místností byl stanoven:

- celkový počet aerobních bakterií,
- celkový počet kvasinek a plísní a
- celkový počet stafylokoků.

Výskyt mikroorganismů v provozu

Výskyt mikroorganismů všech prostor UTB během provozu byl konfrontován s doporučeními EU, které jsou definovány ve zprávě EUR 14988.

Kvantitativní vyhodnocení sumarizovaných nálezů mikroorganismů v jednotlivých místnostech je uvedeno v Tab. 6-8.

Tabulka 5: Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí dle EUR 14988 - kritérium koncentrace směsné populace bakterií a směsné populace plísní v ovzduší obytných místností

Kategorie znečištění	Bakterie (KTJ / m ³)	Plísně (KTJ / m ³)
vemí nízké	< 50	< 25
nízké	< 100	< 100
střední	< 500	< 500
vysoké	< 2000	< 2000
velmi vysoké	> 2000	> 2000

Hygienickým limitem koncentrace mikroorganismů v ovzduší vnitřního prostředí je koncentrace směsné populace bakterií a směsné populace plísní do kategorie znečištění střední (včetně).

Tabulka 6: Zjištěné hodnoty v místnosti označené jako laboratoř

datum odběru	CPM (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka	plísně a kvasinky (KTJ/m ³)	směrodatná odchylka
8.11.2005	108,75	19,65	48,5	9,29
9.11.2005	173,75	58,23	56,5	9,57
15.11.2005	575,25	389,55	49	10,89
22.11.2005	188,25	62,67	36	5,89
29.11.2005	395,75	110,41	40	3,65
6.12.2005	208,75	47,83	46	10,20
13.12.2005	128,5	79,66	33,5	5,5

Při porovnání zjištěných hodnot oproti hygienickému limitu pro směsnou populaci bakterií bylo zjištěno, že kromě odběrů vzduchu dne 15.11.2005, doporučené hodnoty pro kategorii středního znečištění nebyly překročeny. Mimo 29.11.2005, kdy došlo k nárůstu oproti ostatním dnům, ve všech ostatních dnech, nedosahují zjištěné hodnoty ani poloviční hodnoty daných limitů. Proto lze konstatovat, že místnost splňuje požadavky na střední kategorii znečištění.

Co se týče limitu pro směsnou populaci plísní, hodnoty nepřesahují ani kritérium pro zařazení do kategorie znečištění- nízké a proto i tyto parametry svědčí o vyhovujícím stavu.

Tabulka 7: Zjištěné hodnoty v místnosti označené jako chodba

datum odběru	CPM (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka	Plísně a kvasinky (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka
22.11.2005	231	102,79	32,5	9,15
29.11.2005	190	55,77	27,5	9,15
6.12.2005	467,25	193,72	78	19,4
13.12.2005	261,75	5,31	36	10,71

V případě prostor, které jsou označeny jako chodba, nedošlo u celkové směsné populace bakterií k překročení limitu pro kategorii znečištění, která je označována jako střední.

U celkové směsné populace plísní se hodnoty pohybují v průměru v nižší hladině limitu pro kategorii nízkou.

Tabulka 8: Zjištěné hodnoty v místnosti označené jako kabinet

datum odběru	CPM (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka	Plísně a kvasinky (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka
13.12.2005	148,75	23,13	91,5	10,38
23.1.2006	64	34,65	33	4,76

Jako doplnění posuzování těchto prostor byl proveden i odběr v místnosti 528, označované jako kabinet. Zjištěné hodnoty odpovídají limitům pro směsnou populaci bakterií v kategorii střední a pro směsnou populaci plísní v kategorii znečištění- nízká.

Zajímavý je nárůst hodnot u směsné populace plísní dne 13.12.2005. Hodnota pro směsnou populaci plísní vybočuje v porovnání s hodnotami, které byly zjištěny v ostatních prostorech. Stejněho dne došlo k nárůstu u směsné populace bakterií oproti dalšímu odběru. Jednorázový výskyt této extrémní hodnoty by pro objasnění vyžadoval podrobnější sledování.

Celkově sledování ukázalo, že monitorované prostory je možné z hlediska hygienického limitu zařadit pro směsnou populaci bakterií mezi střední a pro směsnou populaci plísní

mezi nízkou, což s ohledem na intenzivní provoz v průběhu běžné výuky svědčí o dobře voleném systému výstavby a úklidového režimu.

Zajímavá je skutečnost, že jednotlivé místnosti reprezentují rozličně velké prostory s rozdílnou frekvencí pohybu. Tato skutečnost se ale ve výsledcích neprojevila, jelikož všechny místnosti spadají do kategorie znečištění střední u směsné populace bakterií a kategorie znečištění nízké u směsné populace plísní.

Účinnost baktericidních svítidel

Limity pro hodnocení kvality ovzduší jsou stanoveny ryze formálně. Pro vyhodnocení toho, kterého prostředku pro vyhodnocení účinnosti použít, není směrodatný absolutní počet mikroorganismů ve vzduchu, ale jejich následný úbytek po použití daného prostředku. K desinfekci vzduchu je možné použít jiné prostředky, jako např. ozón, nebo páry různých desinfekčních prostředků. Rozhodující je pokles po použitém prostředku, který do jisté míry (pokud není definovaný standard) může být rovněž určen formálně.

Účinek germicidních zářičů v laboratoři před a po expozici je následující – Tab. čís. 9 a 10.

Jak již bylo výše řečeno, místnosti splňují požadavky na kritérium koncentrace směsné populace bakterií a směsné populace plísní v ovzduší pobytových místností. Pro směsnou populaci bakterií je to úroveň znečištění v kategorii střední a pro směsnou populaci plísní je to úroveň nízká.

Tabulka 9: Hodnoty zjištěné v místnosti označené jako laboratoř před a po expozici baktericidních svítidel u směsné populace bakterií

datum odběru	po expozici (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka	v provozu (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka
8.11.2005	12,25	2,5	108,75	19,65
9.11.2005	17,25	4,35	173,75	58,23
15.11.2005	48,75	17,61	575,25	389,55
22.11.2005	14,25	6,65	188,25	62,67
29.11.2005	50,75	21,28	395,75	110,41
6.12.2005	16,25	5,06	208,75	47,83
13.12.2005	13,5	3,11	128,5	79,66

Po expozici UV lampami tyto hodnoty klesly pro směsnou populaci bakterií na hodnotu velmi nízkou, která vyžaduje hodnoty nižší než 50 KTJ/ m³.

