



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

**Mikrobiálna kontaminácia kabínových
vzduchových filtrov z vybraných
autobusov verejnej dopravy**

**Microbial contamination of cabin air filters
removed from air conditioning system of
public transport buses**

Bakalárska práca

Študijný program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Autor bakalárskej práce: Cornelia Čereiová

Vedúci bakalárskej práce: MUDr. Daniela Obitková

Kladno 2023

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Čereiová** Jméno: **Cornelia** Osobní číslo: **503397**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**
Studijní program: **Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Mikrobiálna kontaminácia kabínových vzduchových filtrov z vybraných autobusov verejnej dopravy

Název bakalářské práce anglicky:

Microbial contamination of cabin air filters removed from air conditioning system of public transport buses

Pokyny pro vypracování:

Klimatizační systémy dopravních prostředků hrají důležitou roli ve vytváření komfortního a zdravého prostředí zvláště ve vlacích a autobusech. Klimatizační systémy jsou ve většině případů osazeny velmi účinnými HEPA (high efficiency air) filtry, které zajišťují eliminaci nežádoucích částic ze vzduchu na velmi vysoké úrovni. Znalost kontaminace vzduchových filtrů různými mikroorganismy může napomoci ke zvýšení efektivity odstraňování mikroorganismů z klimatizovaných prostor. Předmětem bakalářské práce bude mikrobiologický rozbor mikroorganismů obsažených na povrchích vzduchových filtrů z autobusů veřejné hromadné dopravy vyjmutých z klimatizačních soustav při pravidelném servisu. Metodou suchých stěrů budou pořízeny vzorky pro mikrobiologické zpracování. Hlavním cílem práce bude kultivační průkaz bakterií. Kultivované bakterie budou identifikovány barvením dle Grama a dále dourčeny biochemickými testy. Důležitým výstupem práce bude porovnání kontaminace vstupních a výstupních ploch vzduchových filtrů s odhadem účinnosti filtrů v záchytu bakterií.

Seznam doporučené literatury:

- [1] OBITKOVÁ, Daniela. KLUSOVÁ Natálie a Emil PAVLÍK, Microbial Contamination of Air filters in the Automotive Air-conditioning System, online, Aspekty práce pomáhajících profesí (AWHP 2021, RALBOVSKÁ, Dana Rebeka, a Jiří HALAŠKA, ed. 1, ČVUT v Praze, [Praha], 2021, [Revidováno 2021], Přístupné z: <https://doi.org/10.14311/BK.9788001068526>, ISBN 978-80-01-06852-6
- [2] 2) KLABAN, Vladimír, Obecná a environmentální mikrobiologie: fascinující, neuvěřitelný a tajemný svět mikrobu v přírodním prostředí, ed. 1, Gaudeamus, 2018, ISBN 978-80-7435-673-5
- [3] HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA et al, Lékařská mikrobiologie – repetitorium, ed. 2, Triton, 2020, ISBN 978-80-7553-900-7

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

MUDr. Daniela Obitková

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

Datum zadání bakalářské práce: **14.02.2023**

Platnost zadání bakalářské práce: **20.09.2024**

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu s názvom Mikrobiálna kontaminácia kabínových vzduchových filtrov z vybraných autobusov verejnej dopravy vypracovala samostatne len s použitím prameňov, ktoré uvádzam v zozname bibliografických odkazov.

Nemám závažný dôvod proti užitiu tohto školského diela v zmysle § 60 zákona č. 121/2000 Zb., o právu autorskom, o právach súvisiacich s právom autorským a o zmene niektorých zákonov (autorský zákon), v znení neskorších predpisov.

V Kladne dňa 17.05.2023

.....
Cornelia Čereiová

POĎAKOVANIE

Na tomto mieste by som sa chcela poďakovať vedúcej práce MUDr. Daniele Obitkovej za trpezlivosť, cenné odborné a praktické rady pri spracovaní mojej bakalárskej práce. Taktiež sa chcem poďakovať za venovaný čas a pomoc pri vykonaní experimentálnej časti.

Moje poďakovanie ďalej patrí aj Ing. Milanovi Mrázovi za pomoc a podporu, ale aj Ústavu lekárske biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lekárske fakulty Univerzity Karlovy, pracovisku Klinická mikrobiologie – ATB centrum za poskytnutie prístroja pri vykonaní praktickej časti práce.

ABSTRAKT

Bakalárska práca je zameraná na mikrobiálnu kontamináciu vzduchových filtrov v autobusových kabínových klimatizáciách. Mikrobiálna klimatizácia bola skúmaná na vstupných a výstupných stranách 5 vzduchových filtrov vybratých z autobusov pôsobiacich vo verejnej hromadnej doprave pri pravidelnej údržbe.

Vzorky z výstupnej a vstupnej plochy boli získané technikou suchého výteru. Kultivácia bola vykonaná na rôznych selektívnych alebo selektívno-diagnostických agaroch, vrátane krvných a Mueller-Hinton agarov, za účelom zachytenia životaschopných baktérií. Na identifikáciu baktérií sa použilo Gramovo farbenie a mikroskopia s imerziou. Vybraté bakteriálne kolónie sa skúmali a identifikovali pomocou proteomickej štúdie. Po identifikácii sa vykonala kvantifikácia a výsledky boli vyjadrené v jednotkách CFU/cm² (jednotky tvoriace kolónie/cm²) a CFU/ml (jednotky tvoriace kolónie/ml). Výsledky kvantifikácie životaschopných kolónií detegovaných na vstupnej a výstupnej strane sa porovnali.

Baktérie z rodu *Bacillus* – *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* a *Bacillus flexus* prevládali na oboch, vstupnej aj výstupnej ploche filtru. Zástupcovia rodu *Staphylococcus*, *Brevibacillus*, *Peribacillus* a *Paenibacillus* boli taktiež identifikovaní. Kvantifikácia jednotiek tvoriacich kolónie ukázala nízku kontamináciu na výstupných plochách filtrov 1 a 2. Kontaminácia vstupných a výstupných strán filtrov 3, 4 a 5 bola porovnateľná. Počty CFU/cm² identifikované na oboch povrchoch, najmä v prípade bacilov boli takmer totožné.

Na záver možno konštatovať, že mikrobiálna kontaminácia filtrov bola rôznorodá, ale na základe výsledkov získaných z filtrov 3, 4 a 5 môžeme odporučiť skrátenie intervalu servisnej výmeny filtrov pre zvýšenie bezpečnosti filtrovaného vzduchu v autobusoch verejnej dopravy.

Kľúčové slová

Vzduchový filter, klimatizácia autobusu, mikrobiálna kontaminácia, environmentálne baktérie, potenciálne patogény, kultivácia, MALDI-TOF MS.

ABSTRACT

The bachelor's thesis is focused on microbial contamination of air filters in bus cabin air-conditioning system. The microbial contamination was studied on outlet and inlet sides of 5 air filters removed from the buses operating in public transport during regular maintenance.

To acquire samples from both, the outlet and the inlet sides, dry swabbing technique was used. Cultivation was performed on different selective or selective-diagnostic agars, including blood and Mueller-Hinton agars, for the purpose of obtaining viable bacteria. To identify the bacteria species, Gram staining and immerse microscopy was used. Selected colonies underwent the proteomic study as well. After identification, bacteria were quantified, and the results were provided in CFU/cm² (colony forming units/cm²) and CFU/ml (colony forming units/ml). The comparison of quantified viable colonies detected on the inlet and the outlet sides took place.

The bacteria of the genus *Bacillus* – *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus flexus* prevailed on both inlet and outlet surfaces of the filters. The members of genera *Staphylococcus*, *Brevibacillus*, *Peribacillus* or *Paenibacillus* were also identified. The quantification of colony forming units showed low contamination of the outlet surfaces of the filters 1 and 2. The contamination of inlet and outlet sides of filters 3,4, and 5 was comparable. The numbers of CFU/cm² identified on both surfaces especially in case of *Bacilli*, were nearly the same.

To sum up, the microbial contamination of the filters was variable, but according to the results obtained on the filters 3, 4, and 5 we can recommend shortening of the service interval of filters changing to improve the safety of filtered air in the buses of public transportation.

Keywords

Air filter, bus air-conditioning system, microbial contamination, environmental bacteria, potential pathogens, cultivation, MALDI-TOF MS.

Obsah

1	Úvod.....	11
2	Ciele práce	12
3	Prehľad súčasného stavu	13
3.1	Mikroorganizmy v ovzduší.....	13
3.1.1	Zástupcovia mikroorganizmov v ovzduší	14
3.2	Mikroorganizmy v pôdnom prostredí	16
3.2.1	Zástupcovia mikroorganizmov v pôdnom prostredí	18
3.3	Mikroorganizmy v prachu	20
3.3.1	Zástupcovia mikroorganizmov v prachu	21
3.4	Fyziologická mikrobiota	22
3.4.1	Koža a kožné deriváty	22
3.4.2	Respiračný systém.....	25
3.4.3	Oko	25
3.4.4	Ústna dutina.....	25
3.4.5	Hrubé črevo.....	26
3.5	Klimatizácia v autobusovej doprave.....	26
3.5.1	Zloženie autobusovej klimatizácie.....	27
3.5.2	Funkcia klimatizačného systému.....	27
3.5.3	Obeh vzduchu v kabíne autobusu.....	28
3.6	Klasifikácia vzduchových filtrov.....	29
4	Metodika.....	31
4.1	Použité roztoky a chemikálie	31
4.2	Materiál a pomôcky.....	31

4.3	Kultivácia.....	31
4.3.1	Farbenie podľa Grama.....	33
	Vykonaný postup farbenia podľa Grama a mikroskopovanie:.....	33
4.4	Identifikácia mikroorganizmov pomocou MALDI-TOF MS	34
4.5	Kvantifikácia mikrobiálnej kontaminácie	36
5	Výsledky.....	37
5.1	Kvantifikácie baktérií	39
5.1.1	Filter č. 1.....	39
5.1.2	Filter č.2.....	40
5.1.3	Filter č.3.....	40
5.1.4	Filter č.4.....	42
5.1.5	Filter č.5.....	43
6	Diskusia	45
7	Záver	49
8	Zoznam použitých skratiek	50
9	Zoznam použitej literatúry	51
10	Zoznam použitých obrázkov	62
11	Zoznam použitých tabuliek.....	63
12	Zoznam príloh.....	64
	Príloha A – Výsledky filtru č.1 z MALDI-TOF MS	65
	Príloha B – Výsledky filtru č.2 z MALDI-TOF MS	66
	Príloha C – Výsledky filtru č.3 z MALDI-TOF MS.....	67
	Príloha D – Výsledky filtru č.4 z MALDI-TOF MS.....	68
	Príloha E – Výsledky filtru č.5 z MALDI-TOF MS	69

1 ÚVOD

Verejná hromadná doprava predstavuje každodennú súčasť života ľudí s potrebou cestovania a dochádzania. Hoci táto forma dopravy prináša veľa výhod, vrátane ekologických, môže zároveň predstavovať aj zdravotné riziko pre cestujúcich.

V horúcich letných mesiacoch cestujúci ocenia cestovanie prostriedkami vybavenými klimatizáciou. Pre správnu funkciu klimatizačného systému je kľúčový vzduchový filter, ktorý slúži nielen pre jeho ochranu pred prachom a ďalšími nežiadúcimi kontaminantmi, ale slúži aj ako záchytné médium pre rôzne druhy mikroorganizmov vyskytujúcich sa ako vo vzduchu tak na telesných povrchoch a slizniciach ľudského organizmu. Pravidelnou výmenou autobusových vzduchových filtrov sa však riziko recirkulácie mikroorganizmov môže značne minimalizovať.

Cieľom bakalárskej práce je kvalitatívne a kvantitatívne vyhodnotiť mikrobiálnu kontamináciu prítomnú na povrchoch vzduchových filtrov z klimatizačných jednotiek autobusov pôsobiacich v hromadnej doprave. Dôraz je kladený na identifikáciu konkrétnych baktérií a vyhodnotenie filtračnej efektivity.

V rámci experimentálnej časti práce sa odoberú vzorky z filtrov formou suchých výterov. Analyzované filtre sú odobraté pri pravidelnej servisnej výmene a následne dovezené do laboratória. Po vykonaní kultivácie, farbenia a proteomickej analýzy sa vyhodnotia jednotlivé druhy mikroorganizmov a vypočíta sa pravdepodobná účinnosť filtrov.

Zároveň sa popíšu patogény vyskytujúce sa vo vonkajšom prostredí, ktoré sa môžu vyskytnúť aj v priestoroch interiéru autobusu zo vzduchu, pôdy či prachu a v konečnom dôsledku aj na vzduchových filtroch.

2 CIELE PRÁCE

Hlavným cieľom bakalárskej práce je analýza mikroorganizmov nachádzajúcich sa na povrchoch vzduchových filtrov klimatizačnej sústavy autobusov verejnej hromadnej dopravy.

Teoretická časť sa zaoberá popisom mikroorganizmov, ktoré sa nachádzajú vo vonkajšom prostredí, vrátane pôdy, vzduchu a prachu. Sú popísané aj baktérie, ktoré sú súčasťou mikrobioty ľudského tela a môžu sa tak stať potenciálnym patogénom. Na konci teoretickej časti je vysvetlený princíp autobusovej klimatizácie a popísaný proces výmeny vzduchu v kabíne autobusu.

Cieľom praktickej časti je kultivačný dôkaz životaschopných baktérií, vrátane ich identifikácie pomocou základných bakteriologických metód. K finálnej identifikácii mikroorganizmov bude použitá proteomická štúdia – Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS).

