

Ispitivanje propusnosti različitih tipova zaštitnih maski za vijabilne čestice plijesni u zraku

Pudić, Filip

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:779883>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Filip Pudić

**Ispitivanje propusnosti različitih tipova zaštitnih
maski za vijabilne čestice plijesni u zraku**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Mikrobiologija s parazitologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za mikrobiologiju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Daniele Jakšić.

Zahvalio bih se svima na Zavodu za mikrobiologiju te bih posebnu zahvalu uputio svojoj mentorici doc. dr. sc. Danieli Jakšić koja me svojim znanjem i vještinama vodila kroz izradu ovog rada. Hvala na strpljenju i razumijevanju.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Pregled pandemije COVID-19.....	1
1.2. Plijesni u zraku.....	1
1.3. Utjecaj plijesni na ljudsko zdravlje.....	2
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	3
3. MATERIJALI I METODE.....	4
3.1. Materijali.....	4
3.1.1. Mikološka analiza.....	4
3.2. Metode.....	5
3.2.1. Uzorkovanje.....	5
3.2.2. Statistička obrada rezultata.....	5
4. REZULTATI.....	6
4.1 Analiza uzoraka zraka.....	6
4.1.1. Kvantitativni sastav vijabilnih plijesni u uzorcima zraka.....	6
4.1.2. Kvalitativni sastav vijabilnih plijesni u uzorcima zraka.....	9
5. RASPRAVA.....	11
6. ZAKLJUČCI.....	13
7. LITERATURA.....	14
8. SAŽETAK.....	16
9. SUMMARY.....	17
10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	

1. UVOD

1.1. Motivacija za istraživanje

U prosincu 2019. godine, u kineskom gradu Wuhanu, po prvi puta su zabilježeni slučajevi infekcije SARS-CoV-2 virusom koji uzrokuje bolest COVID-19 (www.who.int). U roku od nekoliko mjeseci virus se proširio po cijelom svijetu, a u Hrvatskoj prvi zabilježeni slučaj bio je u veljači 2020. godine (www.hzjz.hr). Brzo širenje virusa i samo nepoznavanje istog, dovelo je do panike među ljudima i u svrhu zaštite populacije, uvedene su restriktivne mjere koje su između ostalog uključivale i obavezno nošenje zaštitnih maski za lice (NN 111/2020). Dokazano je da pamučne, kirurške i FFP2 maske štite pojedinca od udisanja infektivnog aerosola, no njihova uloga i važnost se pokazala još većom kod osoba koje su zaražene kako bi se spriječio prijenos na druge osobe. Unatoč svemu, niti jedna od ovih maski ne pruža maksimalnu zaštitu (Ueki i sur. 2020). Pojava pandemije potaknula je mnoga pitanja pa i između ostalog kako nošenje maski utječe na inhalaciju i drugih čestica i organizama prisutnih u zraku. U ovome radu bavit ćemo se plijesnima koje spadaju među najučestalije mikrobe u zraku.

1.2. Plijesni u zraku

Plijesni su prisutne posvuda u zraku te kao ubikvitarni mikroorganizmi neizbježne u zatvorenim prostorima. Na otvorenom, plijesni u zraku ne bi trebale predstavljati problem, no učestalom izloženošću visokim koncentracijama plijesni u zatvorenom prostoru može doći do kolonizacije gornjih dišnih puteva i lučenja mikotoksina (Jakšić, 2016). Za preživljavanje trebaju samo organski materijal, kao što su celuloza ili prašina, i vlagu. Područja visoke vlažnosti (podrumi, praonice rublja, kupaone) su naročito podložna visokim koncentracijama plijesni u zraku te takve prostore treba dobro provjetravati, a što se tiče materijala, tekstil je vrlo podložan razvoju plijesni te treba voditi računa o njegovoj čistoći (Pieckova, 2016). Također, koncentracija plijesni u zraku ovisi i o godišnjem dobu. Koncentracije su najveće u jesen i ljeto, a najmanje u zimu i u proljeće. 2002. godine, u SAD-u, provedena je ogromna studija koja se bavila ispitivanjem koncentracije različitih vrsta plijesni u zatvorenim i vanjskim prostorima što je na kraju pokazalo da su najviše zastupljene plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Penicillium* i *Aspergillus* (Shelton i sur. 2002).

1.3. Utjecaj plijesni na ljudsko zdravlje

Prema GAFFI (Global Action For Fungal Infections; gaffi.org), svake godine 2 milijuna ljudi umre od gljivičnih infekcija. Neke od ovih gljivica mogu uzrokovati endemske ili oportunističke respiratorne mikoze do kojih dolazi inhalacijom ili reaktivacijom latentnih gljivica (Barros i sur., 2022). Kao što je već rečeno, plijesni su ubikvitarni organizmi koji su stalno prisutni u unutrašnjim i vanjskim prostorima. Istraživanja su pokazala da postoji utjecaj plijesni na ljudsko zdravlje. Pretjerana izloženost plijesnima i postojanje veće količine vlage u prostoru su rizični faktori za razvoj respiratornih bolesti, simptoma i preosjetljivosti. Izloženost plijesnima i vlazi od rane dobi povezuju se s razvojem astme, a kod ljudi koji već boluju od iste može doći i do smrti. Doticaj s plijesnima u vanjskom zraku je najčešće bezopasan, no kod nekih ljudi može doći do astmatičnih napadaja ili drugih simptoma ako je osoba preosjetljiva. Osim rinitisa i astme, izloženost s plijesnima se asocira i s drugim bolestima kao što su alergijska bronhopulmonarna aspergiloza, alergijski gljivični sinusitis te pneumonitis izazvan preosjetljivošću (Baxi i sur., 2016). Možemo zaključiti da su u većini ovih slučajeva u pozadini reakcije preosjetljivosti tipa I koje su posredovane imunoglobulinom E (IgE). Zanimljivo je još istaknuti kako se incidencija pulmonarne aspergiloze povezane s COVID-19 bolesnicima u jedinicama intenzivne skrbi povećala za 10-15%. Ova koinfekcija povećava mortalitet bolesnika s težim oblikom COVID-19, a još nema pravog odgovora u borbi protiv toga. Potrebna je prevencija, novi lijekovi i novi protokoli kako bi se izbjegla rezistencija gljivica na lijekove (Barros i sur., 2016).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Početak pandemije i povećano nošenje maski u svrhu zaštite od virusa, otvorilo je prostora i drugim pitanjima kao što je utjecaj maski na sprječavanje inhalacije drugih komponenti zraka, u ovom slučaju plijesni. U ovome radu ispitati će se razlike u propusnosti za vijabilne čestice plijesni u zraku upotrebom automatskog uređaja za uzorkovanje zraka i različitih tipova maski za lice uključujući pamučnu masku, kiruršku masku te FFP2 i FFP3 maske. Pri tome će se usporediti razlike u broju i kvalitativnom sastavu plijesni u unutarnjem i vanjskom zraku na temelju kolonija poraslih na hranjivim podlogama MEA i DG-18.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