Jediný odběr a to dne 29.11.2005 nesplňuje tyto požadavky, protože byla zjištěna hodnota 50,75 KTJ/ m³.

I přesto se dá říci, že účinnost UV lamp je dostačující, protože došlo ke snížení o dva řády.

V případě hodnocení směsné populace plísní není situace stejná. Hodnoty zjištěné během provozu v místnosti byly klasifikovány kategorií znečištění - nízká.

Pro tuto kategorii je limitující obsah méně než 100 KTJ/ m³.

Tabulka 10: Hodnoty zjištěné v místnosti označené jako laboratoř před a po expozici baktericidních svítidel u směsné populace plísní

datum odběru	po expozici (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka	v provozu (KTJ / m ³)	směrodatná odchylka
8.11.2005	21,5	3,42	48,5	9,29
9.11.2005	25,5	4,43	56,5	9,57
15.11.2005	49	17,17	49	10,89
22.11.2005	20	3,26	36	5,89
29.11.2005	20,5	4,43	40	3,65
6.12.2005	29,5	7,72	46	10,20
13.12.2005	22	1,63	33,5	5,5

Hodnoty získané odběrem ovzduší po expozici UV lamp jsou sice nižší, ale přesto spadají do stejné kategorie znečištění.

Tato skutečnost je dána obecně vyšší odolností hub vůči vnějším vlivům a tedy i proti ultrafialovému záření germicidních lamp.

Typizace stafylokoků

Pro porovnání výskytu „stafylokokových“ bakterií poskytla Šípalová [43] hodnoty které zjištěny v prostorách mléčné farmy v prostorách označených jako stáj a dojírna. Odběr vzduchu v dojárně byl proveden mimo provoz..

Hodnoty počtu bakterií v prostorách, které jsou využívány jako stáje pro hospodářská zvířata se předpokládají celkově vyšší a to nejen „stafylokokových“ bakterií. Zjištěná skutečnost tento předpoklad potvrzuje.

Tabulka 11: Hodnoty zjištěné v prostorách mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova [43]

Stáj 22.1. 2006	(KTJ / m ³)	Směrodatná odchylka
1. měření	468	239
2. měření	764	304

Výskyt „stafylokokových“ bakterií v ovzduší dojírny je velmi nízký. Tento prostor bývá opakovaně kontaminován přítomností dojníc. Nízký výskyt bakterií lze vysvětlit tím, že zvolený desinfekční režim, který se zde běžně provádí, je vyhovující.

Tabulka 12: Hodnoty zjištěné v prostorách mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova [43]

Dojírna 22.1. 2006	(KTJ / m ³)	Směrodatná odchylka
1. měření	9	7
2. měření	20	15

Hodnoty výskytu „stafylokokových“ bakterií v ovzduší v prostorách UTB a prostorách mléčné farmy (tab.13) jsou neporovnatelné. Pokud by se tyto hodnoty k sobě přibližovaly stálo by za zvážení z jakého zdroje tato zvýšená kontaminace pochází.

Tabulka 13: Porovnání výskytu „stafylokokových“ bakterií v jednotlivých prostorách.

Hodnoty jsou uvedené jako aritmetický průměr všech měření

	Laboratoř	Chodba	Kabinet	Stáj	Dojírna
(KTJ / m ³)	67,57	82,89	32,81	616	14,5

Dále byl učiněn pokus o kvantifikaci a biochemickou typizaci stafylokoků ve všech uvedených místnostech.

K biochemické typizace stafylokoků prováděnou soupravou Pliva – Lachema Staphytest 16 a doplňkovými testy bylo použito pro vyhodnocení programu TNW. Tak je také nutno chápat obdržené výsledky.

Zajímavá je bohatá diverzita stafylokových kmenů. S přihlédnutím k starším systémům (cit. Bargey's : Manual of determinative bacteriology, 8 vydání, 1947 a pozdější), kde by těsně příbuzné druhy byly klasifikovány jako *S. epemidis*. To se týká zejména druhu *S. hominis* a jeho varianty, kdy tato skupina představuje asi 1/3 celkové populace. Studium koloběhu vzdušných stafylokoků by jistě pro relativní snadnou kultivovatelnost a vzhledem k prokázané rozličnosti stálo za pozornost.

Staphylococcus aureus

Jako významný podmíněný patogen byl zjištěn ve dvou případech a to pouze v kabinetu.

Tabulka 14: Porovnání zastoupení *S. aureus* v provozu lidské populace v jednotlivých prostorách

	Laboratoř	Kabinet	Chodba	Celkem
<i>S. aureus</i>	V této místnosti neidentifikován	2	V této místnosti neidentifikován	2
Ostatní stafylokoky	19	13	22	56

Přiložená tabulka čís.15 poukazuje na kvalitativní vyhodnocení identifikace zástupců rodu *Staphylococcus* Staphy testem. Tabulka zahrnuje všechny identifikované kolonie, tzn. nálezy ze všech monitorovaných místností. Celkem bylo identifikováno 60 vzorků. Jejich výskyt vyjádřen jako definitivní počet a následně jako procentuální zastoupení jednotlivého kmene v %.

Tabulka 15: Počet výskytů jednotlivých kmenů a jejich procentuální zastoupení ze všech kmenů

	<i>Staphylococcus</i>	Počet výskytu	% zastoupení
1	<i>aureus</i>	2	3,33
2	<i>capitis</i>	5	8,33
3	<i>caprae</i>	2	3,33
4	<i>cohnii</i>	1	1,67
5	<i>epidermidis</i>	8	13,33
6	<i>haemolyticus</i>	3	5
7	<i>hominis</i>	11	18,33
8	<i>mucilaginosus</i>	1	1,67
9	<i>pasteurii</i>	5	8,33
10	<i>piscifermentans</i>	3	5
11	<i>pulvereri</i>	3	5
12	<i>saprophyticus</i>	2	3,33
13	<i>schlei</i>	1	1,67
14	<i>simulans</i>	2	3,33

15	<i>vitulinus</i>	1	1,67
16	<i>wernerii</i>	4	6,67
17	<i>xylosus</i>	2	3,33
18	neidentifikováno	4	6,67

Výše uvedená hodnocení koncentrací směsných populací mikroorganismů dle EUR 14988 jsou založena na předpokladu, že se jedná o směsné populace bakterií a směsné populace plísní. Pro směsnou populaci dále platí, že jde o směs různých druhů. Pokud v populaci převažuje jeden či dva dominantní druhy, musí následovat jejich identifikace. I v případě, že se nejedná o druh s nežádoucími vlastnostmi, je nález převážně jednoho druhu v populaci hodnocen jako závažnější než v případě populace směsné. Také výskyt patogenních, potenciálně patogenních a toxinogenních druhů mikroorganismů v bioaerosolu vnitřního prostředí je z hygienického hlediska nepřijatelný. [8]

Biochemická typizace „stafylokokových“ mikroorganismů v místnostech označovaných jako chodba a laboratoř, potvrdila, že se jedná o směsnou populaci mikroorganismů, bez výskytu patogenních, potenciálně patogenních a toxinogenních druhů mikroorganismů. Pro všechny identifikované kmeny je člověk hostitelem a zdrojem [32], proto lze tento nález označit za běžný a přípustný.