3 PREHĽAD SÚČASNÉHO STAVU

3.1 Mikroorganizmy v ovzduší

„Bioaerosol tvoria častice v ovzduší, ktoré môžu obsahovať mikroorganizmy - vírusy, baktérie, huby. Iné častice môžu pochádzať zo živých organizmov (peľové zrnká, semená rastlín, drevný prach, úlomky srsti zvierat, ich výlučky, hmyz atď.) Všetky tieto častice sa v ovzduší vyskytujú buď samostatne, príp. na vhodnom nosiči (prachové čiastočky, kvapky - napr. tzv. kvapôčková infekcia)“ [1]

Vzduch pre mikroorganizmy nepredstavuje vhodné prostredie pre ich rozmnožovanie. Nevyhovujúce podmienky zahŕňajú primárne nedostatok až úplnú neprítomnosť živín, nepriaznivé pôsobenie slnečného žiarenia, prípadne nedostatok vody. Napriek tomu sa ale mikróby často vyskytujú v ovzduší, z kadiaľ sa ďalej prenášajú vo forme aerosólu na zdravého človeka či už kýchaním, kašľaním alebo normálnym dýchaním. Ak sa do ovzdušia vylučujú mikroorganizmy chorou osobou a následne dochádza k nákaze zdravej osoby, vtedy hovoríme o kvapôčkovom prenose infekcie. [2]

Okrem človeka môžu byť zdrojom mikroorganizmov prítomných v ovzduší aj zvieratá, prípadne neživá príroda ako je pôda. Obsah mikróbov sa líši v závislosti na ročnom období. Vzduch teplých mesiacov roka je na mikroorganizmy bohatší než chladné mesiace zimné. Dôvodom je relatívna vlhkosť vzduchu v zime, ktorá strháva kvapôčkami mikroorganizmy k zemi. Zároveň zohráva dôležitú úlohu pri prenose aj snehová pokrývka, ktorá bráni víreniu prachu nad zemou. Čo sa týka vnútorných priestorov, počet mikróbov je vyšší práve v zimnom období, keďže intenzita vetrania v interiéroch klesá. [2]

Najčastejšie sa vyskytujúce vzdušné baktérie patria do rodov *Aerococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Actinomyces*, *Neisseria*, *Corynebacterium*, *Bacillus* či *Sarcina*. Mikromycéty majú najväčšie zastúpenie v rodoch *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Mucor* a prípadne iné, ktoré sa dostávajú do vzduchu z pôdy. [3]

3.1.1 Zástupcovia mikroorganizmov v ovzduší

- *Aerococcus viridans*

Aerococcus viridans sa zaraďuje do nepohyblivých, fakultatívne anaeróbných, grampozitívnych kokov, bez schopnosti sporulovať. Rod *Aerococcus* sa vyskytuje v prostredí, či už v spomínanom vzduchu, na rastlinách, v prachu, ale aj na človeku (koža, ucho, oko, moč alebo krv). Pre človeka sa nevyznačuje vysokou infekčnosťou, no u jedincov s oslabenou imunitou môže vyvolať ochorenie. [4]

- *Micrococcus luteus*

Baktéria *Micrococcus luteus* patrí do rodu *Micrococcus*, ktorý sa považuje ako nepatogénny pre človeka, keďže je bežnou súčasťou ľudskej mikroflóry, ale v určitých prípadoch u imunokompromitovaných osôb môže predstavovať aj zdroj infekcie, prípadne zhoršiť priebeh ostatných infekcií. Osídľuje prevažne kožu, ale aj ústnu dutinu a horné dýchacie cesty. Jej prítomnosť môžeme predpokladať v prípade nepríjemného zápachu na tele, ktorý je spôsobený jej schopnosťou rozkladať molekuly prítomné v potu. Tieto grampozitívne aeróbné koky sa okrem ľudskej mikroflóry nachádzajú aj v aerosóloch vzduchu. Významnou charakteristickou črtou je ich výrazné žlté sfarbenie kolónií na agare. [4; 5]

Rod *Bacillus* je veľmi rozsiahlou skupinou pre sporujúce baktérie, ktoré sa podľa vzhľadu spór ďalej rozdeľujú na skupiny. Do skupiny baktérií, ktorá sa

vyznačuje tvorbou spór elipsoidného tvaru bez zmeny veľkosti bakteriálnej bunky patria *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* a *B. anthracis*. Druhú skupinu tvoria bacily, ktorých elipsoidné endospóry menia veľkosť bunky. Tu zaraďujeme napríklad *B. circulans*, *B. macerans*, *B. polymyxa*, *B. alvei*, *B. brevis*, *B. stearothermophilus*, *B. popilliae*, *B. larvae* a *B. lentimorbus*. Do poslednej skupiny patrí *B. sphaericus*, charakteristická, ako už názov vypovedá, sférickým tvarom spór. [6]

- *Bacillus cereus*

Jedná sa o neopúzdrenú, fakultatívne anaeróbnú tyčinku. Patrí do prvej skupiny, teda má centrálné uložené endospóry, ktoré nemenia tvar bunky. Spóry sú vysoko rezistentné, vďaka čomu je možná ubikvita baktérie. Táto grampozitívna tyčinka sa prirodzene vyskytuje vo vonkajšom prostredí, či už v pôde alebo vo vzduchu. Najčastejšie kontaminuje potraviny rastlinného pôvodu (zelenina, ryža, zemiaky, korenie, a pod.) no aj iné druhy potravín, ako mäso, omáčky či mliečne výrobky. Patrí do skupiny podmienených patogénov, teda skôr napáda pacientov s imunodeficitom. [6; 7]

Spôsobuje 2 druhy otráv, a to emetické ochorenie alebo hnačku. Pri emetickom ochorení sa prejavuje nevoľnosť, abdominálne kŕče a zvracanie už 1 – 6 hodín po konzumácii infikovanej potraviny baktériou. Tento výsledok je väčšinou spôsobený zjedením prihriatej uvarenej ryže, ktorá bola ponechaná pri izbovej teplote dlhšiu dobu. Hoci sa vegetatívne formy baktérie varením usmrtia, termorezistentné spóry naopak zostanú nepoškodené a neskôr germinujú a začnú produkovať emetické toxíny v jedle. Prihriatím sa toxíny nezničia a preto konzumácia vedie k vyššie uvedeným príznakom. Pri gastroenteritíde prejavujúcej sa hnačkou a kŕčmi, je zvyčajne zodpovedné kontaminované mäso, zelenina alebo omáčky. Hlavným rozdielom je, že pri tejto druhej forme sa

produkuje enterotoxíny v tenkom čreve človeka, ktorý prehltil spóry, zatiaľ čo pri emetickej forme človek konzumoval už vyprodukovaný toxín. Kvôli tomu je rozdiel aj v inkubačnom čase, ktorý môže trvať aj viac ako 24 hodín, z dôvodu vyklíčenia spór a následným produkovaním toxínov. [6; 7]

- *Bacillus subtilis*

Táto grampozitívna, aeróbná, sporulujúca palička patrí medzi významné baktérie, vďaka prostrediu, v ktorom sa nachádza. Patrí medzi najčastejšie vyskytujúce sa organizmy v nemocničnom prostredí a mikrobiologických laboratóriách, hoci sa nejedná o patogénnu baktériu. Do týchto priestorov sa dostáva zo vzduchu, kde sa prirodzene vyskytuje. Na základe jej prítomnosti, môžeme predpokladať úroveň sterilizačných a dezinfekčných postupov v laboratóriu. Napriek tomu, že nepredstavuje riziko pre zdravú populáciu, u predisponovaných pacientov môže vyvolať nozokomiálnu nákazu. [8]

V súčasnosti sa ale skôr považuje za bezpečnú až prospešnú baktériu aj vďaka tomu že má status GRAS (Generally Regarded As Safe) u FDA (Food and Drug Administration). Je to veľmi nenáročná baktéria na kultiváciu a jej hlavné využitie je v oblasti biotechnológie, kde sa používa na syntézu enzýmov, antibiotík či vitamínu B₂. [9; 10]

3.2 Mikroorganizmy v pôdnom prostredí

Pôda predstavuje nevyhnutnú súčasť života na Zemi. Úrodnosť pôdy je ukazovateľ schopnosti uspokojovať životné nároky vyšších zelených rastlín. Tie sa vyznačujú tým, že dokážu premeniť energiu zo slnečného žiarenia na energiu viazanú v organickej hmote, na ktorú sú odkázané heterotrofné organizmy ako mikroorganizmy, či človek. [11]

Počet mikroorganizmov v pôde závisí od konkrétnych vlastností pôdy, no všeobecne patrí pôda medzi vhodné prostredia pre výskyt mikroorganizmov, najmä tých, ktorých mikrokolonie sa vyvíjajú v pôdnych časticiach. Baktérie sú dominantne obsadené v početnosti mikroorganizmov v pôde, kde sú zároveň zodpovedné za veľké množstvo biochemických premien. Aeróbne či fakultatívne anaeróbne baktérie, ktoré sa tu najčastejšie vyskytujú patria do rodov *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia* *Pseudomonas* a *Streptomyces*. Rody *Clostridium* a *Desulfovibrio* sú hlavnými zástupcami u obligátne anaeróbných mikroorganizmov v pôde. Anaeróby vyhľadávajú prostredie, v ktorom aeróbne baktérie spotrebovali kyslík prípadne sa často vyskytujú aj v zavodnenej či zamokrenej pôde. [11]

Mikroorganizmy v edafóne majú niekoľko dôležitých funkcií. Medzi najdôležitejšie sa zaraďujú práve rozklad organického materiálu a vytváranie pôdnej štruktúry. Tá vzniká zlúčením pôdnych častíc pomocou polysacharidov z bakteriálnej bunkovej steny. Okrem vyššie spomínaných úloh netreba samozrejme zabúdať na potravinový reťazec edafónu, ktorého sú baktérie súčasťou. Dôležitý význam patrí aj rodu *Streptomyces*, ktorý dokáže produkovať bioaktívne látky, používané ako antibiotiká. Významným je streptomycín, ktorý je efektívny pri liečbe tuberkulózy, no okrem významu v medicíne dokážu streptomycéty produkovať či rozkladať aj humusové látky. [12; 13]

Okrem baktérií majú význam pre pôdu aj huby, keďže tvoria veľkú časť celkovej pôdnej mikrobiálnej biomasy. Huby patria do skupiny heterotrofných eukaryotických mikroorganizmov a v pôde sa vyskytujú buď v podobe samostatných organizmov, alebo v mutualistickom vzťahu s koreňmi rastlín zvanom ako mykoríza. Pokiaľ je pôda správne prevzdušňovaná a obrábaná, výskyt húb a plesní je významný. Z kvantitatívneho hľadiska

nachádzame najčastejšie rody *Aspergillus* a *Penicillium*, no aj *Geotrichum*, *Trichoderma*, *Ascomycota* či *Basidiomycota*. [14]

3.2.1 Zástupcovia mikroorganizmov v pôdnom prostredí

- *Bacillus licheniformis*

B. licheniformis sa zaraďuje medzi grampozitívne baktérie formujúce endospóry s najčastejším výskytom v pôde a na rastlinnom materiáli. Často sa vyskytuje aj na vtáčom perí, kde dokáže degradovať β -keratin. Dlhoročne sa používa pri produkcii exoenzýmov v poľnohospodárskom, potravinárskom, biomedicínskom alebo farmaceutickom priemysle. [15; 16; 17]

Keďže sa *B. licheniformis* zaraďuje do rovnakej podskupiny ako *B. subtilis* a *B. pumilus*, je tiež spájaný s potravinovými gastroenteritídami. Často kontaminuje mliečne výrobky, mäso a zeleninu. *B. licheniformis* dokáže vytvárať kolónie aj pri vyšších teplotách (okolo 58°C). Jeho spóry dokážu taktiež odolávať vyšším teplotám, čo im umožňuje zotrvať v dormantnej forme aj pri priemyselnej úprave mlieka, či tepelnej úprave mäsa. [18; 19]

- *Bacillus flexus*

Táto baktéria sa neodlišuje svojou charakteristikou od ostatných bacilov a teda je tiež grampozitívna, aeróbna, sporulujúca tyčinka. Vytvára hladké, mliečne krémové kolónie. Avšak, na rozdiel od iných bacilov, patogenita pre človeka zatiaľ nebola objasnená. Jeho význam môžeme nájsť v priemyselnej ekológii, keďže sa tento bacil vyznačuje potenciálnou biodegradačnou schopnosťou na polyvinylchloridy a iné plasty. [20; 21]

- *Bacillus pumilus*

B. pumilus je aeróbná, grampozitívna tyčinkovitá baktéria schopná sporulácie. Vyskytuje sa v rhizosfére plodín, kde dokáže fixovať atmosférický dusík. Je prospešná pre život rastlín aj vďaka produkcii lytických enzýmov – chitináz, pôsobiacich proti patogénnym hubám. [22; 23]

- *Streptomyces spp.*

Jedná sa o rod grampozitívnych filamentózných baktérií, ktoré k svojmu rastu a rozmnožovaniu potrebujú nevyhnutne kyslík. Viaceré druhy dokážu produkovať antivírusové, antibakteriálne, antifungálne, antiprotozoárne a antitumorové látky, ktoré sa v dnešnej dobe používajú pri výrobe antibiotík. Významnými sú streptomycín, neomycín, tetracyklín či amfotericín. Streptomycéty sú bežne súčasťou pôd, rozkladajúceho sa biologického materiálu, ale nájdu sa aj na rastlinách, kde pôsobia patogénne. Pre človeka predstavujú riziko vzniku mycetómov spôsobených posttraumatickou infekciou. [24]

- *Aspergillus spp.*

Pre rod *Aspergillus* predstavuje pojem prirodzené prostredie široký diapazón miest v prírode, počnúc od vzduchu, cez pôdu až po rozkladajúce sa organické látky. Bežne sa však môže vyskytovať aj v bytovom prachu, či na potravinách, kde produkuje mykotoxíny, primárne aflatoxíny ale aj iné. Pre človeka predstavujú nebezpečenstvo hlavne v prípade, pokiaľ sa jedná o imunokompromitovanú osobu, kedy môže vyvolať mykózy, aspergilózy dýchacieho systému alebo alergie typu I. [25; 26]

Charakteristické pre tento rod sú rýchlo rastúce kolónie so širokou škálou možností zafarbenia od odtieňov bielej, žltej, hnedej, zelenej až po čiernu. Ich povrch je zamatový až práškovitý. [26]

- *Clostridium spp.*

Jedná sa o rod grampozitívnych, anaeróbných paličiek, ktoré zväčša tvoria spóry. Výnimkou sú napríklad *Clostridium perfringens* a *Clostridium ramosum*, ktoré spóry vytvárajú len zriedka. Normálny výskyt tohto rodu je v pôde, vode, odpadoch, ale aj v gastrointestinálnom trakte, v ktorom sú súčasťou mikrobiálnej flóry človeka a zvierat. Vďaka schopnosti sporulácie dokážu prežiť aj v nepriaznivých podmienkach a v prípade nutrične bohatého prostredia bez kyslíku dokážu rýchlo vyrásť a začať produkovať histolytické toxíny, enterotoxíny alebo neurotoxíny, ktoré následne vyvolávajú rôzne ochorenia. [27]

Medicínsky významné sú *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. novyi*, a iné. Ochorenia, ktoré klostrídie vyvolávajú sú širokospektrálne – od tetanu a botulizmu až po plynovú gangrénu a iné typy infekcií. [27]

3.3 Mikroorganizmy v prachu

Človek trávi priemerne až 90% svojho času vo vnútorných priestoroch, ktoré zahŕňajú domy, pracoviská, školy, verejné miesta a aj dopravné prostriedky. Prach je všadeprítomný vo všetkých interiéroch, ktoré obklopujú človeka na dennej báze a jeho obsah odráža zloženie okolitého prostredia. [28]

Prach môžeme definovať ako heterogénnu zmes pevných častíc rôznych veľkostí, ktorý tvorí bežnú súčasť nášho životného prostredia. Tieto častice sa vyskytujú ako aerosóly alebo sa môžu usadzovať na povrchoch, pričom menšie častice tvoria aerosólovú zložku a väčšie majú sedimentačný charakter.