3.1.1. Mikološka analiza

3.1.1.1. Kemikalije, hranjive podloge, maske

- Dikloran 18% glicerolni agar (DG-18; Oxoid, UK): glukoza 10 g, pepton 5 g, monokalijev fosfat (KH_2PO_4) 1 g, magnezijev sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) 0,5 g, agar 15 g, glicerol 220 g, dikloran (0,2% w/v u etanolu, 1 ml) 2 mg i kloramfenikol 100 mg.

Praškaste supstance otopljene su u litri destilirane vode uz zagrijavanje do vrenja. Tako priređena otopina sterilizirana je autoklaviranjem (121°C, 15 min).

- Malt – ekstrakt agar (MEA; Oxoid, UK): Malt ekstrakt (Oxoid CM0059) 50 g, cinkov sulfat heptahidrat ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) 0,01 g, bakrov sulfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) 0,005 g.

Praškaste supstance otopljene su u litri destilirane vode. Tako priređena otopina sterilizirana je autoklaviranjem (121°C, 15 min).

- Kirurška maska (HRN EN 14683:2019 – medicinski proizvod registriran od strane Halmed-a. Certificirana, ugodna za nošenje zbog upotrebe vrhunskih materijala koji ne ometaju disanje a pružaju vrlo efikasnu zaštitu od bakterija i drugih patogena (BEF¹ > 99%).
- Pamučna maska
- FFP2 maska (Wenzhou Xiangying Reflective Materials Science Technology Co., Ltd)
- FFP3 maska (Guandong Tengsheng Pharmaceutical Technology Co., Ltd)

3.1.1.2. Uređaji

- Autoklav (φ 300 x 500, Sutjeska, Beograd, Srbija)
- Lupa (Stereo Zoom Microscope SZH-ILLD, Olympus, Japan)
- Termostatirana tresilica (Orbital Shaker-Incubator Grant-Bio ES20, Grant Instruments (Cambridge) Ltd., UK)
- Airsampler, Mas 100 Eco (Merck KgaA, Darmstadt, Njemačka)

¹ Od engl. Bacterial filtration efficiency- učinkovitost zadržavanja bakterija

3.2. Metode

3.2.1. Uzorkovanje

Uzorci obrađeni u ovom radu prikupljeni su na vanjskom zraku i u Zavodu za mikrobiologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta (unutarnji zrak). Uzorci zraka prikupljeni su pomoću uređaja za uzorkovanje zraka [Mas 100 eco air sampler (Merck, Darmstadt, Njemačka)]. Uređaj je dizajniran tako da na mjestu usisavanja zraka ima 400 perforacija ispod kojih se postavlja otvorena petrijevka promjera 90 mm s hranjivom podlogom. Uređaj karakterizira brzina usisavanja od 10,8 m/s, brzinu protoka zraka od 100 L/min te mogućnost podešavanja željenog volumena uzorkovanog zraka (Jakšić, 2016). Volumen uzorkovanog zraka bio je 10, 20, 50 i 100 litara. Uzorkovanje se provodilo na način da se preko otvora uređaja stavila maska (kirurška maska, pamučna maska, FFP2 i FFP3 maska) te se zrak usisavao kroz njih na petrijevke s MEA i DG-18 agarom. Također su prikupljeni i kontrolni uzorci bez korištenja maske. Petrijevke s prikupljenim uzorcima inkubirane su 5 dana na temperaturi 25 ± 2 °C nakon čega su izbrojane porasle kolonije. Koncentracija aeromikote prikazana je kao broj vijabilnih čestica (engl. Colony forming units, CFU) po jedinici volumena zraka te iskazano kao CFU/m³ za sve uzorke prema Jakšić, 2016. Porasle gljivice identificirane su na temelju svojih makroskopskih svojstava i mikromorfologije usporedbom s literaturnim podacima (Samson i sur., 2010).

3.2.2. Statistička obrada rezultata

Rezultati kvantitativne mikološke analize izraženi su kao srednje vrijednosti koncentracije (CFU/m³) plijesni. Za svaku skupinu uzoraka izračunata je aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan, minimum i maksimum. Za statističku obradu rezultata korišten je računalni program GraphPad Prism verzija 9.3.1 (GraphPad Software, San Diego, SAD).