Pouze v místnosti, označované jako kabinet, byly izolovány dva výskyty druhu *S. aureus*. Tento je označován jako podmíněný patogen a tudíž je jeho výskyt v bioaerosolu vnitřního prostředí z hygienického hlediska nepřijatelný. Vzhledem k tomu, že tento druh nebyl v jiných prostorách izolován, je pravděpodobné, že zdroj znečištění je obyvatelem tohoto prostoru.

Pro určitou část lidské populace je tento podmíněný patogen součástí běžné flory.

Za zmínku stojí porovnání s druhovým výskytem jak je uvádí např. Petráš (2004) z humánního klinického materiálu

Tabulka 16: Četnost kmenů KNS z humánního klinického materiálu zaslaných do NRL v letech 1998-2003. Celkem 2968 kmenů [32]

pořadí výskytu	<i>Staphylococcus</i>	počet kmenů	%
----------------	-----------------------	-------------	---

1.	<i>epidermidis</i>	995	33,5
2.	<i>haemolyticus</i>	664	22,3
3.	<i>hominis subsp. hominis</i>	363	12,2
4.	<i>hominis subsp. novobiosepticus</i>	264	8,9
5.	<i>warneri</i>	95	3,2

Tabulka 17: Četnost kmenů identifikovaných v prostorách UTB

pořadí výskytu	<i>Staphylococcus</i>	Počet kmenů	%
1.	<i>hominis</i>	11	18,33
2.	<i>epidermidis</i>	8	13,33
3.	<i>capitis</i>	5	8,33
3.	<i>pasteurii</i>	5	8,33
4.	<i>wernerii</i>	4	6,67
4.	neidentifikováno	4	6,67
5.	<i>haemolyticus</i>	3	5
5.	<i>piscifermentans</i>	3	5
5.	<i>pulvereri</i>	3	5

Kmeny a jejich četnost, jak je uvádí Petráš, jsou izolovány z klinického materiálu. Za předpokladu, že všechny uvedené kmeny jsou nepatogenní a jsou součástí fyziologické flory člověka a tudíž jsou člověkem zavlečeny do prostředí, je zřejmé, že jejich výskyt ve vzduchu bude korespondovat s tímto výskytem.

Zhodnocení práce s aeroskopem

Přístrojem, aeroskop Sampl'Air firmy BioPro, bylo vyšetřeno ovzduší ve všech prostorách, které byly v práci zmiňovány. Technika práce s přístrojem byla dodržována dle požadavku výrobce (AES Laboratoire France).

Přístroj je dobře propracovaná pomůcka pro daný účel. Je dobře přenosný a manipulace zejména pomocí dálkového ovladače umožňuje práci i obtížně dostupných podmínkách.

Proti klasickým aeroskopům není hlučný [22]. Práce umožňuje pracovat současně s dvěma nosiči Petriho misek, což může zpřesňovat stanovení. Bateriové vybavení s dobíjením neomezuje práci s přístrojem na zdroje elektrického proudu.

Jako určitá nevýhoda se jeví výlučné použití Petriho misek PVC s jednotným průměrem pouze 90 mm. Také vůči technice v provádění "sterilizace" při přechodu mezi jednotlivými sériemi vzorkování lze mít výhrady. Návod k desinfekci doporučený výrobcem by bylo záhodné ověřit.

Význam mikrobiologického monitorování ovzduší

Vyšetřování koncentrací bakterií a mikroskopických vláknitých hub v ovzduší mají nezastupitelný význam nejen v souvislosti s výskytem onemocnění, jehož projevy jsou spojovány s pobytem v určitém prostředí, ale i pro sledování kvality „čistých provozů“.

Tato problematika se uplatňuje nejen ve zdravotnictví (operační sály, hematologická oddělení aj.), ale i v průmyslovém prostředí jako je např. farmaceutický průmysl a v neposlední řadě potravinářské provozy. Nejnovější výsledky výzkumu totiž ukazují, že mikroorganismy detekované z pevných povrchů nejsou vždy totožné s mikroorganismy nalézány v ovzduší. Proto dezinfekční a sanitační režimy povrchu pracovním prostor a zařízení nemusí eliminovat případnou mikrobiální kontaminaci. [30]

Na rozdíl od ostatních škodlivin v interiéru se mohou mikroorganismy v různých místech vnitřního prostředí kumulovat (v potrubí vzduchotechniky, na filtrech čistících zařízení, v nádržkách zvlhčovačů, v kobercích a čalouněném nábytku aj.) a při vhodných podmínkách i rozmnožovat. Z těchto míst se dostávají s pohybujícím se vzduchem do bioaerosolu vnitřního prostředí, kde se mohou vyskytovat i v koncentracích několikanásobně vyšších než je jejich koncentrace ve venkovním ovzduší.

Znát koncentrace bakterií a plísní ve vnitřním prostředí člověka má tedy mnoho významů. Na úrovni současných znalostí je nelze nahradit žádným jiným vyšetřením, jako je např. stanovení počtu pevných částic či detekce mikroorganismů na pevném povrchu.

ZÁVĚR

V práci byly zpracovány výsledky monitorování mikrobiologie ovzduší pracovišť na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně. Pozornost byla věnována především mezofilním aerobním mikroorganismům. Sledovány byly celkové počty směsné populace bakterií a plísní a „stafylokokové“ bakterie.

Celkové počty směsné populace bakterií a plísní byla měřeny ve vybraných místnostech 5. patra technologické fakulty, označených jako laboratoř, chodba a kabinet. Tyto hodnoty byly porovnány s limity, které uvádí EU ve zprávě EUR 14988.

Hygienickým limitem koncentrace mikroorganismů v ovzduší vnitřního prostředí je koncentrace směsné populace bakterií a směsné populace plísní do kategorie znečištění střední (včetně). Pro směsnou populaci bakterií i plísní to znamená koncentraci mikroorganismů v ovzduší nižší než 500 KTJ/m^3 .