Organické zložky obsiahnuté v prachu – baktérie, vírusy, plesne, roztoče, peľ alebo zvyšky kože a chlupov človeka či zvierat – môžu byť príčinou niekoľkých zdravotných problémov pre ľudský organizmus. [29]

Mikroorganizmy v interiérovom prachu majú predstaviteľov z rôznych rodov, kde dominujúcou skupinou sú grampozitívne baktérie rodu *Bacillus*, s vedľajším výskytom rodov *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactilobacillus*, no aj *Solibacillus* alebo *Brocothrix*. Významným kmeňom sú aj aktinomycéty, ktorých najčastejšie sa vyskytujúce rody v prachu vo vnútorných priestoroch sú *Corynebacterium* a *Propionibacterium*. [30]

3.3.1 Zástupcovia mikroorganizmov v prachu

- *Actinomyces spp.*

Baktérie z tohto rodu zahŕňujú fakultatívne anaeróbne, prípadne striktné anaeróbne grampozitívne pleomorfné tyčinky. Ich vláknitá štruktúra vetviaca sa do písmena V alebo Y pripomína podobnosťou morfológiu húb, no práve od nich sa odlišujú tenšou stavbou a neprítomnosťou znakov typických pre eukaryotické bunky mikromycét. Nejedná sa o sporujúcu baktériu, no dokáže oddeľovať z koncov kokovité a kokobacilárne útvary. Jej prítomnosť je spájaná s pôdnym alebo prašným prostredím, no kolonizuje aj sliznice človeka a zvierat. V prípade narušenia slizničnej bariéry v dôsledku úrazu, chirurgického zákroku alebo primárneho infekčného procesu spôsobujú ochorenia – napríklad aktinomykózu alebo sa môžu podieľať aj na rozvoji parodontitídy. [31; 32]

- *Penicillium spp.*

Penicillium je rod vláknitých húb, pre ktorý je charakteristický kozmopolitný výskyt vo vonkajšom, ako aj vo vnútornom prostredí. Okrem vody, pôdy a vzduchu kontaminuje aj povrch kože, nechty, dýchací systém a taktiež aj

zažívací systém, do ktorého sa dostane prostredníctvom pokazeného ovocia, či iných potravín a jedál. Viaceré druhy sú producentmi mykotoxínov a v prípade dlhodobého vystavenia môžu vyvolať alergické pľúcne ochorenia. U ľudí s oslabenou imunitou existuje riziko závažných pľúcnych infekcií, ktoré sa ďalej šíria hematogénne do ostatných orgánov a môžu pôsobiť až fatálne. Pri vdýchnutí rozprášených konídií môže vzniknúť pľúcna pencilióza. [33]

3.4 Fyziologická mikrobiota

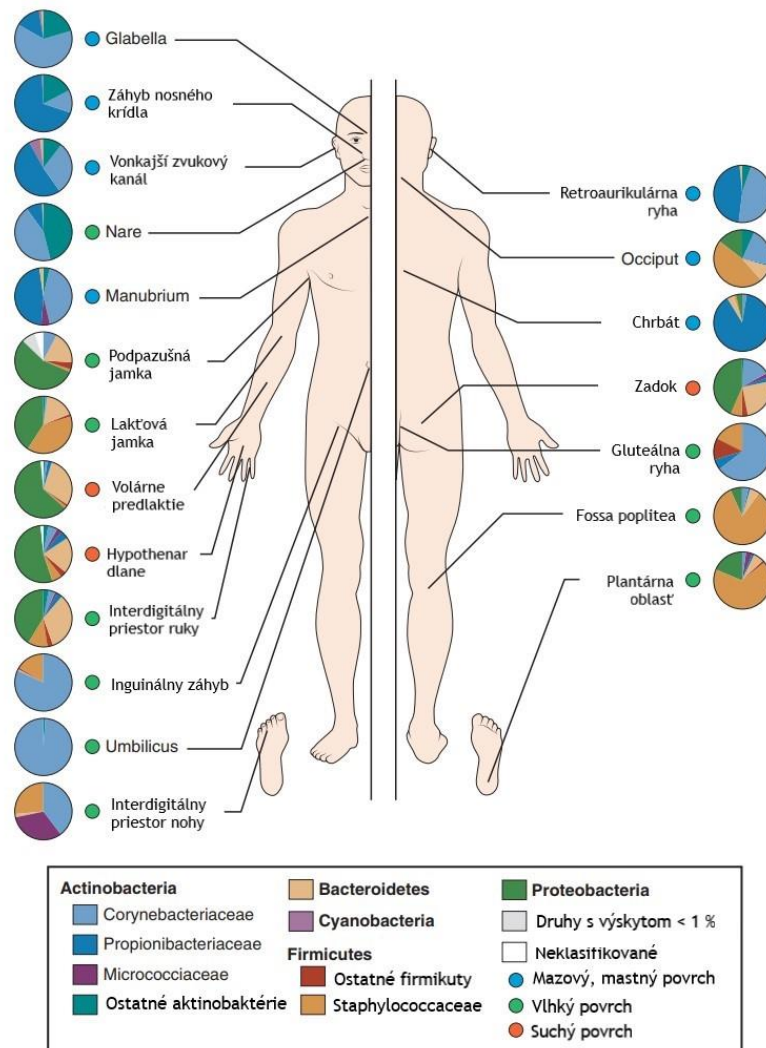
Termínom fyziologická mikrobiota (predtým označovaného ako mikroflóra) sa označuje súbor mikroorganizmov, predovšetkým baktérií, ktoré sa svojou činnosťou podieľajú na správnom fungovaní hostiteľského organizmu. [34]

Mikroorganizmy, ktoré sú súčasťou ekosystému ľudského tela sa najčastejšie vyskytujú na miestach, ktoré sú v kontakte alebo komunikujú s vonkajším prostredím, ako napríklad koža a jej deriváty, ústna dutina, nos a respiračný systém, gastrointestinálny či urogenitálny trakt. [34; 35]

3.4.1 Koža a kožné deriváty

Baktérie, ktoré sú súčasťou kožnej mikrobioty hrajú významnú úlohu pri nielen výžive pokožky ale aj obranyschopnosti pred patogénnymi mikroorganizmami spolu s kožným mazom. Prevencia pred inváziou patogénnymi spočíva v kolonizačnom princípe – prítomnosť komenzálnych baktérií bráni osídleniu potenciálne patogénnymi baktériami, čo však nemusí platiť pri užívaní antibiotík. Počet prítomných mikroorganizmov na koži závisí na rôznych faktoroch prostredia, ale aj na špecifickej baktericídnej aktivite pokožky. Baktérie sa najčastejšie vyskytujú vo vlhkých oblastiach, a to v podpazuší, v oblasti hrádze, medzi prstami na nohách či na skalpe. [35; 36]

Baktérie, zaraďujúce sa do skupiny prirodzenej kožnej mikrobioty, musia vykazovať spoločný znak na prežitie v tomto prostredí, ktorým je schopnosť odolávať nižšiemu pH pokožky. Významným je rod *Staphylococcus*, ktorý reprezentujú primárne *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus aureus*. Často prítomné sú difteroidné paličky, zahrňujúce rod *Propionibacterium* s najznámejším zástupcom *Propionibacterium acnes*, či rod *Corynebacterium*. Okrem už spomínaných, nachádzame na ľudskej koži aj mikrokoky (zástupca *Micrococcus luteus*) a niektoré gramnegatívne tyčinky (*Enterobacter*, *Klesiella*, *E.coli*, *Proteus spp.* a *Actinobacter spp.*). [36]



Obrázok 1- Topografická distribúcia baktérií, ktoré sú súčasťou kožnej mikrobioty [37]

- *Staphylococcus epidermidis*

Najčastejšie osídľujúca skupina stafylokokov normálnej mikroflóry kože a slizníc sú koaguláza-negatívne stafylokoky, z ktorých najvýznamnejším je *Staphylococcus epidermidis*. Vytvára porcelánovo-biele kolónie a pod mikroskopom sú všetky koky rovnomerne zafarbené domodra. Keďže patrí medzi oportúnne patogény, infekciu u hostiteľa vyvoláva iba za daných podmienok, ako sú napríklad nedostatočná imunita alebo u osôb so zavedenými či implantovanými pomôckami. [38]

- *Staphylococcus warneri*

Ďalším významným koaguláza-negatívnym stafylokokom je *S. warneri*. Hoci tvorí < 1 % kožnej mikroflóry, môže predstavovať aj patogénnu hrozbu pre močový trakt či iné orgány. Sú dokázané prípady bakteriémií súvisiacich s katétrom, endokarditíd, viacnásobných abscesov alebo septických artritíd. Vyznačuje sa rezistenciou na penicilín, je citlivý na antibiotiká bez beta-laktamázovej štruktúry, ktoré sú účinné pri liečení takýchto infekcií. [39]

Ostatné skupiny baktérií a ich prirodzený výskyt v kožnej mikroflóre (pozri Obrázok 1) :

- *Corynebacterium* – oblasť hlavy a hrude, slabín, pupka, zadku a interdigitálne priestory nôh či rúk;
- *Propionibacterium* – vývody mazových žliaz primárne v oblasti tváre a chrbta;
- *Micrococcus* – hlavne oblasť prstov chodidla, dlane a okolo manubria;
- *Bacteroidetes* – oblasť ruky od podpazušnej jamky až po interdigitálny priestor, oblasť záhlavia, zadku, či podkolennej jamky;
- *Firmicutes* – súčasťou takmer celého tela okrem oblasti hlavy;

- *Proteobacteria* – rozmiestnené na rôznych častiach ruky, záhlaví, chrbta, zadku, v podkolennej jamke a na chodidle.

3.4.2 Respiračný systém

Dýchací systém je mohutne osídľovaný baktériami, ktoré sa vyskytujú primárne v oblastiach, kde dochádza k bezprostrednému kontaktu s vonkajším prostredím. Nosné dierky, nosné priechody a nosohltan sú práve tieto miesta. Naopak vedľajšie nosné dutiny, hrtan či Eustachova trubica sú z klinického pohľadu sterilné. V prípade pomenovania komenzálov horných dýchacích ciest sa často skloňujú názvy *S. epidermidis*, *Moraxella catarrhalis*, *S. pneumoniae*, difteroidné tyčinky, prípadne aj *S. aureus*, či *H. influenzae*. [40]

V dolných dýchacích cestách je zloženie mikrobioty podobné osídleniu faryngu z dôvodu mikroaspirácie. Dominujú viridujúce streptokoky, *Prevotella* a *Veillonella*. [40]

3.4.3 Oko

Očná spojovka je chránená pred patogénmi vďaka produkcií slz, ktoré nielenže pravidelne zvlhčujú túto sliznicu, ale obsahujú aj látky s baktericídnym účinkom – lyzozýmy. Prirodzene sa tu vyskytujú koaguláza-negatívne stafylokoky a difteroidy. [41]

3.4.4 Ústna dutina

Podobne ako oko, aj dutina ústna produkuje v slinách antibakteriálne pôsobiaci lyzozým, ktorý spolu s normálnou mikrobiotou bráni napadnutiu patogénmi. K fyziologicky sa vyskytujúcim nepatogénnym mikróboom sa zaraďujú baktérie osídľujúce nosohltan, teda vyššie spomínané streptokoky, hemofily, stafylokoky alebo neisserie, doplnené o anaeróby z rodov: *Lactobacillus*,

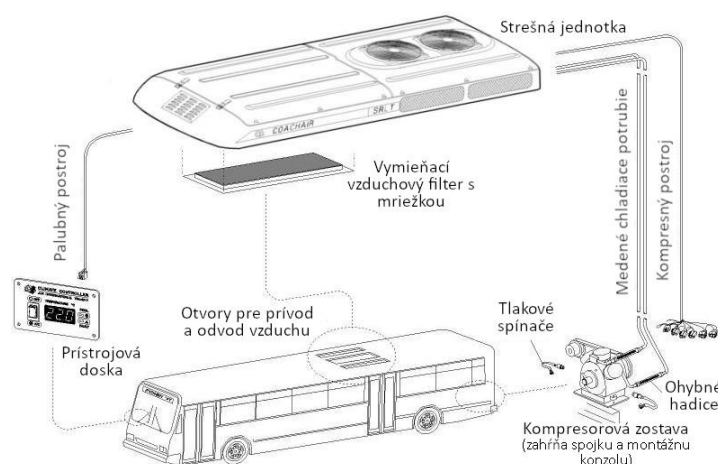
Actinomyces, Peptostreptococcus, Veillonella, Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas a iné. Medzi viridujúce streptokoky v slinách, na jazyku a na sliznici zaraďujeme *Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguis* a *Streptococcus mitis*. [41]