4. REZULTATI

4.1 Analiza uzoraka zraka

4.1.1. Kvantitativni sastav vijabilnih plijesni u uzorcima zraka

Koncentracije vijabilnih čestica plijesni u zraku (CFU/m³) prikazane su u tablici 1 za vanjski zrak, a u tablici 2 za unutarnji zrak. Pri izračunu koncentracije uzet je u obzir porast kolonija na hranjivoj podlozi MEA. U vanjskom zraku su koncentracije dobivene uzorkovanjem kroz sve tipove maski (pamučna, kirurška, FFP2 i FFP3) bile statistički značajno niže u odnosu na kontrolu (Tablica 1). Pri tome su koncentracije plijesni bile su gotovo dvostruko više u slučaju primjene pamučne u odnosu na kiruršku masku, a koncentracije izmjerene primjenom FFP2 i FFP3 maske bile su do 6 puta niže u odnosu na kiruršku masku te do 10 puta niže u odnosu na pamučnu masku (Tablica 1).

Zanimljivo je primjetiti kako FFP2 maska postiže nešto bolje rezultate zadržavanja vijabilnih čestica plijesni u odnosu na FFP3 masku obzirom da su izmjerene koncentracije plijesni bile do 20 % niže.

Tablica 1. Prikaz koncentracije vijabilnih plijesni u vanjskom zraku (CFU/m³) izračunatih prema kolonijama poraslih na MEA. Vrijednosti su iskazane kao aritmetička sredina (\bar{x}) i standardna devijacija (SD), minimalna (min.) i maksimalna vrijednost (maks.) koncentracije, a odnose se na kolonije porasle na MEA hranjivim podlogama.

Tip maske	N	$\bar{x} \pm SD$	Maks.	Min.
Kontrola (bez maske)	5	1352±113.4	1530	1260
Kirurška maska	5	546±37,15*	610	520
Pamučna maska	5	984±111,9*	1110	840
FFP2	3	83,33±15,28*	100	70
FFP3	3	103,3±15,28*	120	90

* statistički značajno manje koncentracije u odnosu na kontrolu (P< 0,0001)

Koncentracije vijabilnih plijesni u unutarnjem zraku bile su 1,8 puta manje u odnosu na vanjski zrak. Dok između uzoraka zraka uzorkovanih kroz kiruršku masku nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu, razlika u koncentraciji plijesni u uzorcima zraka prikupljenima kroz pamučnu masku bila je statistički značajno veća u odnosu na kontrolu.

Kod uzoraka prikupljenih kroz FFP2 i FFP3 masku dobiveni su slični rezultati kao kod uzoraka vanjskog zraka te su koncentracije plijesni bile statistički značajno niže u odnosu na kontrolu (Tablica 2).

Tablica 2. Prikaz koncentracija vijabilnih plijesni u unutarnjem zraku (CFU/m³). Vrijednosti koncentracije su iskazane kao aritmetička sredina (\bar{x}) i standardna devijacija (SD), minimalna (min.) i maksimalna (maks.) vrijednost koncentracije, a odnose se na kolonije porasle na MEA hranjivim podlogama. Statistički značajne razlike iskazane su *.

Tip maske	N	\bar{x}	Maks.	Min.
Kontrola (bez maske)	5	756 ± 51,28	840	700
Kirurška maska	5	660 ± 137,3	820	550
Pamučna maska	5	1212 ± 150,1 ^{*a}	1330	950
FFP2****	3	50 ± 26,46 ^{*b}	70	20
FFP3****	3	86,67 ± 46,19 ^{*b}	140	60

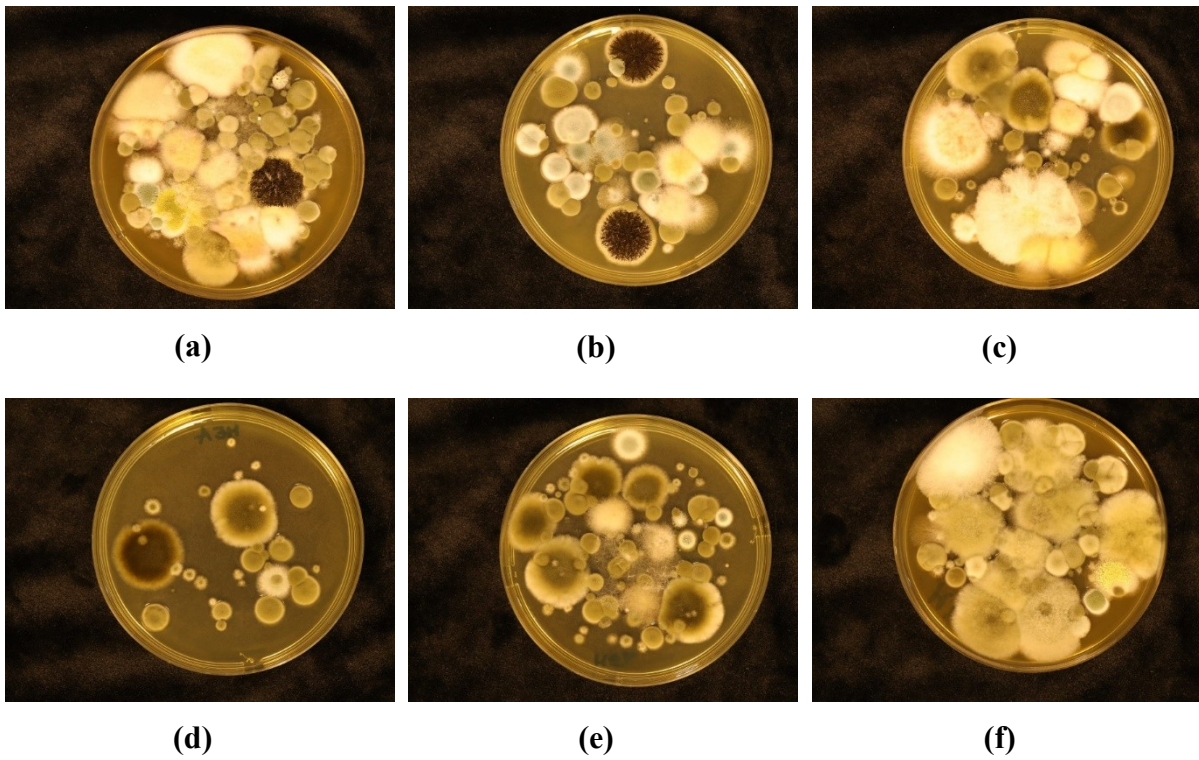
^{*a} statistički značajno veće koncentracije u odnosu na kontrolu (P < 0,0001)