Prakticky všechny monitorované místnosti limitu pro směsnou populaci bakterií vyhovují. Pouze v místnosti označované jako laboratoř došlo v jednom případě k překročení této limitní hodnoty a to hodnotou 575 KTJ/m^3 .

V případě kontaminace ovzduší plísněmi je situace jiná. Všechny monitorované místnosti svým výskytem plísní v ovzduší splňují kritéria pro kategorii označenou jako kategorie znečištění nízká.

Dále byla zjišťována účinnost germicidních svítidel v prostorách, kde jsou instalovány, to znamená v laboratoři. Režim expozice byl nastavený na dobu 5 hodin a expozice probíhala přes noc. Opět byl sledován pokles hodnot u směsné populace plísní a bakterií.

V případě bakterií lze říci, že účinnost svítidel byla prokázána, jelikož došlo ke snížení celkových počtů o dva řády a to až na kategorii velmi nízkou, která vyžaduje hodnoty nižší než 50 KTJ/m^3 .

Jediný odběr nespĺňuje tyto požadavky, protože byla zjištěna hodnota $50,75 \text{ KTJ/m}^3$.

U plísní tato účinnost ověřena nebyla. V průměru došlo ke snížení celkových počtů, ale zjištěné hodnoty se pohybují ve stejné kategorii znečištění ovzduší jako před expozicí.

Díky hodnotám poskytnutým z bakalářské práce Markéty Šípalové byl porovnán výskyt „stafylokokových bakterií“ v prostorách UTB a na mléčné farmě. Hodnoty zjištěné ve stáji

jsou s hodnotami v prostorách university neporovnatelně vyšší. Oproti tomu hodnoty zjištěné v dojírně jsou velmi nízké.

Dále byl učiněn pokus o kvantifikaci a biochemickou typizaci stafylokoků ve všech uvedených místnostech.

Z 60-ti typizovaných kmenů byl zjištěn výskyt podmíněného patogena *Staphylococca aurea* pouze ve dvou případech.

Výskyt patogenních, potenciálně patogenních a toxinogenních druhů mikroorganismů v bioaerosolu vnitřního prostředí je z hygienického hlediska nepřijatelný, ale vzhledem k tomu, že jistá část populace je nositelem tohoto kmene, jeví se tento nález jako běžný.

Všechny monitorované místnosti splňují požadavky hygienických limitů pro kvalitu ovzduší ve vnitřních prostorách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Ticháček, J. *Základy epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 1997. 218 s. ISBN 80-85824-53-1.
- [2] Geizerová, H. „aj.“. *Epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1995. 83 s. ISBN 80-71484-179-X.
- [3] Šilhánková, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2. vyd. Praha: Victoria publishing, 1995. 334 s. ISBN 80-85605-71-6.
- [4] Farník, J., Pazdiora, P. *Speciální epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1993. 71 s. ISBN 80-210-0758-3.
- [5] Burianová, B. *Epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1981. 298 s.
- [6] Bednář, M., Souček, A., Vávra, J. *Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie*. 1. vyd. Praha: Triton, 1994. 226 s. ISBN 80-901521-4-7.
- [7] Přecechtěl, F. *Lékařská mikrobiologie*. 1.vyd. Brno: Masarykova univerzita 1995. ISBN 80-210-1087-8.
- [8] Klánová, K., Lajčíková, A. *Hygienické požadavky na kvalitu ovzduší v obytných budovách*. 1. vyd. Praha: Informační centrum ČKAT, 2001. 16 s. ISBN 80-86364-40-2.
- [9] Havlík, J. *Infektologie*. 2. vyd. Praha: Avicenum, 1990. 377 s. ISBN 80-201-0062-8
- [10] Kocurová, L. *Monitorování vybraných parametrů vnitřního prostředí lůžkových zdravotnických zařízení*, Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Technologická fakulta ve Zlíně. Ústav životního prostředí a chemie. Zlín, 2000. 131s. Vedoucí práce RNDr. Ing. Jiří Vala,CSc. fakult technologická, 2000, 131 s.
- [11] Rozsypal, S. *Obecná bakteriologie*, 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1981. 749 s.
- [12] Haber, J. *Systémové mykózy a jejich léčba*, 1. vyd. Praha: Galén, 1995. 319 s. ISBN 80-85824-16-7.
- [13] Komárek, L. *Vybrané mikrobiologické metodiky používané při prevenci a výskytu nemocničních nákaz*. příloha č. 7/1992 k Acta hygienica, epidemiologica et mikrobiologica, Praha: SZÚ, 1992. 107 s. ISSN 0862-5956.

- [14] Rozsypal, S. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2003. 797 s. ISBN 80-7183-268-5.
- [15] Klaban, V. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. vyd. Praha: Galén, 2005. 654 s. ISBN 80-7262-341-9.
- [16] Sneath, P., „aj.“. *Bergey's manual of determinative bacteriology: Ninth edition*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 s. ISBN 0-683-00603-7.
- [17] Švec, F., Kašpar, J., Kříž, J., „aj.“. *Hygiena ovzduší*, 1. vyd. Brno: Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, 1981. 56 s.
- [18] Zahradnický, J. *Mikrobiológia a epidemiológia*. Vydavateľstvo Osveta, 1991. 608 s. ISBN 80-217-0326-1.
- [19] *Ovzduší a zdraví*, Světová zdravotnická organizace. Regionální úřadovna pro Evropu. Informační brožura pro orgány místní správy. Číslo série 19. Praha: SZÚ, 1997. 30 s. ISBN 80-7071-103-5.
- [20] Šimůnek, J., Březina, P. *Mykotoxiny*. 1. vyd. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 1996. 70 s.
- [21] Tec, V. *Mikrobiológia v hygiene*. 1. vyd. Liptovský Mikuláš: Severoslovenské tlačiarne, 1956. 230 s.
- [22] Symon, K., „aj.“. *Vyšetřovací metody v hygieně*. 1. vyd. Praha: SZN, 1980. 210 s.
- [23] Bazovská, S. *Epidemiológia*. 1. vyd. Bratislava: Universita Komenského, 2005. ISBN 80-223-2031-5
- [24] Klabzuba, J. *Atmosféra Země*. 1. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2000. 23 s. ISBN 80-213-0705-6.
- [25] Jakeš, P. *Planeta Země*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta, 1982. 416 s.
- [26] Český normalizační institut [on line]. Praha 1. Biskupský dvůr 5. Dostupné na: <<http://www.cni.cz/>>.
- [27] Jean-Louis, V. *Nosokomiální infekce na jednotce intenzivní péče*. Přeložil Plesník, V. Ostrava: Zdravotní ústav, 2003. 7s. [cit. 2003-168_] Dostupné na: <<http://www.zuova.cz/informace/plesnik.php>>