3.4.5 Hrubé črevo

Mikrobiota hrubého čreva je významne osídlená baktériami, a to až z 99 % anaeróbnymi mikróbmami. Prevládajú rody *Bifidobacterium, Eubacterium, Peptostreptococcus*, či enterokoky. Významným zástupcom je tiež *Escherichia coli*. V prípade narušenia prirodzenej mikroflóry užívaním antibiotík sa môžu premnožiť oportúnne patogény, ako napríklad pseudomonády, kvasinky či klostrídie. [42]

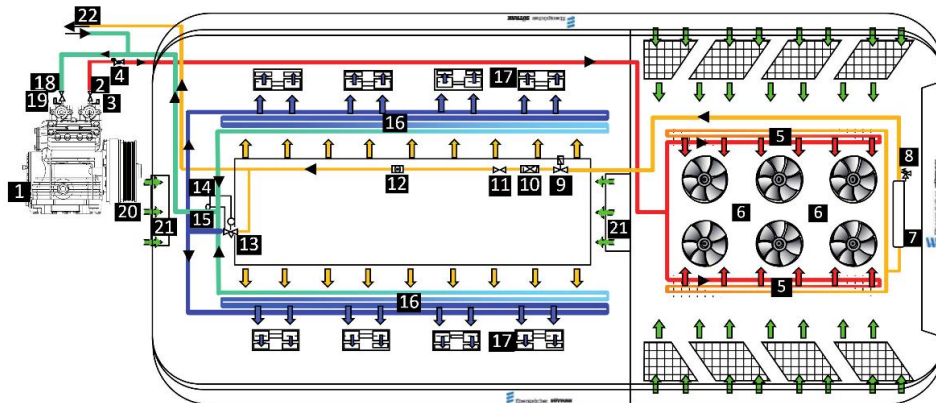
3.5 Klimatizácia v autobusovej doprave

Na obrázku 2 je znázornené, ako sú jednotlivé zložky, potrebné pre správny chod klimatizácie, umiestnené vo vozidle autobusu. Vymieňací vzduchový filter s mriežkou je umiestnený pod strešnou jednotkou, kde dochádza k samotnému procesu chladenia vzduchu.



Obrázok 2- Ilustračná schéma umiestnenia klimatizácie v autobuse [43]

3.5.1 Zloženie autobusovej klimatizácie



RÔZNE FÁZY KOLOBEHU CHLADIVA

Nízky tlak v plynnom skupenstve	→ Vonkajší vzduch	1 Kompresor	12 Priehľadítka
Vysoký tlak v plynnom skupenstve	→ Teplý extrahovaný vzduch	2 Tlakový uzatvárací ventil	13 Expanzný ventil
Vysoký tlak v kvapalnom skupenstve	→ Teplý vnútorný vzduch	3 Vysokotlakový spínač	14 Senzor pre expanzný ventil
Nízky tlak v kvapalnom skupenstve	→ Ochladený vnútorný vzduch	4 Spätný ventil	15 Linka ekvalizéra
		5 Kondenzátor	16 Výparník
		6 Pridavný ventilátor	17 Odparovací ventilátor
		7 Prijímač	18 Sací uzatvárací ventil
		8 Pretlakový ventil (poistný ventil)	19 Nízkotlakový spínač
		9 Solenoidový ventil	20 Elektromagnetická spojka
		10 Filter-dehydrátor	21 Klapka čerstvého vzduchu
		11 Uzatvárací ventil	22 Pripojenie prednej skrinky

Obrázok 3- Stavba autobusovej klimatizácie [44]

3.5.2 Funkcia klimatizačného systému

Chladivo v plynnom skupenstve vstupuje z výparníku do kompresora. Kompresor chladivo stlačí a tým zvýši jeho teplotu a tlak. Takto zmenené chladivo je dopravené do kondenzátora, kde dochádza k odobraniu tepla, teda ku kondenzácii, dôsledkom ktorej sa chladivo dostáva do kvapalnej fáze. Uvoľnené teplo postupuje do vonkajšieho vzduchu pôsobením ventilátorov. [44]

Z kondenzátora vystupuje skvapalnené chladivo a skrz niekoľko komponentov sa dostáva do dehydrátora. Odtiaľ prechádza cez priehľadítka do expanzného ventilu. Úlohou expanzného ventilu je kontrolovať množstvo kvapalného chladiva prichádzajúceho do výparníku. Expanzný ventil má význam aj pri udržiavaní konštantného tlaku vo výparníku na dosiahnutie

optimálneho ochladzovania. Chladivo je rovnomerne distribuované vo výparníku vďaka jeho prúdeniu v jednotlivých cievkach výparníka. [44]

Odparovacie ventilátory vháňajú teplý vnútorný vzduch z vozidla do klimatizačného systému cez výparník, čím vzduch uvoľňuje časť svojho tepla, ktoré absorbuje chladivo. Týmto procesom dochádza k evaporácii, ochladzujú sa steny výparníka a pôsobením ventilátora sa vháňa tento chladný vzduch do vozidla. Odparené chladivo ďalej postupuje do kompresora, kde sa celý cyklus opakuje. [44]

3.5.3 Obeh vzduchu v kabíne autobusu



Obrázok 4- Vlastná dokumentácia z exkurzie (vľavo: interiérový pohľad- vchod do strešnej jednotky; vpravo: exteriérový pohľad na otvorenú strešnú jednotku) (Cornelia Čereiová, 2023)

1 – Vymieňací vzduchový filter s mriežkou, 2 – výparník, 3 – odparovací ventilátor, 4 – ochranný filter na výparník proti prachu a veľkým časticiam.

V súčasnosti sú bežne používané autobusy vybavené HVAC (Heating, Ventilation, and Air Conditioning) systémom. Tento systém je umiestnený v strednej časti strechy autobusu. Cesta interiérového vzduchu pri procese jeho filtrovania začína prechodom cez mriežku, ktorá je umiestnená v hornej interiérovej časti vozidla. Bezprostredne za ňou je filter, ktorý má za úlohu

oddeliť prachové častice a iné väčšie nečistoty z ovzdušia. Následne sa vzduch ochladzuje, prípadne ohrieva, vo výparníkovej časti odkiaľ sa vracia späť cez bočné prieduchy do kabíny autobusu. [45]

3.6 Klasifikácia vzduchových filtrov

Vzduchové filtre majú významný vplyv na kvalitu vnútorného vzduchu, a teda aj na zdravie ľudí, tým, že redukujú koncentráciu aerosólových častíc. Podľa normy ČSN EN ISO 16890 sa vzduchové filtračné prvky delia do tried podľa ich schopnosti odstraňovať aerosólové častice. [46]

Odlišujú sa 4 skupiny filtrov podľa typu častíc, ktoré filtrujú: [47]

- ISO COARSE – hrubé nečistoty,
- ISO ePM₁₀ – častice menšie ako 10 μm,
- ISO ePM_{2,5} – častice menšie ako 2,5 μm,
- ISO ePM₁ – častice menšie ako 1 μm.

Tabuľka 1 - Medzinárodná klasifikácia vzduchových filtrov podľa ČSN EN ISO 16890 [46; 47]

Označenie skupiny	Požadovaná minimálna účinnosť filtru			Referenčná hodnota pre zatriedenie filtru
	ePM _{1, min}	ePM _{2,5, min}	ePM ₁₀	
ISO COARSE	–	–	< 50 %	IGA
ISO ePM ₁₀	–	–	≥ 50 %	> 60 %
ISO ePM _{2,5}	–	≥ 50 %	–	> 80 %
ISO ePM ₁	≥ 50 %	–	–	> 90 %

*IGA = meranie počiatočného gravimetrického záchytu

Niektoré vzduchové filtre však môžu byť klasifikované podľa pôvodnej medzinárodnej normy ČSN EN 779:2012 alebo podľa normy ČSN EN 1822:2010. V zmysle ČSN EN 779:2012 rozlišujeme triedy filtrov G1- G4 s účinnosťou na hrubý prach, M5-M6 ktoré sú vhodné na stredne hrubý prach a F7-F9 využívané na jemný prach. [48]

Norma ČSN EN 1822:2010 klasifikuje vzduchové filtre podľa percentuálnej hodnoty účinnosti a prieniku pre MPPS (Most Penetrating Particle Size) častice. Účinné, vysokoúčinné a ultraúčinné filtre zaraďujeme do skupín: E- EPA, H- HEPA a U- ULTRA. [48]

Tabuľka 2 – Klasifikácia vzduchových filtrov podľa ČSN EN 1822:2010 [48]

EN 1822		Celková hodnota pre MPPS častice (0,1–0,3 μm)		Integrálna hodnota pre MPPS častice (0,1–0,3 μm)	
Skupina filtrov	Trieda filtrácie	Účinnosť (%)	Prienik (%)	Účinnosť (%)	Prienik (%)
Skupina E EPA	E 10	≥ 85	≤ 15	–	–
	E 11	≥ 95	≤ 5	–	–
	E 12	≥ 99,5	≤ 0,5	–	–
Skupina H HEPA	H 13	≥ 99,95	≤ 0,05	≥ 99,75	≤ 0,25
	H 14	≥ 99,995	≤ 0,005	≥ 99,975	≤ 0,025
Skupina U ULPA	U 15	≥ 99,9995	≤ 0,0005	≥ 99,9975	≤ 0,002 5
	U 16	≥ 99,999 95	≤ 0,000 05	≥ 99,999 75	≤ 0,000 25
	U 17	≥ 99,999 995	≤ 0,000 005	≥ 99,999 9	≤ 0,0001

Tabuľka 3 - Pôvodná medzinárodná klasifikácia vzduchových filtrov podľa ČSN EN 779:2012 [48]

EN 779		Stredný stupeň odlúčivosti (Am) syntetického prachu (%)	Stredný stupeň účinnosti (Em) častíc 0,4 μm (%)	Minimálna účinnosť (M.E. u častíc 0,4 μm (%))
Skupina filtrov	Trieda filtrácie			
Hrubý prach	G1	50 < Am < 65	–	–
	G2	65 < Am < 80	–	–
	G3	80 < Am < 90	–	–
	G4	90 < Am	–	–
Stredne hrubý prach	M5	–	40 < Em < 60	–
	M6	–	60 < Em < 80	–
Jemný prach	F7	–	80 < Em < 90	35
	F8	–	90 < Em < 95	55
	F9	–	95 < Em	70

4 METODIKA

4.1 Použité roztoky a chemikálie

Etanol používaný na dezinfekciu laminárneho boxu je od českého výrobcu Penta s.r.o., ktorý dodala spoločnosť P-Lab a.s., Česká republika. Na prípravu bakteriálnych suspenzií sa používal fyziologický roztok Chlorid sodný 0,9% Braun (Nemecko). Súprava potrebná k farbeniu podľa Grama je od nemeckého výrobcu Carl Roth GmbH, dodaná spoločnosťou P-Lab a.s., Česká republika.

4.2 Materiál a pomôcky

K vykonaným experimentom bol použitý tento materiál a pomôcky:

- Odberové tampóny s polyesterovou hlavičkou
- Bakteriologické kľučky
- Pipetovacie špičky
- Injekčné striekačky s ihlou
- Pasteurove pipety
- Plastové skúmavky s objemom 15 ml a 50 ml
- Jednorazové latexové ochranné rukavice, nepudrované
- Bunsenov kahan

Všetok spotrebný plastový materiál bol dodaný od P-Lab a.s., Česká republika.

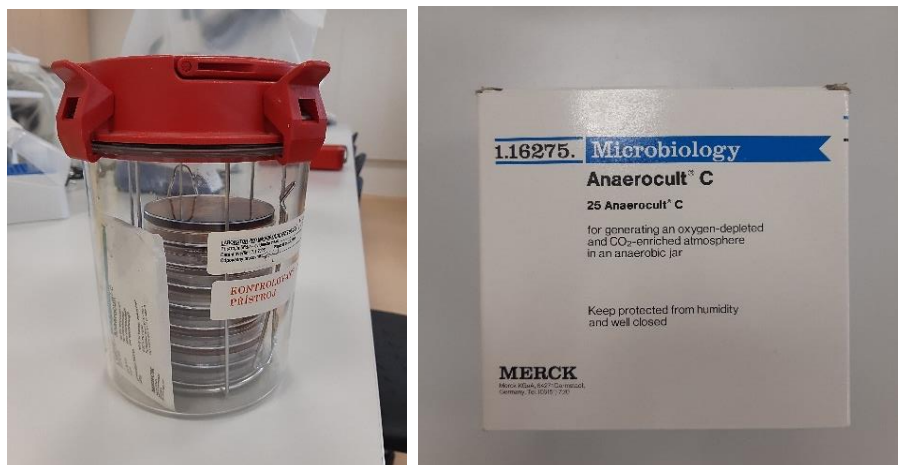
4.3 Kultivácia

Odber vzoriek z vybraných autobusových filtrov (ARFES.CZ s.r.o., Česká republika) bol vykonaný v laminárnom boxe Biohazard SafeFAST Classic, triedy BSL 2 (Schoeller Instruments s.r.o., Česká republika) pomocou sterilného

odberového tampónu s polyesterovou hlavičkou (Inset s.r.o., Česká republika) metódou suchého steru. Obe, vstupná aj výstupná strana filtru, bola rozdelená na 3, prípadne 2 časti, z ktorých sa vykonali samostatné odbery. Dodané filtre boli zložené zo syntetického/polyesterového vlákna.

Bezprostredne po odbere vzoriek sa výter aplikoval na kultivačné médium. Živné pôdy, použité v tomto experimente, zahŕňali: krvný agar, Mueller-Hinton agar, čokoládový agar, krvný agar s NaCl, Endovu pôdu a Sabouraudovu pôdu. Spomínané agary pochádzajú od firmy BioVendor – Laboratorní medicína a.s., Česká republika.