^{*b} statistički značajno manje koncentracije u odnosu na kontrolu (P < 0,0001)

Prilikom uzorkovanja zraka napravljen je i eksperiment s reverzom maske (tablica 3). U ovom slučaju uspoređivali smo FFP2 masku i kiruršku masku. Rezultati su pokazali kako bi kirurška maska bila nešto bolja u sprječavanju širenja vijabilnih čestica plijesni u odnosu na FFP2 masku, no razlika nije statistički značajna (Tablica 3.). Zanimljivo je međutim primijetiti kako je zadržavanje na reversu kirurške maske bilo učinkovitije u odnosu na standardnu stranu maske obzirom da je koncentracija plijesni kod uzorkovanja reverzom kirurške maske bila oko 16 puta manja. S druge strane, reverz FFP2 maske bio je nešto slabije učinkovit u zadržavanju vijabilnih čestica plijesni obzirom da je koncentracija vijabilnih plijesni kod uzorkovanja reverzom maske bila oko 1,8 puta veća.

Tablica 3. Prikaz vrijednosti koncentracije vijabilnih plijesni u unutarnjem zraku (CFU/m³) uzorkovanog propuštanjem zraka kroz reverz maske. Vrijednosti su iskazane kao aritmetička sredina (\bar{x}) ± standardna devijacija, minimalna (min.) i maksimalna (maks.) vrijednost koncentracije, a odnose se na kolonije porasle na MEA hranjivim podlogama.

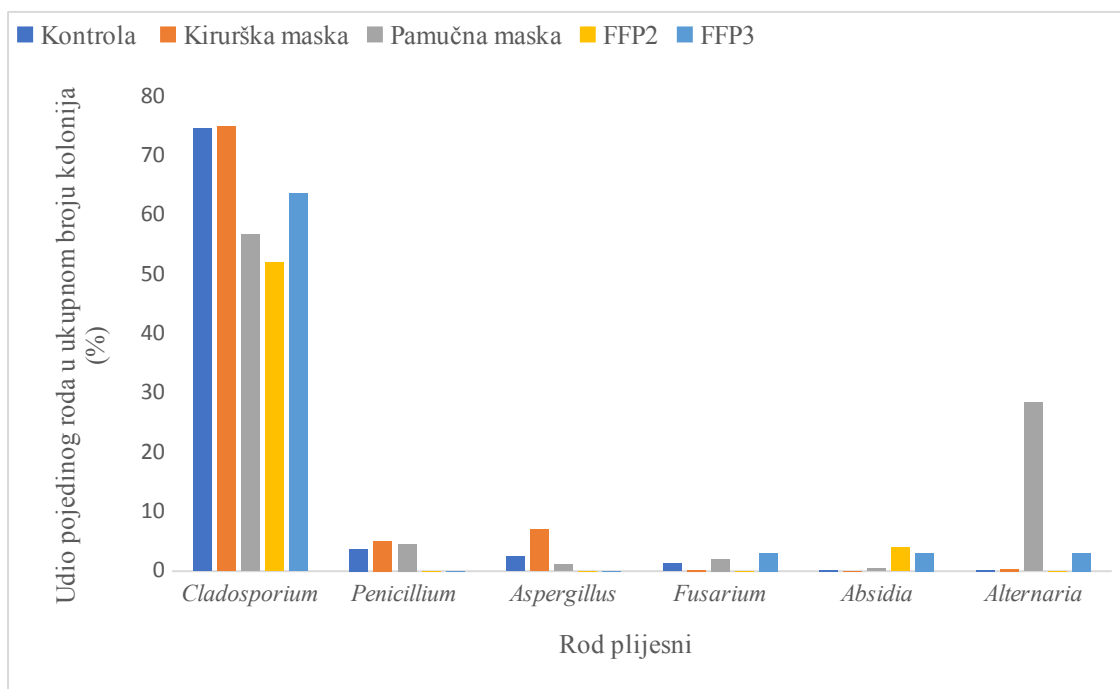
Tip maske	N	\bar{x} ± SD	Maks.	Min.
FFP2	3	90 ± 85,44	180	10
Kirurška maska	3	40 ± 34,64	80	20