- [28] Centrum pro analýzu epidemiologických dat SZÚ – CEM, *Kumulativní nemocnost vybraných infekcí v České republice, leden – listopad 2005*, Praha: SZÚ, 2005.
Dostupné na : < <http://www.szu.cz>>
- [29] Klánová, K. *Vliv mikroorganismů na kvalitu vnitřního prostředí*. ČKAIT. Soubor 3. č.33. 1. vyd. Praha: Informační centrum ČKAT, 2000. 6 s.
- [30] Klánová, K. *Standardní operační postupy pro vyšetřování mikroorganismů v ovzduší a pro hodnocení mikrobiologického znečištění ovzduší ve vnitřním prostředí*. Acta hygienica, epidemiologica et mikrobiologia číslo 1/2002, 1.vyd. Praha: SZÚ, 2002. 20 s. ISSN 0862-5956.
- [31] Klánová, K., Kostičková, M. *Mikrobiologicko-hygienické vyšetřovací metody vnitřního prostředí*. Acta hygienica, epidemiologica et mikrobiologia číslo 5/1999, Praha: SZÚ 1999. 14 s. ISSN 0862-5956.
- [32] Petráš, P. *Aktuality v taxonomii rodu Staphylococcus*. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie, 2004. r. 13, č. 7, s. 297-300. ISSN 1211-7358.
- [33] Petráš, P., Prusík, F., Nyč, „aj.“. I. *Nemocniční kmeny MRSA s negativním clumping-faktorem*. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie, 2005. r.14, č.3, s.122-124. ISSN 1211-7358.
- [34] Havlíčková, M., Otavová, M., Kynčl, J. *Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice*. Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie, 2005. r. 14, č. 6, s. 286-293. ISSN 1211-7358.
- [35] Foyer, N., Lavoine, J., Lazure, L., „aj.“. *Bioaerosols in workplace: evaluation, control and prevention guide*, Studies and Research Projects / Technical Guide T-24. Montréal: IRSST. 2001. 72 s. [cit]
Dostupné na: < http://www.irsst.qc.ca/en/_publicationirsst_818.html>
- [36] Zákon č. 258 /2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví., Sbíрка zákonů České republiky [on-line] Ministerstvo vnitra. Dostupné na: <<http://www.mv.cz/sbirka/2000/sb074-00.pdf>>
- [37] Compiled by Bridson. *The oxoid manual 7 th edition*. Hampshire: Unipath limited. 1995

- [38] ČSN EN 13098 Ovězení na pracovišti - Směrnice pro měření vzdušných mikroorganismů a endotoxinů.
- [39] ČSN EH ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C
- [40] ČSN EH ISO 7954 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísni. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25°C
- [41] Votava, M. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1.vyd. Praha: Neptun, 2003. 495s. ISBN 80-902896-6-5
- [42] O.K. Servis BioPro, s. r. o.. *Sampl'Air odběrový impactor – návod k obsluze*, 18 s.
- [43] Šíplová, M. *Mastitida krav a výskyt stafylokoků*, Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Zlín, 2006. Vedoucí práce RNDr. Miroslav Grossmann

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CPM	celkové počty mikroorganismů
KTJ	kolonie tvořící jednotky
ARO	akutní respirační onemocnění
ARI	akutní respirační infekce
NN	nosokomiální nákaza
JIP	jednotka intenzivní péče
PCA	plate count agar
MAN	Manitol salt agar
FUN	Fungal agar
NUT	Nutrient agar
UTB	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
SZÚ	Státní zdravotní ústav
CEM	Centrum epidemiologie a mikrobiologie
KNS	koaguláza negativní stafylokoky
KPS	koaguláza pozitivní stafylokoky
NRL	Národní referenční laboratoř

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Vývoj vybraných bakteriálních nákaz za léta 2002 – 2005 v ČR	34
Tabulka 2: Četnost kmenů KNS humánního klinického materiálu zaslaných NRL v letech 1998-2003 [24]	35
Tabulka 3: Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí podle hodnot, které uvádí Evropská unie (EUR 14988) – kritérium směsná populace bakterií	40
Tabulka 4: Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí podle hodnot, které uvádí Evropská unie (EUR 14988) – kritérium směsná populace plísní	40
Tabulka 5: Kategorie znečištění ovzduší vnitřního prostředí dle EUR 14988 - kritérium koncentrace směsné populace bakterií a směsné populace plísní v ovzduší pobytových místností	52
Tabulka 6: Zjištěné hodnoty v místnosti označené jako laboratoř	53
Tabulka 7: Zjištěné hodnoty v místnosti označené jako chodba	54
Tabulka 8: Zjištěné hodnoty v místnosti označené jako kabinet	54
Tabulka 9: Hodnoty zjištěné v místnosti označené jako laboratoř před a po expozici baktericidních svítidel u směsné populace bakterií	56
Tabulka 10: Hodnoty zjištěné v místnosti označené jako laboratoř před a po expozici baktericidních svítidel u směsné populace plísní	57
Tabulka 11: Hodnoty zjištěné v prostorách mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova [43]	57
Tabulka 12: Hodnoty zjištěné v prostorách mléčné farmy ve Vlkoši u Přerova [43]	58
Tabulka 13: Porovnání výskytu „stafylokokových“ bakterií v jednotlivých prostorách. Hodnoty jsou uvedené jako aritmetický průměr všech měření	58
Tabulka 14: Porovnání zastoupení <i>S. aureus</i> v provozu lidské populace v jednotlivých prostorách	59
Tabulka 15: Počet výskytů jednotlivých kmenů a jejich procentuální zastoupení ze všech kmenů	59
Tabulka 16: Četnost kmenů KNS z humánního klinického materiálu zaslaných do NRL v letech 1998-2003. Celkem 2968 kmenů [32]	60
Tabulka 17: Četnost kmenů identifikovaných v prostorách UTB	61