Následne boli pôdy umiestnené do inkubátora Memmert (Merci, s.r.o., Česká republika). Kultivácia prebiehala pri teplote 36 ± 1 °C. V prípade kultivácie anaeróbných baktérií sa pred vložením do inkubátora uzavreli v anaerostate OXOID spolu s vyvíjačom plynov Anaerocult® C (Merck KGaA, Nemecko).



Obrázok 5- Prístroj anaerostat Oxoid s vloženými pôdami (vľavo) a balenie obsahujúce vrecúška s reagensmi tvoriacim anaeróbne prostredie (vpravo) (Cornelia Čereiová, 2023)

Po kultivácii trvajúcej 24-72 hodín sa jednotlivé kolónie spočítali a rozočkovali na agary.

4.3.1 Farbenie podľa Grama

Gramovo farbenie je základná farbiaca technika, ktorou sa diagnostikujú baktérie podľa typu bunkovej steny. Typ bakteriálnej steny závisí od sily peptidoglykánovej vrstvy podľa ktorej sa baktérie rozdeľujú na grampozitívne a gramnegatívne. [49]

Princípom tejto metódy je farbenie mŕtvych bakteriálnych kultúr kryštálovou violeťou a Lugolovým roztokom, ktoré spolu v bunke reagujú, čím vznikne polymér. Následne sa aplikuje organické rozpúšťadlo (etanol alebo acetón), ktoré odfarbí niektoré baktérie. Grampozitívne baktérie majú silnú vrstvu peptidoglykánu, ktorá zabezpečuje zotrvanie farbiva aj po pôsobení organického rozpúšťadla. V prípade gramnegatívnych baktérií sa bunková stena odfarbí, pretože obsahuje iba tenkú a riedku vrstvu peptidoglykánu cez ktorú prejde vzniknutý polymér kryštálovej violeti a jódu. Z tohto dôvodu sa ešte pridáva safranín alebo karbolfuksín, ktorý zviditeľní tieto baktérie pod mikroskopom tým, že zostanú zafarbené na červeno alebo ružovo. Výsledné zafarbenie grampozitívnych baktérií je tmavofialové. [49]

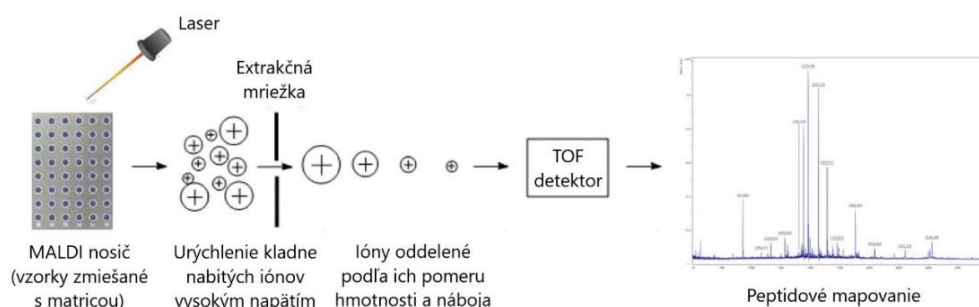
Vykonaný postup farbenia podľa Grama a mikroskopovanie:

1. Vytvorenie bakteriálnej suspenzie vo fyziologickom roztoku na podložné sklíčko pomocou bakteriologickej kľučky.
2. Po vysušení, fixácia teplom prejdením 3x cez plameň (1 – 2 s).
3. Fixovaný preparát prevrství roztokom kryštálovej violeti, nechať pôsobiť 90 s. Prebytočné farbivo zliať.
4. Prevrstvenie Lugolovým roztokom, nechať pôsobiť 90 s. Opláchnuť vodou.
5. Odfarbovať acetónom do doby, kým odteká farbivo.
6. Opláchnutie vodou.
7. Dofarbenie karbolfuksínom a nechať pôsobiť opäť 90 s.

8. Oplach vodou a jemne osušiť preparát, prípadne nechať samovoľne zaschnúť. [modifikované podľa [49]]
9. Pozorovanie pod mikroskopom LABOMED Lx 400 (SVEN BioLabs s.r.o., Česká republika) s kamerou BMS pri 1000x zväčšení objektívu s použitím imerzného oleja.

4.4 Identifikácia mikroorganizmov pomocou MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS je analytická metóda, ktorá umožňuje identifikáciu mikroorganizmov na úroveň rodu a druhu, v ktorej sa využíva analýza spektra mikrobiálnych proteínov. Jedná sa o rýchlu a presnú metódu, v ktorej sú častice ionizované laserovým lúčom, ktorý rozptýli molekuly matrice a vzorku do plynného skupenstva. Ionizované proteíny sa následne usmernia pôsobením elektrostatického poľa do vákuovej trubice. Na konci analyzátorovej trubice je detektor, ktorý zaznamenáva čas, za aký molekuly preletia od začiatku až po koniec tejto trubice. Rýchlosť letu závisí od pomeru hmotnosti a náboja jednotlivých častíc. [50]



Obrázok 6- Schematické zobrazenie pracovného postupu MALDI-TOF MS [51]

Vyhodnotenie prebieha na základe grafického znázornenia hmotnostného spektra, ktoré sa porovná s referenčnými hmotnostnými spektrami jednotlivých taxónov v databáze. Podľa podobností spektier softvér určí patogéna a zároveň pravdepodobnosť správnej identifikácie (pozri Tabuľka 4). Táto technológia umožňuje identifikáciu grampozitívnych, gramnegatívnych, aeróbných aj

anaeróbných baktérií spolu s mykobaktériami a inými mikroorganizmami. Celý analytický proces je úplne automatizovaný. [50; 52]

Tabuľka 4- Rozsah a interpretácia identifikačného skóre MALDI [53]

Rozsah skóre	Interpretácia	Zafarbenie
2,00 - 3,00	Vysoká pravdepodobnosť identifikácie	zelené
1,70 - 1,99	Nízka pravdepodobnosť identifikácie	žlté
0,00 - 1,69	Nespoľahlivá identifikácia	červené

Na tento experiment sa použil prístroj MALDI Biotyper® sirius (Bruker Daltonik GmbH, Nemecko). Na identifikáciu baktérií pomocou tejto technológie boli použité 24-hodinové kultúry. Na nosič sa naniesla tenká vrstva jednej kolónie z každej neznámej kultúry. Následne sa aplikovala matrica HCCA (Bruker Daltonik GmbH, Nemecko, dodávateľ BioVendor – Laboratorní medicína a.s., Česká republika) obsahujúca α -kyano-4-hydroxyškoricovú kyselinu. Doštička s aplikovanými vzorkami a matricou sa dôkladne presušila. Pripravený nosič sa vložil do prístroja a spustil sa program na detekciu a analýzu mikroorganizmov. Následne hmotnostný spektrometer stanovuje profily proteínových komponentov, ktoré porovná s databázou štandardných profilov a na základe zhody stanoví sledovaný mikroorganizmus.



Obrázok 7- Prístroj MALDI Biotyper® sirius (vľavo); MALDI nosič s aplikovanými vzorkami (vpravo) (Cornelia Čereiová, 2023)

4.5 Kvantifikácia mikrobiálnej kontaminácie

Určenie počtu vyrastených kolónií sa môže vykonať rôznymi metódami, medzi ktoré patrí aj nepriama kultivačná metóda, teda platňová metóda. [54]

Na stanovenie počtu prítomných baktérií na vzduchových filtroch sa spočítali kolónie jednotlivých vykultivovaných baktérií. Následne sa tento počet vydělil plochou daného filtru a výsledok sa vyjadril v jednotkách CFU/cm². Podľa pomeru výsledku vstupnej a výstupnej časti sa vypočítala účinnosť každého z filtrov pre daný mikroorganizmus.

Následne sa vykonala aj kvantifikácia N vyjadrená v jednotkách CFU/ml ktorých výsledky boli získané vďaka logaritmickému riedeniu kultúry. Po odbere materiálu sa výter preniesol do skúmavky s fyziologickým roztokom v objeme 10 ml. Odpipetovalo sa 100 μ l tejto suspenzie do ďalšej skúmavky s fyziologickým roztokom s objemom 0,9 ml. Týmto spôsobom sa pokračovalo až do konca logaritmickkej rady. Vyočkovalo sa 200 μ l z každej skúmavky logaritmického riedenia a ďalej pokračovala bežná kultivácia. Na záverečné vyhodnotenie sa použila platňa obsahujúca 20-200 kolónií a tento vzorec:

$$N = \frac{C}{V \cdot n \cdot d}$$

Kde N (CFU/ml) predstavuje počet zachytených baktérií, C je súčet všetkých kolónií danej baktérie na vybranej platni, V (ml) je očkovaný objem inokula, n je počet platní vybraných k výpočtu a d je riediaci faktor pre výpočet vybraného riedenia. [55]

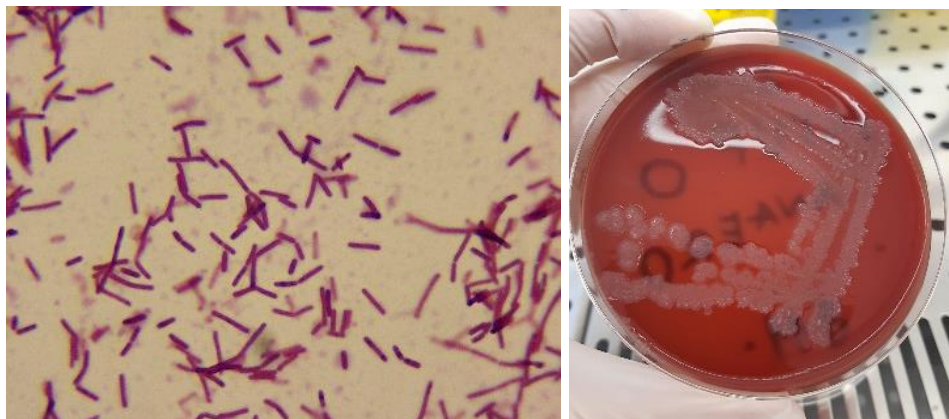
5 VÝSLEDKY

V rámci praktickej časti sa analyzovalo 5 vzduchových filtrov vybraných z autobusov mestskej hromadnej dopravy v Českej republike. Filtre boli vyňaté z klimatizačného systému vozidla pri pravidelnej servisnej kontrole. Jednalo sa o filtre typu F7 podľa normy ČSN EN 779:2012 a filter typu ISO ePM2,5 špecifikovaného normou ČSN EN ISO 16890.

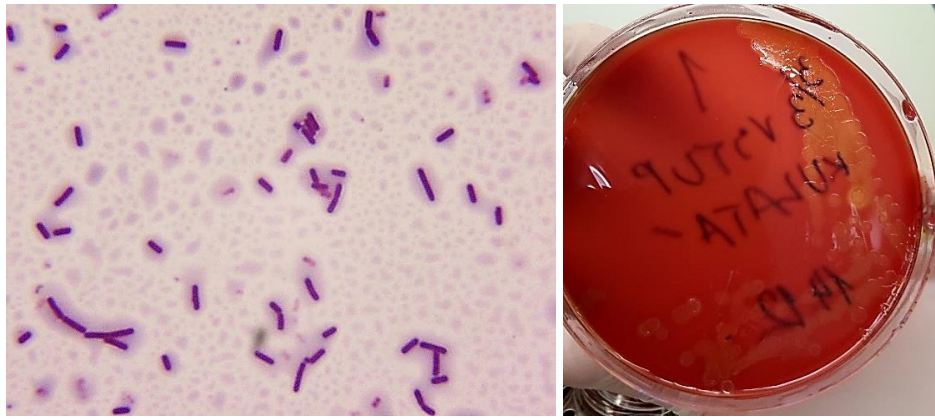
Po odbere materiálu a kultivácií sa jednotlivé mikroorganizmy identifikovali kombinovane - mikroskopicky po ofarbení podľa Grama a pomocou proteomickej štúdie MALDI-TOF MS (výsledky konkrétnych baktérií získané z MALDI- TOF MS sú spolu s hodnotou skóre prezentované v Prílohách A-E).

Keďže sú niektoré baktérie často výnimočne svojou tvorbou kolónií, prípadne špecifickou štruktúrou viditeľnou pod mikroskopom, bolo možné určiť jednotlivé mikroorganizmy aj týmto spôsobom.

Nižšie sú uvedené fotografie z mikroskopického pozorovania po ofarbení Gramovou metódou a fotografie kultivačných médií s kolóniami jednotlivých baktérií.



Obrázok 8- *Bacillus licheniformis*



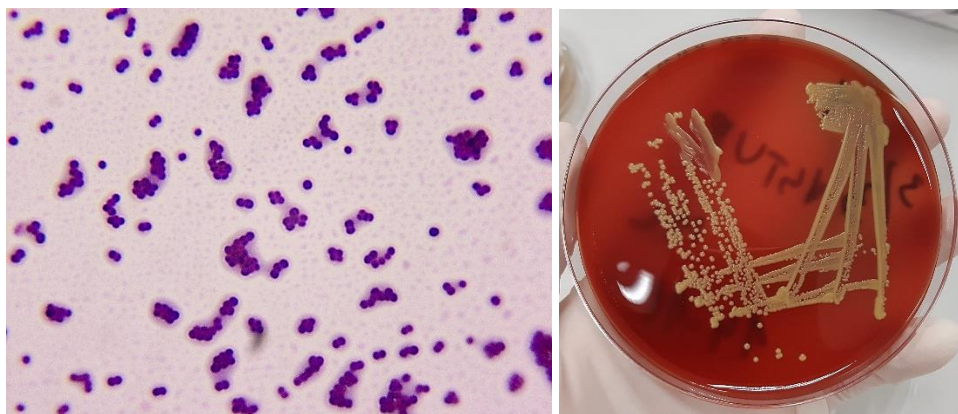
Obrázok 9- *Bacillus subtilis*



Obrázok 10- *Bacillus cereus*



Obrázok 11- *Bacillus megaterium*



Obrázok 12- *Micrococcus luteus*

5.1 Kvantifikácie baktérií

V nižšie uvedených tabuľkách 5-9 sú vypočítané kvantifikácie baktérií jednotlivých filtrov zo vstupnej a výstupnej strany a taktiež uvedený odhad účinnosti týchto filtrov podľa daného záchytu.