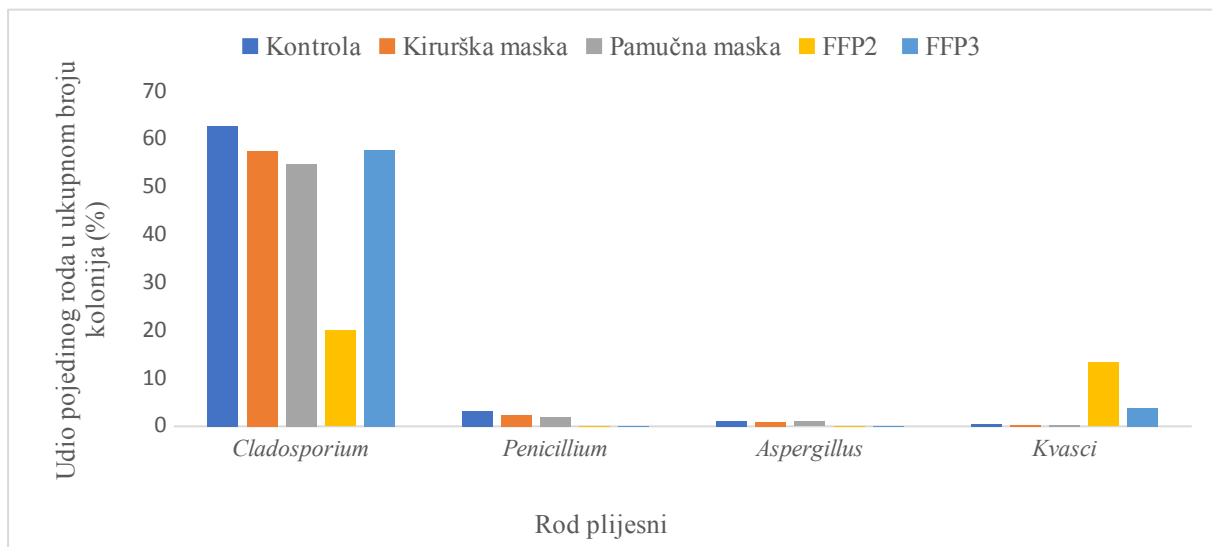
Slika 1. Porasle kolonije plijesni u uzorku vanjskog zraka i unutarnjeg zraka (100 L) nakon inkubacije na MEA agaru (25 °C u mraku 5-7 dana). (a) – kontrola bez maske- vanjski zrak; (b) Kirurška maska (vanjski zrak); (c) Pamučna maska (vanjski zrak); (d) kontrola bez maske- unutarnji zrak; (e) Kirurška maska (unutarnji zrak); (f) Pamučna maska (unutarnji zrak)

4.1.2. Kvalitativni sastav vijabilnih plijesni u uzorcima zraka

Pri identifikaciji plijesni do razine roda u obzir je uzet porast i na DG-18 i na MEA hranjivoj podlozi. U vanjskom zraku identificirane su plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Absidia* i *Alternaria* (slika 2). Primjena različitih tipova maski odrazila se na smanjenje bioraznolikosti poraslih plijesni pa su tako primjenom pamučne maske detektirani svi rodovi kao u kontrolnom uzorkovanju. Nešto manja bioraznolikost utvrđena je primjenom kirurške maske te su identificirane plijesni pripadale rodovima *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* i *Alternaria* (slika 2). Najmanja bioraznolikost uočena je nakon primjene FFP2 maske, a porasle plijesni odgovarale su rodovima *Cladosporium* i *Absidia*. Nakon uzorkovanja kroz FFP3 masku porasle plijesni bile su iz rodova *Cladosporium*, *Fusarium*, *Absidia* i *Alternaria*. (slika 2). U uzorcima unutarnjeg zraka gdje su koncentracije plijesni bile dvostruko niže u odnosu na vanjski zrak zabilježena je i manja bioraznolikost pa su u kontrolnim uzorcima identificirane plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Penicillium* i *Aspergillus* dok je zabilježen i porast kvasaca koji nisu bili prisutni u uzorcima vanjskog zraka (slika 3). Plijesni rodova *Cladosporium*, *Aspergillus* i *Penicillium* identificirani su u uzorcima propuštenima kroz pamučnu i kiruršku masku, dok su kroz FFP2 i FFP3 masku detektirane samo plijesni roda *Cladosporium* i kvasci (slika 3). Zanimljivo je da su kvasci osim u kontrolnim uzorcima detektirani još samo u uzorcima propuštenima kroz FFP2 i FFP3 maske, a nisu detektirani u uzorcima propuštenima kroz pamučnu i kiruršku masku (slika 3).



Slika 2. Kvalitativni sastav vijabilnih plijesni u uzorcima vanjskog zraka



Slika 3. Kvalitativni sastav vijabilnih plijesni u uzorcima unutarnjeg zraka.

5. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja pokazali su razlike u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu uzoraka ovisno o uzorkovanju preko pamučne, kirurške, FFP2 i FFP3 maske o čemu prema dostupnim literaturnim podacima nema odgovarajućih informacija. Najbolje zadržavanje plijesni utvrđeno je primjenom FFP2 maske iako bi prema certifikatima pod kojima je registrirana FFP3 maska trebala imati manju propusnost i minimalan postotak filtracije 99% za razliku od FFP2 maska koja deklarirano zadržava 94% čestica. Nadalje, FFP3 maska bi trebala sprječavati prolazak čak i finih čestica kao što je azbest čija je veličina 0,1-10 μm (Kenneth i sur., 2020). Veličine konidija plijesni kreću se u rasponu 1-10 μm , međutim plijesni tijekom svoga rasta otpuštaju u zrak fragmente micelija koji mogu biti i manji od 0,1 μm (Samson, 2016). Ovi rezultati upućuju da čestice plijesni promjera manjeg od veličine propisane deklaracijom mogu biti vijabilne. Obzirom da su maske napravljene od prirodnih materijala moguće je da sadrže određenu razinu vijabilnih mikočestica. Stoga bi istraživanje trebalo validirati na način da se provede sa prethodno steriliziranim maskama pa bismo u tom slučaju mogli bolje interpretirati rezultate dobivene ovim istraživanjem.