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P 1: Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	72
Příloha P 2: Laboratoř během provozu	72
Příloha P 3: Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	73
Příloha P 4: Laboratoř během provozu	73
Příloha P 5: Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	73
Příloha P 6: Laboratoř během provozu	74
Příloha P 7: Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	74
Příloha P 8: Laboratoř během provozu	75
Příloha P 9: Chodba během provozu	75
Příloha P 10: Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	76
Příloha P 11: Laboratoř během provozu	76
Příloha P 12: Chodba během provozu	77
Příloha P 13: Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	77
Příloha P: 14 Laboratoř během provozu	78
Příloha P: 15 Chodba během provozu	78
Příloha P: 16 Laboratoř po expozici germicidními zářiči.....	79
Příloha P: 17 Laboratoř během provozu	79
Příloha P: 18 Chodba během provozu	80
Příloha P: 19 Kabinet během provozu	80
Příloha P: 20 Kabinet během provozu	81
Příloha P: 21 Tabulka pro odečítání množství KTJ/ m ³ vzduchu.....	81
Příloha P: 22 Výsledky Staphy testu pro jednotlivé testované kmeny	84

PŘÍLOHA P I: NÁZEV PŘÍLOHY

Příloha P 1: Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro		Datum:8.11.2005	Čas:9:30-11 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota : 9 – 11 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	5	9	
514- 2	PCA	10	7	13	
514 -3	PCA	10	9	15	
514 -4	PCA	5	4	6	
514 -5	MAN	10	3	4	
514- 6	MAN	10	2	2	
514 -7	MAN	10	4	5	
514 -8	MAN	5	2	2	
514 -9	FUN	5			10
514 -10	FUN	5			13
514 -11	FUN	5			9
514 -12	FUN	5			11

Příloha P 2: Laboratoř během provozu

UTB 5. patro		Datum:8.11.2005	Čas: 11- 12:30hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota : 9 – 11 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	45	73	
514 -14	PCA	10	53	82	
514 -15	PCA	10	61	101	
514 -16	PCA	5	31	58	
514 -17	MAN	10	25	33	
514 -18	MAN	10	31	43	
514 -19	MAN	10	20	29	
514 -20	MAN	5	12	18	
514 -21	FUN	5			20
514 -22	FUN	5			19
514 -23	FUN	5			28
514 -24	FUN	5			25

Příloha P 3: Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro		Datum: 9.11.2005		Čas: 7 – 9 hod	
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 8 – 10 °C, polojasno			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	7	18	
514- 2	PCA	10	8	20	
514 -3	PCA	5	6	11	
514 -4	PCA	5	5	9	
514 -5	MAN	10	2	3	
514- 6	MAN	5	4	4	
514 -7	MAN	5	3	4	
514 -8	MAN	5	3	3	
514 -9	FUN	5			14
514 -10	FUN	5			12
514 -11	FUN	5			15
514 -12	FUN	5			10

Příloha P 4: Laboratoř během provozu

UTB 5. patro		Datum: 9.11.2005		Čas: 9 – 11:30 hod	
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota 8-10 °C, polojasno			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	66	90	
514 -14	PCA	10	75	112	
514 -15	PCA	10	88	135	
514 -16	PCA	5	54	98	
514 -17	MAN	10	29	35	
514 -18	MAN	10	35	40	
514 -19	MAN	10	25	33	
514 -20	MAN	5	9	15	
514 -21	FUN	5			28
514 -22	FUN	5			32
514 -23	FUN	5			25
514 -24	FUN	5			22

Příloha P 5: Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro		Datum: 15.11.2005.	Čas: 6 -9 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4-8 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	8	45	
514- 2	PCA	10	9	52	
514 -3	PCA	10	17	57	
514 -4	PCA	5	5	12	
514 -5	MAN	10	5	5	
514- 6	MAN	10	7	7	
514 -7	MAN	10	4	6	
514 -8	MAN	5	3	4	
514 -9	FUN	5			14
514 -10	FUN	5			20
514 -11	FUN	5			29
514 -1	FUN	5			30

Příloha P 6: Laboratoř během provozu

UTB 5. patro		Datum: 15.11.2005	Čas: 15 -16:30 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4-8 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	98	176	
514 -14	PCA	10	115	206	
514 -15	PCA	10	128	255	
514 -16	PCA	5	66	148	
514 -17	MAN	10	75	89	
514 -18	MAN	10	81	98	
514 -19	MAN	10	67	84	
514 -20	MAN	5	36	70	
514 -21	FUN	5			22
514 -22	FUN	5			23
514 -23	FUN	5			30
514 -24	FUN	5			18

Příloha P 7: Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro	Datum: 22.11.2005	Čas: 6 – 9 hod
---------------------	--------------------------	-----------------------

		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 0 – 2 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	6	8	
514- 2	PCA	10	4	9	
514 -3	PCA	10	10	19	
514 -4	PCA	5	3	10	
514 -5	MAN	10	5	6	
514- 6	MAN	10	2	2	
514 -7	MAN	10	3	3	
514 -8	MAN	5	3	3	
514 -9	FUN	5			8
514 -10	FUN	5			10
514 -11	FUN	5			10
514 -1	FUN	5			12

Příloha P 8: Laboratoř během provozu

UTB 5. patro		Datum:22.11.2005	Čas: 9- 11 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 0 – 2 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	132	160	
514 -14	PCA	10	76	92	
514 -15	PCA	10	145	152	
514 -16	PCA	5	33	69	
514 -17	MAN	10	7	7	
514 -18	MAN	10	20	20	
514 -19	MAN	10	26	30	
514 -20	MAN	5	7	9	
514 -21	FUN	5			18
514 -22	FUN	5			14
514 -23	FUN	5			20
514 -24	FUN	5			17

Příloha P 9: Chodba během provozu

UTB 5. patro		Datum: 22.11.2005		Čas: 15- 16:30 hod	
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 0 – 2 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
CH -1	PCA	10	68	126	
CH -2	PCA	10	72	180	
CH -3	PCA	10	80	185	
CH -4	PCA	5	34	52	
CH -5	MAN	10	24	38	
CH -6	MAN	10	22	42	
CH -7	MAN	10	36	53	
CH -8	MAN	5	14	26	
CH -9	FUN	5			16
CH -10	FUN	5			20
CH -11	FUN	5			21
CH -12	FUN	5			15

Příloha P 10: Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro		Datum: 29.11.2005		Čas: 6 – 8:30 hod	
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 2 – 5 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	8	54	
514- 2	PCA	10	11	60	
514 -3	PCA	10	15	49	
514 -4	PCA	5	3	10	
514 -5	MAN	10	2	2	
514- 6	MAN	10	3	3	
514 -7	MAN	10	2	2	
514 -8	MAN	5	2	2	
514 -9	FUN	5			8
514 -10	FUN	5			11
514 -11	FUN	5			13
514 -12	FUN	5			9

Příloha P 11: Laboratoř během provozu

UTB 5. patro	Datum: 29.11.2005	Čas: 13 – 15 hod
---------------------	--------------------------	-------------------------