5.1.1 Filter č. 1

Rozmer filtru č. 1 je 47 cm x 158,5 cm, čo predstavuje filter o celkovej rozlohe 7449,5 cm².

Tabuľka 5- Výsledky kvantifikácie filtru č.1 a jeho účinnosť

Identifikovaný druh	Vstup (CFU/cm ²)	Výstup (CFU/cm ²)	Účinnosť (%)
<i>Bacillus pumilus</i>	0,00027	0	100
<i>Bacillus subtilis</i>	0,00067	0	100
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,00027	0	100
<i>Bacillus cereus</i>	0,0004	0	100
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,00013	0,00013	0

5.1.2 Filter č.2

Rozmer filtru č. 2 je 47 cm x 159 cm, čo predstavuje filter o celkovej rozlohe 7473 cm².

Tabuľka 6- Výsledky kvantifikácie filtru č.2 a jeho účinnosť

Identifikovaný druh	Vstup (CFU/cm²)	Výstup (CFU/cm²)	Účinnosť (%)
<i>Bacillus flexus</i>	0,00027	0,00013	50
<i>Bacillus subtilis</i>	0,0004	0,00013	67,5
<i>Staphylococcus warneri</i>	0	0,00013	0
<i>Bacillus megaterium</i>	0,00013	0	100
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,00013	0	100

5.1.3 Filter č.3

Rozmer filtru č. 3 je 47 cm x 158,5 cm, čo predstavuje filter o celkovej rozlohe 7449,5 cm².

Tabuľka 7- Výsledky kvantifikácie filtru č.3 a jeho účinnosť

Identifikovaný druh	Vstup (CFU/cm²)	Výstup (CFU/cm²)	Účinnosť (%)
<i>Peribacillus simplex</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Bacillus subtilis</i>	0,00067	0,00013	80,6
<i>Priestia megaterium</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Paenibacillus woosongensis</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	0,00013	0	100
<i>Bacillus cereus</i>	0,0004	0,00013	67,5
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,00027	0,00013	50
<i>Bacillus pumilus</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Priestia endophytica</i>	0,00013	0	100
<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	0,00013	0	100
<i>Bacillus flexus</i>	0	0,00013	0
<i>Paenibacillus tylopili</i>	0	0,00013	0
<i>Micrococcus luteus</i>	0	0,00013	0
<i>Neobacillus niacini</i>	0	0,00013	0
<i>Lysinibacillus halotolerans</i>	0	0,00013	0
<i>Sporosarcina newyorkensis</i>	0	0,00013	0
<i>Burkholderia glumae</i>	0	0,00013	0

5.1.4 Filter č.4

Rozmer filtru č. 4 je 47 cm x 158,5 cm, čo predstavuje filter o celkovej rozlohe 7449,5 cm².

Tabuľka 8- Výsledky kvantifikácie filtru č.4 a jeho účinnosť

Identifikovaný druh	Vstup (CFU/cm²)	Výstup (CFU/cm²)	Účinnosť (%)
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,00067	0,00054	19,4
<i>Bacillus cereus</i>	0,00054	0,0004	25,9
<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	0,00013	0	100
<i>Staphylococcus warneri</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Micrococcus luteus</i>	0,00013	0	100
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	0,00054	0,0004	25,9
<i>Gracilibacillus dipsosauri</i>	0	0,00013	0
<i>Bacillus subtilis</i>	0,002	0,0016	20
<i>Peribacillus simplex</i>	0,00013	0,00013	0
<i>Bacillus megaterium</i>	0,00067	0,00054	19,4
<i>Bacillus thuringiensis</i>	0	0,00013	0

5.1.5 Filter č.5

Rozmer filtru č. 5 je 31 cm x 77 cm, čo predstavuje filter o celkovej rozlohe 2387 cm².

Tabuľka 9- Výsledky kvantifikácie filtru č.5 a jeho účinnosť

Identifikovaný druh	Vstup (CFU/cm ²)	Výstup (CFU/cm ²)	Účinnosť (%)
<i>Bacillus subtilis</i>	0,0042	0,0013	69
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,0021	0,0013	38,1
<i>Bacillus cereus</i>	0,0013	0,00042	67,7
<i>Bacillus flexus</i>	0,00084	0,00084	0
<i>Bacillus pumilus</i>	0,00042	0,00042	0
<i>Peribacillus muralis</i>	0,00042	0	100
<i>Burkholderia ambifaria</i>	0,00042	0	100
<i>Cytobacillus ocenisediminis</i>	0	0,00042	0
<i>Cytobacillus horneckiae</i>	0	0,00042	0
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	0,00042	0,00042	0
<i>Aspergillus niger</i>	0,0013	0	100

Podľa vzorca uvedeného v kapitole 4.5 bolo možné vypočítať pre vybrané druhy baktérií aj kvantifikáciu vyjadrenú v CFU/ml. V tabuľke 13 sú prezentované vypočítané výsledky z tohto postupu. Nižšie je uvedený vzorový výpočet pre baktériu *Bacillus flexus* na vstupnej strane filtru:

$$N = \frac{4}{0,2 \cdot 1 \cdot 10^1}$$

$$N = 2 \text{ CFU/ml}$$

Tabuľka 10- Výsledky kvantifikácie vybraných baktérií vyjadrené v jednotkách CFU/ml

Identifikovaný druh	Vstup (CFU/ml)	Výstup (CFU/ml)	Účinnosť (%)
<i>Bacillus flexus</i>	2	1,5	25
<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	0	0,5	0
<i>Bacillus pumilus</i>	0,5	0	100
<i>Burkholderia glumae</i>	0	0,5	0
<i>Bacillus subtilis</i>	4	1	75
<i>Bacillus licheniformis</i>	1,5	0,5	67,7
<i>Bacillus cereus</i>	1	0	100

6 DISKUSIA

Cieľom bakalárskej práce bolo určiť bakteriálnu kontamináciu vzduchových filtrov nachádzajúcich sa v klimatizačnej sústave vybraných autobusov. Predpokladom účinných filtrov bol minimálny výskyt mikroorganizmov na výstupnej strane, zatiaľ čo na vstupnej strane by sa dané patogény vyskytli vo vyššej miere. Na základe suchých výterov, ktoré sa odobrali zo vstupnej a výstupnej plochy sa zistilo, že účinnosť týchto filtrov nebola vždy optimálna.

Po porovnaní výsledkov nájdených baktérií a účinnosti jednotlivých filtrov môžeme konštatovať, že najlepšie výsledky boli pozorované u prvého filtru. Ten totiž, už na prvý pohľad vykazoval menšie známky znečistenia a teda kratšiu dobu používania ako ostatné filtre. Naopak filtre č.3,4 a 5 boli mimoriadne zaprášené a plné ďalších nečistôt ako hmyz, prípadne jeho odumreté časti. Táto skutočnosť vypovedá o relatívne dlhej dobe zotrvania filtrov v dopravnom prostriedku čo sa odzrkadlilo aj na nepriaznivých výsledkoch kultivácie.

Avšak kontaminácia mohla byť spôsobená aj pôsobením iných faktorov, ktoré sa vyskytli pri realizácii tohto experimentu. Jednou z možností bol priamy kontakt od pracovníkov odstraňujúcich staré, použité filtre. Výskyt mikroorganizmov, ktoré sú bežnou súčasťou ľudskej mikrobioty na filtroch, mohol pochádzať práve od týchto ľudí, ktorí nedodržiavali zásady bezpečnej manipulácie s filtrami. Kontaminácia tohto typu teda mohla byť spôsobená nepoužívaním ochranných rukavíc, prípadne respirátorov alebo inej ochrany dýchacích ciest.

Kontamináciu z našej strany sme sa vždy snažili čo najviac minimalizovať. Počas manipulácie s filtrami, pri vykonávaní výterov, pri manipulácii s pôdami, prípadne pri rozočkovaní pôd sme pracovali s ochrannými pomôckami a teda s nasadeným rúškom, plášťom a ochrannými rukavicami. Zároveň sa vždy

pracovalo v laminárnom boxe, ktorý zabezpečoval aseptické podmienky experimentu. Po každej skončenej práci v laminárnom boxe sa pracovná plocha dôkladne vydezinfikovala aby sa predišlo akejkolvek budúcej nežiadúcej kontaminácií.

Najčastejší rod osídľujúci kožnú mikroflóru sú koaguláza negatívne stafylokoky. Bolo dokázané, že tento rod spôsobuje infekcie močových ciest ale aj iné infekcie, ako je sepsa. Imunokompromitujúci stav organizmu je predispozičným faktorom vzniku takýchto infekcií. Do spomínaného rodu sa zaraďujú *Staphylococcus epidermidis* či *Staphylococcus warneri*, ktoré boli identifikované na troch z piatich pozorovaných filtroch. Navyše, boli ohlásené prípady kedy *Staphylococcus warneri* bol pôvodcom aj bakteriémie, endokarditídy, či septickej artritídy. [39]

Ďalším faktorom, ktorý mohol ovplyvniť detegovanú kontamináciu bol čas, ktorý trval od vyňatia až po zabalenie analyzovaných objektov. Nie je presne jasné či vybrané filtre nepobudli istú dobu na vzduchu, prípadne v znečistenom prostredí čo sa mohlo zobrazíť na finálnych výstupoch práce.

Nemožno však opomenúť fakt, že majorita analyzovaných baktérií mala environmentálny pôvod a teda pochádzali zo vzduchu, pôdy či prachu. Táto skupina baktérií bola najočakávanejšou práve z dôvodu pohybu autobusov vo vonkajšom prostredí. Najvýznamnejším rodom, ktorý sa nám podarilo nájsť a identifikovať bol rod *Bacillus*. Veľmi často opakujúcim sa bacilom bol *B. licheniformis*, ktorého prítomnosť bola pozorovaná na každom z uvedených filtrov.

B. licheniformis je považovaný za patogénny mikroorganizmus ktorý môže spôsobovať radu ochorení ako sepsa, infekcie oka alebo aj otravy jedlom. Najčastejšie pôsobí na imunokompromitované osoby, ale vyskytli sa aj prípady,

kedy nakazený pacient nevykazoval ani neuvádzal žiadne faktory, ktoré by mohli oslabiť jeho imunitný systém. [56]

Ďalším frekventovaným detegovaným mikroorganizmom bol *B. cereus*. Vyskytuje sa bežne v súvislostiach s otravami jedlom, ale môže spôsobovať aj extraintestinálne infekcie, napríklad oka, pri zranení alebo dýchacieho systému. V prípade imunopresívnych pacientov môže spôsobiť aj systémové infekcie ako bakteriémie, endokarditídy alebo meningoencefalitídy. [57]

Spomínané infekcie sú často asociované s nemocničným prostredím, kde je tento prenos veľmi častý. U cestujúcich, ktorí sa prevážajú v mestskej hromadnej doprave sa nepredpokladá výskyt pacientov, ktorí majú oslabenú imunitu z dôvodu pobytu v zdravotníckom zariadení. Avšak oslabená imunita je často pozorovaná aj u seniorov, prípadne malých detí, ktorí sa už považujú za častých cestujúcich v tomto dopravnom prostriedku.

Oportúnnym patogénom zo spomínaného rodu je aj *B. thuringiensis*. Tento druh sa vyskytol na filtri č. 4. *B. thuringiensis* môže byť zodpovedný za rôzne typy infekcií od periodontitídy, hnačiek spôsobenými otravou z jedla alebo môže kolonizovať aj rany a popáleniny. Produkciou toxínov, *B. thuringiensis*, značne predlžuje svoje zotrvanie v organizme a zvyšuje tak náchylnosť k vzniku bakteriémie. [58]

Počas kultivácie sa brala do úvahy aj možnosť výskytu anaeróbných baktérií. Po vykonaných niekoľkých kultiváciách v anaerostate sa ale táto teória nepotvrdila. Všetky nájdené baktérie prezentované v tabuľkách 5-9 sa definujú ako aeróbnne, prípadne fakultatívne anaeróbnne, no žiadna nepatrí medzi striktne anaeróbnne.

Identifikačné postupy a metódy ktoré sa vykonali v praktickej časti tejto práce, teda kombinácia mikroskopického pozorovania po farbení podľa Grama, identifikácie na základe vzhľadu a farby vytvorených kolónií na kultivačných médiách a detekcie proteomickou štúdiou MALDI-TOF, je považovaná za adekvátnu indikáciu bacilových druhov prítomných vo vzorkách. [59]

MALDI-TOF MS predstavuje metódu, ktorá je schopná presnej klasifikácie skupiny *Bacillus cereus* od ostatných skupín, najmä odlišenie *B. subtilis* a *B. cereus* od *B. amyloliquefaciens* a *B. thuringiensis*. [59]

Hoci majú oba, *B. subtilis* a *B. cereus*, β - hemolytické kolónie, je možné ich odlíšiť vďaka rozdielnemu sfarbeniu kolónií. *B. cereus* tvorí krémové biele až sivé kolónie, zatiaľ čo *B. subtilis* tvorí kolónie so vzhľadom pripomínajúcim matné sklo. [59]

Okrem spomínaných baktérií sa nám podarilo identifikovať na filtri č.5 aj mikroorganizmus, ktorý sa zaraďuje do rodu vláknitých húb – *Aspergillus niger*. Ajay K. gautam, Sushil Sharma, Shubhi Avasthi a Rekha Bhadauria uvádzajú, že *Aspergillus niger* predstavuje vážne riziko pre človeka nielen kontamináciou potravín, ktoré následne osoba skonzumuje, ale považuje sa aj za významný alergén spôsobujúci pľúcne infekcie u ľudí s oslabeným imunitným systémom. Okrem pľúcnych mykóz môže tiež spôsobovať infekcie ucha, alebo kolonizovať prínosové dutiny či rany. Rezervoárom aspergilov okrem jedla môžu byť aj ventilačné systémy, nefiltrovaný vzduch, či kontaminovaný prach pri rekonštrukčných prácach. [60; 61]

7 ZÁVER

Mikroorganizmy vyskytujúce sa v environmentálnom prostredí môžu predstavovať riziko pre vznik rôznych infekcií u ľudí s imunitným deficitom. Tieto potenciálne patogény sa môžu vyskytnúť na autobusových filtroch prenosom zo vzduchu, pôdy či prachu.