Zanimljivo je istaknuti kako je najveći broj kolonija plijesni prisutan kod pamučne maske, čak i u usporedbi s kontrolnim mjerenjem. Moguće da je riječ o kontaminaciji, a već ranije je navedeno kako je tekstil vrlo podložan razvoju plijesni i treba voditi računa o njegovoj čistoći. U ranijim istraživanjima na Zavodu za mikrobiologiju utvrđeno je kako celulozni materijali predstavljaju bogat izvor mikrobiote (Marušić i sur., 2020). Stoga prikazani rezultati ukazuju na potrebu validiranja kirurških maski obzirom na prisustvo vijabilnih čestica plijesni. Kirurške maske su standardni dio medicinske opreme u bolnicama i osobito važno za vrijeme izvođenja operativnih zahvata te na odjelima sa imunokompromitiranim pacijentima. Pojavom pandemije i uvođenjem obaveznog nošenja zaštitnih maski ljudi su sami izrađivati maske od različitih materijala koji su im bili dostupni kod kuće. Često su u pitanju bile stare krpe i odjeća čija čistoća nije zagarantirana. Zato smo u ovome radu koristili staru tkanina koja je simulirala pamučnu masku. Dobiveni rezultati upućuju na neprimjerenost takvih materijala u svrhu zadržavanja vijabilnih čestica plijesni.

Zdravim ljudima bez zdravstvenih problema, izloženost plijesnima uglavnom ne predstavlja nikakav problem. Do problema dolazi kod imunokompromitiranih osoba. Najčešće je riječ o aspergilozi. Imunokompromitirane osobe bi trebale izbjegavati mjesta s puno prašine i unutašnje prostore s problemom vlage, a ako to nije moguće preporuča se nošenje FFP2 odnosno KN95 maske što je zapravo FFP2 maska certificirana u Kini. Istraživanje prikazano

u ovome diplomskome radu pokazalo je da FFP2 maska uvelike smanjuje izloženost plijesnima u zatvorenom prostoru što je u skladu sa preporukama Centra za prevenciju i kontrolu bolesti (www.cdc.gov).

U sklopu našeg istraživanja odlučili smo testirati i reverz maske kako bismo istražili hipotetsku situaciju prijenosa vijabilnih čestica plijesni s jedne osobe na drugu. Veličine čestica aerosola plijesni je 2 do 4 μm (Madsen i sur., 2016), dok minimalna veličina čestica aerosola koje mogu sadržavati virus iznosi 9,3 μm (Lee, 2020). Poznato je da plijesni mogu u okoliš otpuštati fragmente manje od 0,1 μm (Samson, 2016) pa je dodatnim ispitivanjima potrebno potvrditi vijabilnost takvih čestica.

Kvalitativna analiza je pokazala najveću zastupljenost plijesni iz rodova *Cladosporium*, *Penicillium* i *Aspergillus* što odgovara uobičajenoj mikrobioti vanjskog i unutarnjeg zraka. U uzorcima unutarnjeg zraka zabilježen je i porast kvasaca te je zanimljivo da kvasce ne zadržavaju FFP2 niti FFP3 maska dok su se i kirurška i pamučna maska u tome pokazale učinkovite.

Kada je riječ o maskama i njihovoj učinkovitosti treba uzeti u obzir i prijanjanje maske na lice i njen oblik. Na isti način bi se validacija postupka uzorkovanja zraka opisanog u ovome radu trebala provesti kroz specijalizirane membrane usporedive sa kirurškim, FFP2 i FFP3 maskama.

6. ZAKLJUČCI

- Najmanja razina zadržavanja vijabilnih čestica plijesni utvrđena je za pamučnu masku, a najveća za FFP2 tip maske
- Strana kirurške maske okrenuta prema licu (reverz maske u ovom radu) zadržava 16 puta više vijabilnih čestica plijesni u odnosu na stranu prema okolišu
- Reverz FFP2 maske (strana prema licu) manje je ili podjednako učinkovita u zadržavanju vijabilnih čestica plijesni u odnosu na stranu prema vani
- Najmanja bioraznolikost vanjskog zraka uočena je nakon primjene FFP2 maske, a porasle plijesni odgovarale su rodovima *Cladosporium* i *Absidia*.
- Nakon uzorkovanja vanjskog zraka kroz FFP3 masku porasle plijesni bile su iz rodova *Cladosporium*, *Fusarium*, *Absidia* i *Alternaria*.
- U uzorcima unutarnjeg zraka bile su zastupljene plijesni rodova *Cladosporium*, *Aspergillus* i *Penicillium*, a identificirane su u uzorcima propuštenima kroz pamučnu i kiruršku masku, dok su kroz FFP2 i FFP3 masku detektirane samo plijesni roda *Cladosporium*
- Zanimljivo je da su kvasci osim u kontrolnim uzorcima detektirani još samo u uzorcima propuštenima kroz FFP2 i FFP3 maske, a nisu detektirani u uzorcima propuštenima kroz pamučnu i kiruršku masku
- Korištenje FFP2 i FFP3 maske je uvelike korisno kod imunokompromitiranih osoba u svrhu sprječavanja izloženosti vijabilnim česticama plijesni
- Za preciznu interpretaciju rezultata ovoga rada trebalo bi provesti istraživanje validiranim postupkom upotrebom sterilnih filtera prikladnijih za uređaj za uzorkovanje zraka, a da po svojim svojstvima odgovaraju kirurškoj, FFP2 i FFP3 maski