		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 2 – 5 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	186	196	
514 -14	PCA	10	202	228	
514 -15	PCA	10	154	194	
514 -16	PCA	5	61	114	
514 -17	MAN	10	80	88	
514 -18	MAN	10	74	122	
514 -19	MAN	10	98	106	
514 -20	MAN	5	68	86	
514 -21	FUN	5			20
514 -22	FUN	5			18
514 -23	FUN	5			17
514 -24	FUN	5			21

Příloha P 12: Chodba během provozu

UTB 5. patro		Datum: 29.11.2005	Čas: 15-16:30 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 2 – 5 °C, zataženo			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
CH -1	PCA	10	67	116	
CH -2	PCA	10	76	110	
CH -3	PCA	10	82	138	
CH -4	PCA	5	51	104	
CH -5	MAN	10	32	48	
CH -6	MAN	10	39	53	
CH -7	MAN	10	46	108	
CH -8	MAN	5	17	32	
CH -9	FUN	5			8
CH -10	FUN	5			15
CH -11	FUN	5			18
CH -12	FUN	5			13

Příloha P 13: Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro		Datum: 6.12.2005	Čas: 6 -8:30 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			

		Teplota: 4 – 6 °C, polojasno			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	4	10	
514- 2	PCA	10	7	15	
514 -3	PCA	10	10	21	
514 -4	PCA	5	8	9	
514 -5	MAN	10	4	15	
514- 6	MAN	10	2	9	
514 -7	MAN	10	1	10	
514 -8	MAN	5	1	1	
514 -9	FUN	5			19
514 -10	FUN	5			11
514 -11	FUN	5			15
514 -12	FUN	5			13

Příloha P: 14 Laboratoř během provozu

UTB 5. patro		Datum: 6.12.2005	Čas: 8:30 – 10 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4 – 6 °C, polojasno			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	78	128	
514 -14	PCA	10	88	134	
514 -15	PCA	10	95	134	
514 -16	PCA	5	73	108	
514 -17	MAN	10	29	44	
514 -18	MAN	10	41	74	
514 -19	MAN	10	44	91	
514 -20	MAN	5	5	14	
514 -21	FUN	5			28
514 -22	FUN	5			17
514 -23	FUN	5			20
514 -24	FUN	5			22

Příloha P: 15 Chodba během provozu

UTB 5. patro		Datum: 6.12.2005	Čas: 10 – 11:30 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			

		Teplota: 4 – 6 °C, polojasno			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
CH -1	PCA	10	123	154	
CH -2	PCA	10	215	240	
CH -3	PCA	10	169	204	
CH -4	PCA	5	94	168	
CH -5	MAN	10	46	82	
CH -6	MAN	10	41	72	
CH -7	MAN	10	62	94	
CH -8	MAN	5	41	68	
CH -9	FUN	5			48
CH -10	FUN	5			35
CH -11	FUN	5			30
CH -12	FUN	5			31

Příloha P: 16 Laboratoř po expozici germicidními zářiči

UTB 5. patro		Datum: 13.12.2005	Čas: 6 – 8:30 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4-6 °C, zataženo, mrhnutí, mlha			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -1	PCA	10	6	13	
514 -2	PCA	10	9	12	
514 -3	PCA	10	8	11	
514 -4	PCA	5	5	9	
514 -5	MAN	10	3	3	
514 -6	MAN	10	5	8	
514 -7	MAN	10	2	3	
514 -8	MAN	5	4	4	
514 -9	FUN	5			11
514 -10	FUN	5			12
514 -11	FUN	5			10
514 -12	FUN	5			11

Příloha P: 17 Laboratoř během provozu

UTB 5. patro		Datum: 13.12.2005	Čas: 8:30 – 10 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4-6 °C, zataženo, mrhnutí, mlha			

Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
514 -13	PCA	10	39	54	
514 -14	PCA	10	43	62	
514 -15	PCA	10	81	114	
514 -16	PCA	5	56	72	
514 -17	MAN	10	25	36	
514 -18	MAN	10	16	27	
514 -19	MAN	10	10	21	
514 -20	MAN	5	7	16	
514 -21	FUN	5			19
514 -22	FUN	5			17
514 -23	FUN	5			14
514 -24	FUN	5			15

Příloha P: 18 Chodba během provozu

UTB 5. patro		Datum: 13.12.2005.	Čas: 10 – 11:30 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4-6 °C, zataženo, mrholení, mlha			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
CH -1	PCA	10	120	162	
CH -2	PCA	10	140	166	
CH -3	PCA	10	102	164	
CH -4	PCA	5	76	104	
CH -5	MAN	10	29	73	
CH -6	MAN	10	46	84	
CH -7	MAN	10	42	64	
CH -8	MAN	5	26	40	
CH -9	FUN	5			21
CH -10	FUN	5			22
CH -11	FUN	5			15
CH -12	FUN	5			12

Příloha P: 19 Kabinet během provozu

UTB 5. patro		Datum: 13.12.2005	Čas: 15 – 17 hod		
		Desinfekce: 94 % alkohol			
		Teplota: 4-6 °C, zataženo, mrholení, mlha			
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ

528 -1	PCA	10	37	104	
528- 2	PCA	10	49	128	
528 -3	PCA	10	39	100	
528 -4	PCA	5	33	68	
528 -5	MAN	10	27	49	
528- 6	MAN	10	13	21	
528 -7	MAN	10	19	27	
528 -8	MAN	5	15	28	
528 -9	FUN	5			39
528 -10	FUN	5			42
528 -11	FUN	5			39
528 -12	FUN	5			48

Příloha P: 20 Kabinet během provozu

UTB 5. patro		Datum: 23.1.2006		Čas: 14 – 15:30 hod	
Desinfekce: 94 % alkohol					
Teplota: - 13 až -15 °C, zataženo					
Označení vzorku	médium	Expozice (min)	Odečet 24 hod KTJ	Odečet 48 hod KTJ	Odečet po 5 dnech KTJ
528 -1	PCA	10	22	52	
528- 2	PCA	10	17	45	
528 -3	PCA	10	18	49	
528 -4	PCA	10	13	55	
528 -5	PCA	5	10	33	
528- 6	MAN	10	8	17	
528 -7	MAN	10	7	11	
528 -8	MAN	10	15	26	
528 -9	MAN	10	16	29	
528 -10	MAN	5	4	6	
528 -11	FUN	5			17
528 -12	FUN	5			14
528 -13	FUN	5			15
528- 14	FUN	5			18