Hlavným cieľom, ktorý sa stanovil v bakalárskej práci bola analýza mikroorganizmov nachádzajúcich sa na povrchoch filtrov z autobusov pre verejnú hromadnú dopravu.

Podľa výsledkov popísaných v praktickej časti práce je možné konštatovať najväčší výskyt rodu *Bacillus*, so zástupcami *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus flexus*, *Bacillus cereus* či *Bacillus pumilus*. Okrem spomenutých bacilov sa často vyskytovali aj dvaja zástupcovia rodu stafylokokov – *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus warneri*, ktorí sú častými kolonizátormi prirodzenej mikrobioty človeka. Ostatné mikroorganizmy sa síce nachádzali zriedkavejšie, no ich potenciálny patogénny význam nemožno podceňovať.

Výsledky tejto práce môžu prispieť k zmene frekvencie výmeny filtrov v autobusoch, ktoré slúžia na prepravu širokej verejnosti. Je dôležité podotknúť, že nám dodané filtre mali rôznu úroveň znečistenia a preto bola aj kontaminácia jednotlivých filtrov rozdielna. Ak by dochádzalo k častejšej výmene filtrov, ich znečistenie by bolo menšie a teda filtrácia by bola omnoho viac efektívnejšia a kontaminácia by bola zredukovaná.

8 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

B.	Bacillus
CFU	Colony forming units/ Jednotky tvoriace kolónie
FDA	Food and Drug Administration/ Úrad pre kontrolu potravín a liečiv
GRAS	Generally Regarded As Safe/ Všeobecne považovaný za bezpečný
HVAC	Heating, Ventilation and Air Conditioning / Vyhrievanie, ventilácia a klimatizácia
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry/ Hmotnostná spektrometria s laserovou desorpciou a ionizáciou za prítomnosti matrice s analýzou doby letu
MPPS	Most Penetrating Particle Size / Veľkosť najviac prenikajúcej častice

9 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] Mikroorganizmy v ovzduší - Aero(mikro)biológia. In: ŠIMONOVÍČOVÁ, Alexandra, Elena PIECKOVÁ, Peter FERIANC, Peter HANAJÍK a Rozália HORVÁTH. *Environmentálna mikrobiológia*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2013, s. 217-227. ISBN 978-80-223-3382-5.
- [2] Mikroorganizmy v ovzduší. In: KLABAN, Vladimír. *Obecná a environmentálna mikrobiologie: fascinujúci, neuvěřiteľný a tajemný svet mikrobů v prírodním prostredí*. Hradec Králové: Gaudeamus, 2018, s. 389-390. ISBN 978-80-7435-673-5.
- [3] HÝSEK, Josef. Aerobiologie, věda o životě ve vzduchu. *Vesmír*. Praha: Vesmír, 1994, 73(10), 566. ISSN 0042-4544.
- [4] Grampozitivne koky. In: SMOLINSKÁ, Miroslava. *Ekológia a taxonómia mikroorganizmov* [online]. Bratislava, 2017, s. 24-26 [cit. 2023-01-26]. Dostupné z: https://fns.uniba.sk/uploads/media/Ekologia_a_taxonomia_mikroorganizmov_1.pdf
- [5] Grampozitivní aerobní koky. In: KOLÁŘOVÁ, Libuše. *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén, 2020, s. 107-117. ISBN 978-80-7492-477-4.
- [6] HUBENÁKOVÁ, Z. Bacillus. In: LIPTÁKOVÁ, Adriána. *Lekárska mikrobiológia*. Bratislava: Herba, 2019, s. 307-310. ISBN 978-80-89631-91-9.
- [7] BARTOŠOVÁ, Lenka a Alena HANULÍKOVÁ. Mikrobiální původci alimentárních onemocnění: Bacillus cereus. In: *Státní zemědělská a potravinářská*

inspekce [online]. Brno, 2014 [cit. 2023-01-24]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/obecne-rady-a-tipy-onemocneni-z-potravin-alergie-a-intolerance-mikrobiani-puvodci-alimentarnich-onemocneni.aspx?q=Y2hudW09Ng%3D%3D>

- [8] Ďalšie druhy rodu *Bacillus*. In: LIPTÁKOVÁ, Adriána. *Lekárska mikrobiológia*. Bratislava: Herba, 2019, s. 310. ISBN 978-80-89631-91-9.
- [9] GU, Yang, Xianhao XU, Yaokang WU, Tengfei NIU, Yanfeng LIU, Jianghua LI, Guocheng DU a Long LIU. Advances and prospects of *Bacillus subtilis* cellular factories: From rational design to industrial applications. *Metabolic Engineering* [online]. 2018, **50**, 109-121 [cit. 2023-05-11]. ISSN 10967176. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymben.2018.05.006
- [10] GALANO, Melina, Myrthe VAN DEN DUNGEN, Tjeerd VAN RIJ a Hanna ABBAS. Safety evaluation of food enzymes produced by a safe strain lineage of *Bacillus subtilis*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. 2021, **126**, 1-8 [cit. 2023-05-11]. ISSN 02732300. Dostupné z: doi:10.1016/j.yrtph.2021.105030
- [11] Mikroorganismy v půdním prostředí. In: KLABAN, Vladimír. *Obecná a environmentální mikrobiologie: fascinující, neuvěřitelný a tajemný svět mikrobů v přírodním prostředí*. Hradec Králové: Gaudeamus, 2018, s. 391- 401. ISBN 978-80-7435-673-5.
- [12] Živá složka půdy. In: PAVLŮ, Lenka. *Základy pedologie a ochrany půdy*. První. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2018, s. 43-50. ISBN 978-80-213-2876-1.

- [13] Vlastnosti a přehled edafonu. In: ŠIMEK, Miloslav, Dana ELHOTTOVÁ a Václav PIŽL. *Živá půda: rozmanitost života a zdraví ekosystémů*. 1. Praha: Středisko společných činností AV ČR, 2015, s. 17-39. ISBN 978-80-200-2567-8.
- [14] Mikroorganismy v půdním prostředí. In: KLABAN, Vladimír. *Obecná a environmentální mikrobiologie: fascinující, neuvěřitelný a tajemný svět mikrobů v přírodním prostředí*. 1. Hradec Králové: Gaudeamus, 2018, s. 393-395. ISBN 978-80-7435-673-5.
- [15] TAMAGNINI, Isabella, Simone GUGLIELMETTI, Diego MORA, Carlo PARINI, Enrica CANZI a Matti KARP. Generation and Comparison of Bioluminescent and Fluorescent *Bacillus licheniformis*. *Current Microbiology* [online]. 2008, 57(3), 245-250 [cit. 2023-02-14]. ISSN 0343-8651. Dostupné z: doi:10.1007/s00284-008-9184-y
- [16] MURAS, Andrea, Manuel ROMERO, Celia MAYER a Ana OTERO. Biotechnological applications of *Bacillus licheniformis*. *Critical Reviews in Biotechnology* [online]. 2021, 41(4), 609-627 [cit. 2023-02-14]. ISSN 0738-8551. Dostupné z: doi:10.1080/07388551.2021.1873239
- [17] WHITAKER, Justine, Daniel CRISTOL a Mark FORSYTH. Prevalence and genetic diversity of *Bacillus licheniformis* in avian plumage. *Journal of Field Ornithology* [online]. 2005, 76(3), 264-270 [cit. 2023-02-14]. ISSN 0273-8570. Dostupné z: doi:10.1648/0273-8570-76.3.264
- [18] SALKINOJA-SALONEN, M., R. VUORIO, M. ANDERSSON, P. KAMPFER, M. ANDERSSON, T. HONKANEN-BUZALSKI a A. SCOGING. Toxigenic Strains of *Bacillus licheniformis* Related to Food Poisoning. *Applied and*

Environmental Microbiology [online]. 1999, **65**(10), 4637-4645 [cit. 2023-02-14].
ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.65.10.4637-4645.1999

- [19] BERENDSEN, Erwin, Rosella KONING, Jos BOEKHORST, Anne DE JONG, Oscar KUIPERS a Marjon WELLS-BENNIK. High-Level Heat Resistance of Spores of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus licheniformis* Results from the Presence of a *spoVA* Operon in a Tn1546 Transposon. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2016, **7** [cit. 2023-02-14]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.01912
- [20] JEBELI, Mohammad, Afshin MALEKI, Mohammad AMOOZEGAR, Enayatollah KALANTAR, Hassan IZANLOO a Fardin GHARIBI. *Bacillus flexus* strain As-12, a new arsenic transformer bacterium isolated from contaminated water resources. *Chemosphere* [online]. 2017, **169**, 636-641 [cit. 2023-02-14]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2016.11.129
- [21] GIACOMUCCI, Lucia, Noura RADDADI, Michelina SOCCIO, Nadia LOTTI a Fabio FAVA. Polyvinyl chloride biodegradation by *Pseudomonas citronellolis* and *Bacillus flexus*. *New Biotechnology* [online]. 2019, **52**, 35-41 [cit. 2023-02-14]. ISSN 18716784. Dostupné z: doi:10.1016/j.nbt.2019.04.005
- [22] LINDSAY, D., R. COLLIN a R. VAN HEKEZEN. Microorganisms in Milk Powders. *Encyclopedia of Dairy Sciences* [online]. Elsevier, 2022, 329-337 [cit. 2023-02-14]. ISBN 9780128187678. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.22974-0
- [23] SAXENA, A.K., M. KUMAR, H. CHAKDAR, N. ANUROOPA a D.J. BAGYARAJ. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and

nutrition. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2020, **128**(6), 1583-1594 [cit. 2023-02-14]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: doi:10.1111/jam.14506

- [24] Aktinomycéty. In: SMOLINSKÁ, Miroslava. *Ekológia a taxonómia mikroorganizmov* [online]. Bratislava, 2017, s. 30-31 [cit. 2023-03-23]. Dostupné z: https://fns.uniba.sk/uploads/media/Ekologia_a_taxonomia_mikroorganizmov_1.pdf
- [25] HAMAL, Petr a Naďa MALLÁTOVÁ. Mykologie. In: *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén, 2020, s. 180-181. ISBN 978-80-7492-477-4.
- [26] Mikroskopické vláknité huby a kvasinky. In: ŠIMONOVICHOVÁ, Alexandra, Sanja NOSALJ, Jela MISTRÍKOVÁ, Peter FERENC, Elena PIECKOVÁ a HANA JÍK. *Mikrobiológia životného prostredia* [online]. 1. vydanie. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2022, s. 55-57 [cit. 2023-02-11]. ISBN 978-80-223-5375-5. Dostupné z: https://uniba.sk/fileadmin/prif/envi/kpe/Mikrobiologia_zivotneho_prostredia_2022.pdf
- [27] Anaeróbne baktérie. In: LIPTÁKOVÁ, Adriana. *Lekárska mikrobiológia*. Vyd. prvé. Bratislava: HERBA, 2019, s. 406-413. Dieškova edícia. ISBN 978-80-89631-91-9.
- [28] MELYMUK, Lisa, Hale DEMIRTEPE a Simona JÍLKOVÁ. *Indoor dust and associated chemical exposures* [online]. 2020, **15**, 1-6 [cit. 2023-02-20]. ISSN 24685844. Dostupné z: doi:10.1016/j.coesh.2020.01.005
- [29] KONEČNÁ, Eva. *Výskyt mikroorganizmů na prachových částicích a jejich vliv na mikrobiom dýchacích cest člověka* [online]. Brno, 2019 [cit. 2023-02-19]. Dostupné

z: https://is.muni.cz/th/h3xrh/DP_-_Konecna.pdf. Diplomová práce.
Masarykova univerzita. Vedoucí práce Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D.

- [30] HANSON, Blake, Yanjiao ZHOU, Eddy BAUTISTA et al. *Characterization of the bacterial and fungal microbiome in indoor dust and outdoor air samples: a pilot study* [online]. 2016, **18**(6), 713-724 [cit. 2023-02-20]. ISSN 2050-7887. Dostupné z: doi:10.1039/C5EM00639B
- [31] Actinomycetaceae. In: *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén, 2020, s. 124-125. ISBN 978-80-7492-477-4.
- [32] Anaeróbne baktérie. In: LIPTÁKOVÁ, Adriana. *Lekárska mikrobiológia*. Prvé. Bratislava: Herba, 2019, s. 414-415. ISBN 978-80-89631-91-9.
- [33] Mikroskopické huby – systematika, taxonómia, ich vplyv na zdravie. In: SMOLINSKÁ, Miroslava. *Ekológia a taxonómia mikroorganizmov* [online]. Bratislava, 2017, s. 43-44 [cit. 2023-01-26]. Dostupné z: https://fns.uniba.sk/uploads/media/Ekologia_a_taxonomia_mikroorganizmov_1.pdf
- [34] HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. Fyziologická mikrobiota. In: HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. 2. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2021, s. 48-55. ISBN 978-80-7553-900-7.
- [35] GOERING, Richard, Hazel DOCKRELL, Mark ZUCKERMAN, Ivan ROITT a Peter CHIODINI, Jaroslav JULÁK, ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan

NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ.
Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0.

- [36] Fyziologická mikrobiota. In: HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. 2. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2021, s. 52-53. ISBN 978-80-7553-900-7.
- [37] Human microbiome in health and disease. In: MURRAY, Patrick, Ken ROSENTHAL a Michael PFALLER. *Medical Microbiology* [online]. 8th ed. Philadelphia: Elsevier, 2016, s. 7 [cit. 2023-05-11]. ISBN 978-0-323-29956-5. Dostupné z: <https://iums.ac.ir/files/microb/files/Murray.pdf>
- [38] Grampozitivní aerobní a fakultativně anaerobní koky. In: VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, s. 107-109. ISBN 80-902896-6-5.
- [39] KANUPARTHY, Aparna, Tejo CHALLA, Sreenath MEEGADA, Suman SIDDAMREDDY a Vijayadershan MUPPIDI. Staphylococcus warneri: Skin Commensal and a Rare Cause of Urinary Tract Infection. *Cureus* [online]. 2020, 12(5) [cit. 2023-02-28]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.8337
- [40] Fyziologická mikrobiota. In: HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. 2. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2021, s. 51. ISBN 978-80-7553-900-7.
- [41] Vrozená odolnost proti infekci: Bariéry vůči kolonizaci a penetraci mikrobů. In: VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005, s. 107. ISBN 80-86850-00-5.