7. LITERATURA

- Archived: WHO Timeline - COVID-19, 2020., <http://www.who.int>, pristupljeno 2.5.2022.
- Workgroup, exposure and health effects of fungi on humans. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2016, 4, 396-404.
- CDC Aspergillosis, 2021., <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/index.html>, pristupljeno 9.6.2022.
- COVID-19 – Priopćenje prvog slučaja, 2020., <https://www.hzjz.hr/>, pristupljeno 2.5.2022.
- Jakšić D. Pojedinačni i kombinirani učinci mikotoksina i ekstrakata aerogenih *Aspergillus* vrsta plijesni u ljudskim staničnim linijama, 2016, 7-8, 43-44.
- Kenneth KWL, Jousen AM, Kwan JKC, Steel DHW. FFP3, FFP2, N95, surgical masks and respirators: what should we be wearing for ophthalmic surgery in the COVID-19 pandemic? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2020, 258, 1587-1589.
- Lee BU. Minimum sizes of respiratory particles carrying SARS-CoV-2 and the possibility of aerosol generation. *Int J. Environ*, 2020, 17, 6960.
- Madsen AM, Larsen ST, Koponen IK, Kling KI, Barooni A, Karottki DG, Tendal K, Wolkoff P. Generation and characterization of indoor fungalaerosols for inhalation studies. *Appl Environ Microbiol*, 2016, 82, 2479-2493.
- Marušić K, Šegvić Klarić M, Sinčić L, Pucić I, Mihaljević B. Combined effects of gamma-irradiation, dose rate and mycobiota activity on cultural heritage - Study on model paper. *Radiat Phys Chem*, 2020, 170, 108641.
- Odluka o nužnoj mjeri obaveznog korištenja maski za lice ili medicinskih maski za vrijeme trajanja proglašene epidemije bolesti COVID-19, 2020, Zagreb, Narodne novine, broj 80 (NN/80/20), pristupljeno 21.5.2022.
- Pieckova E. Domestic environment. Indoor mycobiota as a public health risk factor. U: Environmental mycology and public health. Fungi and mycotoxins risk assessment and management. Viegas C, Pinheiro AC, Sabino R, Viegas S, Brandao J, Verissimo C, urednici, Oxford, Elsevier, 2016, str. 129-144.
- Samson RA, Houbraken J, Thrane U, Frisvald JC, Anderson B, Food and indoor fungi. CBS

Laboratory manual series, Utrecht, The Netherlands, 2010.

Samson RA. Cellular constitution, water and nutritional needs, and secondary metabolites. U: Environmental mycology and public health. Fungi and mycotoxins risk assessment and management. Viegas C, Pinheiro AC, Sabino R, Viegas S, Brandao J, Verissimo C, urednici, Oxford, Elsevier, 2016, str. 5-7.

Shelton GB, Kirkland KH, Flanders WD, Morris GK. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in The United States. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68, 1743-1753.

Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Masaki M, Kabata H, Nishimura H, Kawaoka Y, and Imperiale MJ. Effectiveness of face masks in preventing airborne transmission of SARS-CoV-2. *mSphere*, 2020, 5, 1-2.

8. SAŽETAK

Pojavom COVID-19 pandemije krajem 2019. godine i vrlo brzim širenjem virusa svijetom, došlo je do uvođenja restriktivnih mjera, između ostalog i obaveznog nošenja zaštitnih maski. Mi smo se zapitali kako bi nošenje maski utjecalo na sprječavanje inhalacije plijesni te smo to istražili. Plijesni kao ubikvitarni organizmi su sveprisutne i u unutarnjem i u vanjskom zraku te doticaj s njima je neizbježan. Dok većina ljudi ne bi trebala imati nikakve zdravstvene probleme udisanjem plijesni, to nije slučaj kod imunokompromitiranih osoba, osoba koje boluju od astme ili kod djece koja su od rane dobi izložene visokim koncentracijama plijesni u vlažnim prostorima. Kvantitativno i kvalitativno smo ispitali propusnost kirurške maske, pamučne maske, FFP2 i FFP3 maske u unutarnjem i u vanjskom zraku. Općenito, koncentracija plijesni je bila veća u vanjskom nego u unutarnjem zraku, a rezultati kvantitativne analize su pokazali kako je u oba slučaja FFP2 maska najbolja u sprječavanju inhalacije plijesni i kako bi bila vrlo adekvatna kod imunokompromitiranih osoba koje ne mogu izbjeći doticaj s prostorima u kojima je koncentracija plijesni vrlo visoka. FFP2 maska postiže bolje rezultate od FFP3 maske razlog čemu je vjerojatna kontaminacija FFP3 maske. Kvalitativna analiza je pokazala najveću zastupljenost plijesni roda *Cladosporium*, *Aspergillus* i *Penicillium*. Dok pamučna i kirurška maska slično filtriraju različite rodove plijesni, FFP2 i FFP3 maska propuštaju samo plijesni roda *Cladosporium* i kvasce. Za preciznu interpretaciju rezultata ovoga rada trebalo bi provesti istraživanje validiranim postupkom upotrebom sterilnih filtera prikladnijih za uređaj za uzorkovanje zraka, a da po svojim svojstvima odgovaraju kirurškoj, FFP2 i FFP3 maski.

KLJUČNE RIJEČI: zaštitne maske, kirurška maska, FFP2, FFP3, pamučna maska, vanjski zrak, unutarnji zrak, vijabilne plijesni

9. SUMMARY

With the advent of the COVID-19 pandemic at the end of 2019 and the very rapid spread of the virus around the world, restrictive measures have been introduced, including the mandatory wearing of protective masks. In this thesis we have questioned how wearing masks would affect the prevention of mold inhalation. Molds are ubiquitous in both indoor and outdoor air, so people are inevitably exposed to molds. While most people should not have any health problems by inhaling mold, this is not the case in immunocompromised people, people with asthma, or in children who are exposed to high concentrations of molds in damp indoor environment. The permeability of the surgical mask, cotton mask, FFP2 and FFP3 masks for the molds in the indoor and outdoor air was explored in this thesis. In general, the concentration of mold was higher in the indoor than in the outdoor air, and the results of quantitative analysis showed that in both cases the FFP2 mask is the best at preventing mold inhalation. The FFP2 mask achieved better results than the FFP3 mask, which may be due to contamination of the FFP3 mask by viable mycoparticles. Qualitative analysis showed the highest representation of mold of the genus *Cladosporium*, *Aspergillus* and *Penicillium*. While cotton and surgical masks are of comparable capacity in filtering the different genera of molds, the FFP2 and FFP3 cannot filter the viable myco-particles assigned to *Cladosporium* and yeasts. For a precise interpretation of these results, the investigation should be carried out by a validated procedure using sterile filters of comparable properties to surgical, FFP2 and FFP3 which would also better fit to the air sampling device.