Příloha P: 21 Tabulka pro odečítání množství KTJ/ m³ vzduchu

n	N	n	N	n	N	n	N	n	N
1	1	53	59	106	137	159	247	212	445
2	2	54	61	107	138	160	250	213	451
3	3	55	62	108	140	161	252	214	456

n	N	n	N	n	N	n	N	n	N
4	4	56	63	109	142	162	255	215	462
5	5	57	64	110	143	163	258	216	468
6	6	58	66	111	145	164	260	217	475
7	7	59	67	112	147	165	263	218	481
8	8	60	68	113	149	166	266	219	487
9	9	61	70	114	150	167	269	220	494
10	10	62	71	115	152	168	272	221	501
11	11	63	72	116	154	169	275	222	508
12	12	64	74	117	156	170	278	223	515
13	13	65	75	118	158	171	280	224	523
14	14	66	76	119	160	172	283	225	531
15	15	67	78	120	161	173	286	226	539
16	17	68	79	121	163	174	290	227	547
17	18	69	80	122	165	175	293	228	555
18	19	70	82	123	167	176	296	229	564
19	20	71	83	124	169	177	299	230	573
20	21	72	84	125	171	178	302	231	582
21	22	73	86	126	173	179	305	232	592
22	23	74	87	127	175	180	309	233	602
23	24	75	89	128	177	181	312	234	613
24	25	76	90	129	179	182	315	235	624
25	26	77	91	130	181	183	319	236	634
26	27	78	93	131	183	184	322	237	647
27	29	79	94	132	185	185	326	238	660
28	30	80	96	133	187	186	329	239	673
29	31	81	97	134	189	187	333	240	687
30	32	82	99	135	191	188	337	241	702
31	33	83	100	136	193	189	340	242	717
32	34	84	102	137	195	190	344	243	734
33	35	85	103	138	197	191	348	244	752
34	36	86	105	139	200	192	352	245	771
35	38	87	106	140	202	193	356	246	792

n	N	n	N	n	N	n	N	n	N
36	39	88	108	141	204	194	360	247	814
37	40	89	109	142	206	195	364	248	839
38	41	90	111	143	208	196	368	249	866
39	42	91	112	144	211	197	372	250	897
40	43	92	114	145	213	198	376	251	931
41	45	93	115	146	215	199	381	252	971
42	46	94	117	147	218	200	385	253	1018
43	47	95	118	148	220	201	390	254	1076
44	48	96	120	149	222	202	394	255	1152
45	49	97	122	150	225	203	399	256	1259
46	51	98	123	151	227	204	404	257	1662
47	52	99	125	152	229	205	408		
48	53	100	127	153	232	206	413		
49	54	101	128	154	234	207	418		
50	56	102	130	155	237	208	423		
51	57	103	131	156	239	209	429		
52	58	104	133	157	242	210	434		
		105	135	158	245	211	439		

Příloha P: 22 Výsledky Staphy testu pro jednotlivé testované kmeny

Kmen č.	URE	ARG	ORN	GAL	GLR	NIT	PHS	PYR	ESL	SUC	TRE	MAN	XYL	MILT	MNS	GLN	VPtest	OXItest	oxidáza	kataláza	Kmen	
1	+	+	+/-	-	-	+	+	+/-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	caprae	
2	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+/-	+/-	+	-	-	+	-	-	-	+	simulans
4	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	weneri
5	+	+/-	+/-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	schlei. subsp. coagulans
7	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	micrococcus luteus
8	+	+	+/-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-	+	capitis subsp. urealyticus
9	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-	-	+	epidermis
11	+/-	+	-	-	-	+	-	+/-	-	+	+	+	+/-	+	-	-	+	-	-	-	+	haemolyticus
13	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+/-	-	+	-	-	-	-	-	+	capitis subsp. capitis
14	+	-	-/+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-	-	+	epidermis
16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	epidermis
17	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	+	micrococcus sedentarius
24	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	+	micrococcus sedentarius
25	-/+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	vitulinus
26	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	micrococcus luteus
30	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	epidermis
31	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+/-	+	-	-	+/-	-	-	-	+	hominis subsp. hominis

32	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	xylosum
33	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-		-	-		pulvereri
34	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+/-	+	-	-	-	-	-	+	capitis subsp. urealyticus
37	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
39	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
41	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-		-	-	+	pasteurii
46	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+/-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis
49	+	+	-	-	-	-	+/-	-	-	+	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-	+	epidermis
51	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+/-	+	-	-		-	-	+	pulvereri
52	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	weneri
56	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-	+	aureus subsp. aureus
58	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+/-	+	-	-		-	-	+	pasteuri
59	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-/+	-/+	-	+	-	-	+	xylosum
65	+	+/-	+/-	-	+	-	-	+/-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	weneri
66	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+	+	-	+/-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
74	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
77	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+/-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
81	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-		-	-	+	pasteurii
88	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	epidermis
89	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+	-	+/-	+	+/-	-	-	-	-	+	weneri
90	-/+	+	-	-	-	+	-	+/-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	haemolyticus

93	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	piscifermentans
95	+	-	-	-	-	+	-	+/-	+	+	-	-	-	-	-	+/-		-	-	+	mucilaginosus
96	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	+/-	+	-	-		-	-	+	hominis subsp. novobiosepticus
102	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-/+	+	+	-	-	-	-	+	caprae
103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	epidermis
104	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+/-	+	-	-	+	-	-	+	haemolyticus
107	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-		-	-	+	piscifermentans
108	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-		-	-	+	pasteurii
114	+	+	-	+/-	+	-	-	-	-	+	+	+	+/-	+	-	-		-	-	+	pasturii
122	+	+	-	-	-	+	+	+/-	+	+	+	+	-	+	-	-		-	-	+	piscifermentans
123	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-	+	aureus subsp. aureus
127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-		-	-	+	saprophyticus subsp. saprophyticus
129	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
130	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-		-	-	+	pulvereri
132	+	+	-	-	-	+	-	+/-	-	+	-	+	+/-	+	+	-	-	-	-	+	capitis subsp. urealyticus
133	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	capitis subsp. urealyticus
138	+	-	-	-	-	-	+	+/-	-	+	-	-	+/-	+	-	-	-	-	-	+	epidermis
147	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	simulans
148	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+/-	+	-	-		-	-	+	saprophyticus subsp. saprophyticus

148	-/+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	cohnii subsp. cohnii
151	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+/-	-	-	+	hominis subsp. hominis
157	+	+	-	-	-	+	-	+/-	-	+	+	+	+/-	+	-	-	+/	-	-	+	hominis subsp. hominis