- [42] Vrozená odolnost proti infekci: Bariéry vůči kolonizaci a penetraci mikrobů. In: VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005, s. 108. ISBN 80-86850-00-5.
- [43] *Krystall overseas* [online]. New Delhi, 2020 [cit. 2023-03-26]. Dostupné z: https://krystalloverseas.com/wp-content/uploads/2020/03/Functioning_of_bus_AC.png
- [44] *OPERATING INSTRUCTIONS CONTROL ELEMENTS AND REGULATORS KL01 FOR AC SYSTEMS*. Renningen, 2023. Dostupné také z: <https://www.transarctic.com/media/document/document/dBnfZ7xGkS.pdf>
- [45] CORZO, Santiago, Dario GODINO a Damian RAMAJO. Air circulation study inside and outside of urban bus induced by the opening of windows. *Research Square* [online]. 2022, 2-3 [cit. 2023-04-03]. Dostupné z: [doi:10.21203/rs.3.rs-1569347/v1](https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1569347/v1)
- [46] ČSN EN ISO 16890-1. *Vzduchové filtry pro všeobecné větrání: Část 1: Technické specifikace, požadavky a klasifikační metody založené na účinnosti odlučování částic (ePM)*. Praha: Česká agentura pro standardizaci, 2018.
- [47] Nová norma ČSN EN ISO 16890-1, 16890-2. In: *IB Filtr: Air filtration* [online]. Ořechov u Brna [cit. 2023-04-05]. Dostupné z: <https://ibfiltr.cz/Clanky/Nova-norma-CSN-EN-ISO-16890-1-16890-2>
- [48] Mezinárodní klasifikace vzduchových filtrů. In: *FILCO, spol. s r.o: Filtry, sušiče vzduchu a plynů* [online]. Hradec Králové [cit. 2023-04-05]. Dostupné z:

<https://www.filco.cz/uvod/knihovna/mezinarodni-klasifikace-vzduchovych-filtru/>

- [49] Barvicí metody. In: ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana a Josef TRÖGL. *Standardní postupy environmentální mikrobiologie: návody úloh a laboratorní cvičení* [online]. 1. Ústí nad Labem: Univerzita J.E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, 2014, s. 46-48 [cit. 2023-03-19]. ISBN 978-80-7414-817-0. Dostupné z: http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/skripta/33e_final_tisk.pdf
- [50] SLOBODNÍKOVÁ, Livia a H. DRAHOVSKÁ. Spektrometrické metody v mikrobiologickej diagnostike. In: LIPTÁKOVÁ, Adriana. *Lekárska mikrobiológia*. Vyd. prvé. Bratislava: HERBA, 2019, s. 95-96. Dieškova edícia. ISBN 978-80-89631-91-9.
- [51] SINGHAL, Neelja, Manish KUMAR, Pawan KANAUIA a Jugsharan VIRDI. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2015, 6(791), 2-4 [cit. 2023-04-06]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2015.00791
- [52] RYCHERT, Jenna. Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Identification of Microorganisms. *Journal of Infectiology* [online]. 2019, 2(4), 1-5 [cit. 2023-03-29]. ISSN 26899981. Dostupné z: doi:10.29245/2689-9981/2019/4.1142
- [53] *MALDI Biotyper Clinical, IVD-CE (brochure)*. Bremen, Nemecko, 2023. Dostupné také z: <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/microbiology-and-diagnostics/microbial-identification-for-clinical-laboratories-ivd-ce/maldi-biotyper-sirius->

ivd/_jcr_content/root/sections/more_information/sectionpar/linklist_copy_cop
y/contentpar-1/calltoaction.download-asset.pdf/links/item0/1814268-brochure-
mbt-clinical-sirius-ivd-bmid-02-2023.pdf

- [54] KOPECKÁ, Jana a Gabriela ROTKOVÁ. Nepřímé stanovení počtu životaschopných bakterií plotnovou metodou. In: *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií* [online]. Brno: Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, 2017 [cit. 2023-05-05]. Dostupné z: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js17/cviceni_mikrobiologie/web/pages/plotnova_metoda.html
- [55] TYLŠOVÁ, Petra, Karolína HLÁSKOVÁ a Šárka BURSOVÁ. *Vyhodnocení výsledků plotnových metod* [online]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2017 [cit. 2023-05-04]. Dostupné z: https://www.vfu.cz/files/2340_54_01_vyhodnoceni-vysledku-plotnovych-metod_text.pdf
- [56] HAYDUSHKA, IrinaA, Nadya MARKOVA, Vesselina KIRINA a Maria ATANASSOVA. Recurrent sepsis due to *Bacillus licheniformis*. *Journal of Global Infectious Diseases* [online]. 2012, 4(1), 82-83 [cit. 2023-05-05]. ISSN 0974-777X. Dostupné z: doi:10.4103/0974-777X.93768
- [57] WORAPONGSATITAYA, Pichaya a Jakrapun PUPAIBOOL. *Bacillus cereus* meningoencephalitis in an immunocompetent patient. *IDCases* [online]. 2022, 29 [cit. 2023-05-05]. ISSN 22142509. Dostupné z: doi:10.1016/j.idcr.2022.e01577
- [58] GHELARDI, Emilia, Francesco CELANDRONI, Sara SALVETTI, Ersilia FISCARELLI a Sonia SENESI. *Bacillus thuringiensis* pulmonary infection: critical role for bacterial membrane-damaging toxins and host neutrophils.

Microbes and Infection [online]. 2007, 9(5), 591-598 [cit. 2023-05-05]. ISSN 12864579. Dostupné z: doi:10.1016/j.micinf.2007.02.001

- [59] Standards for microbiology investigations (UK SMI): Identification of *Bacillus* species. In: GOV [online]. London: UK Health Security Agency, 2021 [cit. 2023-05-05]. Dostupné z: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/697260/ID_9i3.1.pdf
- [60] GAUTAM, Ajay, Sushil SHARMA, Shubhi AVASTHI a Rekha BHADAURIA. Diversity, Pathogenicity and Toxicology of *A. niger*: An Important Spoilage Fungi. *Research Journal of Microbiology* [online]. Dubai, 2011, 6(3), 270-280 [cit. 2023-05-06]. ISSN 1816-4935. Dostupné z: <https://scialert.net/fulltext/?doi=jm.2011.270.280>
- [61] DRGOŇA, Luboš, Veronika BALLOVÁ, Miriam LADICKÁ, Ján LAKOTA, Andrej VRANOVSKÝ a Jan TRUPL. PLÚCNE MYKÓZY. *Via practica: Moderný časopis pre lekárov prvého kontaktu* [online]. Bratislava: SOLEN, 2005, 2(7-8), 301-303 [cit. 2023-05-06]. ISSN 1339-424X. Dostupné z: <https://www.solen.sk/storage/file/article/94be563e19453cac9dbed3a9ee04e871.pdf>

10 ZOZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKOV

Obrázok 1- Topografická distribúcia baktérií, ktoré sú súčasťou kožnej mikrobioty [37]	23
Obrázok 2- Ilustračná schéma umiestnenia klimatizácie v autobuse [43].....	26
Obrázok 3- Stavba autobusovej klimatizácie [44]	27
Obrázok 4- Vlastná dokumentácia z exkurzie (vľavo: interiérový pohľad- vchod do strešnej jednotky; vpravo: exteriérový pohľad na otvorenú strešnú jednotku) (Cornelia Čereiová, 2023).....	28
Obrázok 5- Prístroj anaerostat Oxoid s vloženými pôdami (vľavo) a balenie obsahujúce vrecúška s reagens tvoriacim anaeróbne prostredie (vpravo) (Cornelia Čereiová, 2023).....	32
Obrázok 6- Schematické zobrazenie pracovného postupu MALDI-TOF MS [51]	34
Obrázok 7- Prístroj MALDI Biotyper® sirius (vľavo); MALDI nosič s aplikovanými vzorkami (vpravo) (Cornelia Čereiová, 2023).....	35
Obrázok 8- Bacillus licheniformis.....	37
Obrázok 9- Bacillus subtilis	38
Obrázok 10- Bacillus cereus	38
Obrázok 11- Bacillus megaterium	38
Obrázok 12- Micrococcus luteus	39

11 ZOZNAM POUŽITÝCH TABULIEK

Tabuľka 1 - Medzinárodná klasifikácia vzduchových filtrov podľa ČSN EN ISO 16890 [46; 47].....	29
Tabuľka 2 – Klasifikácia vzduchových filtrov podľa ČSN EN 1822:2010 [48].....	30
Tabuľka 3 - Pôvodná medzinárodná klasifikácia vzduchových filtrov podľa ČSN EN 779:2012 [48]	30
Tabuľka 4- Rozsah a interpretácia identifikačného skóre MALDI [53].....	35
Tabuľka 5- Výsledky kvantifikácie filtru č.1 a jeho účinnosť	39
Tabuľka 6- Výsledky kvantifikácie filtru č.2 a jeho účinnosť.....	40
Tabuľka 7- Výsledky kvantifikácie filtru č.3 a jeho účinnosť	41
Tabuľka 8- Výsledky kvantifikácie filtru č.4 a jeho účinnosť.....	42
Tabuľka 9- Výsledky kvantifikácie filtru č.5 a jeho účinnosť.....	43
Tabuľka 10- Výsledky kvantifikácie vybraných baktérií vyjadrené v jednotkách CFU/ml	44

12 ZOZNAM PRÍLOH

Príloha A – Výsledky filtru č.1 z MALDI-TOF MS.....	65
Príloha B – Výsledky filtru č.2 z MALDI-TOF MS.....	66
Príloha C – Výsledky filtru č.3 z MALDI-TOF MS.....	67
Príloha D – Výsledky filtru č.4 z MALDI-TOF MS.....	68
Príloha E – Výsledky filtru č.5 z MALDI-TOF MS.....	69

PRÍLOHA A – VÝSLEDKY FILTRU Č.1 Z MALDI-TOF MS

FILTER č. 1	číslo vzorky	Detekovaný organizmus	Skóre
Vstup	1	Staphylococcus epidermidis	1,86
	2	Bacillus pumilus	2,11
	3	Bacillus subtilis	2,24
Výstup	4	Staphylococcus epidermidis	1,93

PRÍLOHA B – VÝSLEDKY FILTRU Č.2 Z MALDI-TOF MS

FILTER č. 2	číslo vzorky	Detekovaný organizmus	Skóre
Vstup	1	Bacillus subtilis	2,16
	2	Bacillus subtilis	2,2
Výstup	3	Bacillus flexus	2,11
	4	Bacillus subtilis	2,24
	5	Staphylococcus warneri	2,18

PRÍLOHA C – VÝSLEDKY FILTRU Č.3 Z MALDI-TOF MS

FILTER č. 3	číslo vzorky	Detekovaný organizmus	Skóre
Vstup	1	<i>Peribacillus simplex</i>	2,12
	2	<i>Alkalihalobacillus clausii</i>	2,17
	3	<i>Bacillus subtilis</i>	2,01
	4	<i>Priestia endophytica</i>	1,77
	5	<i>Priestia megaterium</i>	1,73
	6	<i>Paenibacillus woosongensis</i>	2,12
	7	<i>Peribacillus simplex</i>	1,77
	8	<i>Bacillus pumilus</i>	1,92
	9	<i>Brevibacillus borstelensis</i>	2,49
	10	<i>Bacillus subtilis</i>	2,09
	11	<i>Bacillus subtilis</i>	2,25
	12	<i>Bacillus licheniformis</i>	1,95
Výstup	13	<i>Bacillus subtilis</i>	2,12
	14	<i>Burkholderia glumae</i>	1,49
	15	<i>Peribacillus simplex</i>	1,87
	16	<i>Bacillus subtilis</i>	2,25
	17	<i>Bacillus cereus</i>	1,84
	18	<i>Bacillus licheniformis</i>	1,91
	19	<i>Paenibacillus tylopili</i>	2,25
	20	<i>Priestia megaterium</i>	1,81
	21	<i>Micrococcus luteus</i>	2,22
	22	<i>Neobacillus niacini</i>	1,82
	23	<i>Lysinibacillus halotolerans</i>	2,01
	24	<i>Sporosarcina newyorkensis</i>	2,31

PRÍLOHA D – VÝSLEDKY FILTRU Č.4 Z MALDI-TOF MS

FILTER č. 4	číslo vzorky	Detekovaný organizmus	Skóre
Vstup	1	Bacillus licheniformis	1,82
	2	Bacillus licheniformis	1,73
	3	Paenibacillus glucanolyticus	1,9
	4	Staphylococcus warneri	2,27
	5	Staphylococcus epidermidis	2,02
	6	Bacillus licheniformis	1,81
	7	Staphylococcus warneri	1,83
Výstup	8	Brevibacillus borstelensis	2,46
	9	Staphylococcus warneri	1,77
	10	Gracilibacillus dipsosauri	1,32
	11	Bacillus subtilis	2,09
	12	Bacillus licheniformis	1,87
	13	Peribacillus simplex	1,89
	14	Peribacillus simplex	1,71
	15	Bacillus megaterium	2,15

PRÍLOHA E – VÝSLEDKY FILTRU Č.5 Z MALDI-TOF MS

FILTER č. 5	číslo vzorky	Detekovaný organizmus	Skóre
Vstup	1	Peribacillus muralis	1,74
	2	Bacillus pumilus	2,22
	3	Bacillus subtilis	2,11
	4	Burkholderia ambifaria	1,45
Výstup	5	Cytobacillus oenosediminis	1,7
	6	Cytobacillus horneckiae	2,36
	7	Bacillus pumilus	1,7
	8	Brevibacillus borstelensis	2,46