KEY WORDS: protective masks, surgical mask, FFP2 mask, FFP3 mask, cotton mask, outdoor air, indoor air, viable molds

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za Mikrobiologiju
Schrottova 39, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ISPITIVANJE PROPUSNOSTI RAZLIČITIH TIPOVA ZAŠTITNIH MASKI ZA VIJABILNE ČESTICE PLIJESNI U ZRAKU

Filip Pudić

SAŽETAK

Pojavom COVID-19 pandemije krajem 2019. godine i vrlo brzim širenjem virusa svijetom, došlo je do uvođenja restriktivnih mjera, između ostalog i obaveznog nošenja zaštitnih maski. Mi smo se zapitali kako bi nošenje maski utjecalo na sprječavanje inhalacije plijesni te smo to istražili. Plijesni kao ubikvitarni organizmi su sveprisutne i u unutarnjem i u vanjskom zraku te doticaj s njima je neizbježan. Dok većina ljudi ne bi trebala imati nikakve zdravstvene probleme udisanjem plijesni, to nije slučaj kod imunokompromitiranih osoba, osoba koje boluju od astme ili kod djece koja su od rane dobi izložene visokim koncentracijama plijesni u vlažnim prostorima. Kvantitativno i kvalitativno smo ispitali propusnost kirurške maske, pamučne maske, FFP2 i FFP3 maske u unutarnjem i u vanjskom zraku. Općenito, koncentracija plijesni je bila veća u vanjskom nego u unutarnjem zraku, a rezultati kvantitativne analize su pokazali kako je u oba slučaja FFP2 maska najbolja u sprječavanju inhalacije plijesni i kako bi bila vrlo adekvatna kod imunokompromitiranih osoba koje ne mogu izbjeći doticaj s prostorima u kojima je koncentracija plijesni vrlo visoka. FFP2 maska postiže bolje rezultate od FFP3 maske razlog čemu je vjerojatna kontaminacija FFP3 maske. Kvalitativna analiza je pokazala najveću zastupljenost plijesni roda *Cladosporium*, *Aspergillus* i *Penicillium*. Dok pamučna i kirurška maska slično filtriraju različite rodove plijesni, FFP2 i FFP3 maska propuštaju samo plijesni roda *Cladosporium* i kvasce. Za preciznu interpretaciju rezultata ovoga rada trebalo bi provesti istraživanje validiranim postupkom upotrebom sterilnih filtera prikladnijih za uređaj za uzorkovanje zraka, a da po svojim svojstvima odgovaraju kirurškoj, FFP2 i FFP3 maski.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 17 stranica, 3 grafičkih prikaza, 3 tablica i 15 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: zaštitne maske, kirurška maska, FFP2, FFP3, pamučna maska, vanjski zrak, unutarnji zrak, vijabilne plijesni

Mentor: **Dr. sc. Daniela Jakšić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Daniela Jakšić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Maja Šegvić Klarić, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Ana-Marija Domijan, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of (Microbiology
Schrottova 39, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

PERMEABILITY ASSESSEMENT OF DIFFERENT TYPES OF PROTECTIVE MASKS FOR VIABLE AIRBORNE MOLD PARTICLES

Filip Pudić

SUMMARY

With the advent of the COVID-19 pandemic at the end of 2019 and the very rapid spread of the virus around the world, restrictive measures have been introduced, including the mandatory wearing of protective masks. In this thesis we have questioned how wearing masks would affect the prevention of mold inhalation. Molds are ubiquitous in both indoor and outdoor air, so people are inevitably exposed to molds. While most people should not have any health problems by inhaling mold, this is not the case in immunocompromised people, people with asthma, or in children who are exposed to high concentrations of molds in damp indoor environment. The permeability of the surgical mask, cotton mask, FFP2 and FFP3 masks for the molds in the indoor and outdoor air was explored in this thesis. In general, the concentration of mold was higher in the indoor than in the outdoor air, and the results of quantitative analysis showed that in both cases the FFP2 mask is the best at preventing mold inhalation. The FFP2 mask achieved better results than the FFP3 mask, which may be due to contamination of the FFP3 mask by viable mycoparticles. Qualitative analysis showed the highest representation of mold of the genus *Cladosporium*, *Aspergillus* and *Penicillium*. While cotton and surgical masks are of comparable capacity in filtering the different genera of molds, the FFP2 and FFP3 cannot filter the viable myco-particles assigned to *Cladosporium* and yeasts. For a precise interpretation of these results, the investigation should be carried out by a validated procedure using sterile filters of comparable properties to surgical, FFP2 and FFP3 which would also better fit to the air sampling device.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 17 pages, 3 figures, 3 tables and 15 references. Original is in Croatian language.

Keywords: protective masks, surgical mask, FFP2 mask, FFP3 mask, cotton mask, outdoor air, indoor air, viable molds

Mentor: **Daniela Jakšić, Ph.D. Assistant Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Daniela Jakšić, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D. Full Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Ana-Marija Domijan, Ph.D. Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2022.