

Tadeja MATOS*, Mateja ŠKAMPERLE**

PRISOTNOSTI GLIV V PROSTORIH KNJIŽNIC IN ARHIVOV TER NJIHOV VPLIV NA POČUTJE IN ZDRAVJE LJUDI

Izvleček:

V prostorih notranjega okolja ljudje v moderni družbi preživimo večino časa. Gradbeni material, pohištvo in predmeti v njem so lahko dober substrat za rast in razmnoževanje številnih mikroorganizmov. Zbirke v knjižnicah in arhivih so bogate s celulozo in proteini, ki so ugodna gojišča za razrast gliv, posebno plesni, ki so tudi sicer prisotne v zraku in na površinah.

V prispevku sta avtorici navedli, katere najpogostejše vrste plesni najdemo v prostorih knjižnic in arhivov in kako lahko škodljivo vplivajo na zdravje in počutje ljudi. Navajata, kdaj in kakšne vrste mikrobioloških vzorčenj najpogosteje izvajajo v teh prostorih in kakšne so še možnosti, ki se v zadnjem času pojavljajo na tem področju. Interpretacija rezultatov vzorčenja notranjih prostorov je težavna, saj še ni mednarodnih smernic, ki bi dobro opredeljevale, do katere mere so vrednosti še v mejah normalnega. Znani pa so ukrepi, s katerimi v veliki meri lahko dosežemo zdravju prijazno delovno okolje.

Ključne besede:

notranje okolje, plesni, vzorčenje zraka, *Aspergillus*

Abstract:

Presence of Fungi in Libraries and Archives and Their Impact on People's Health

In modern society, people spend most of their time in indoor environments, where building materials, furniture and objects can be a good substrate for the growth and reproduction of many microorganisms. In libraries and archives, stored books and documents are rich in cellulose and proteins. They are a favorable medium for fungal growth, especially for molds that are also present in air and on surfaces.

In the paper the authors list the most common types of molds found in libraries and archives, and describe how they could adversely affect human health and well-being. The authors also mention what kind of microbiological air sampling is most commonly used indoors and when, and describe new air sampling possibilities that have recently become available. The interpretation of sampling results in indoor spaces is difficult, due to the lack of international guidelines that could well define the values within normal limits. Nevertheless, there are some known measures to ensure a healthy working environment.

Key words:

indoor environment, molds, air sampling, *Aspergillus*

1 UVOD

Ljudje v moderni družbi kar 80 % časa preživimo v notranjih prostorih, bodisi da gre za bivalne ali delovne prostore (Brenstein, 2008). V okolju notranjih prostorov poznamo številne dejavnike, ki lahko kvarno vplivajo na počutje in zdravje ljudi. Mednje sodijo plini, ki nastajajo ob nezadostnem izgorevanju ali pa v majhnih količinah obstajajo v vodi. Moderni gradbeni materiali, pohištvo, oblačila, plesni oddajajo

* Doc. dr. Tadeja Matos, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenija, kontakt: tadeja.matos@mf.uni-lj.si.

** Mateja Škamperle, dr. med. Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenija.

različne hlapne organske spojine; preproge so kotišča zunanjih onesnaževalcev, kot so pesticidi, prah-pršice. Iz zunanjega zraka lahko kvarno na ljudi vplivajo cvetni prah, plesni in drugi alergeni. Sami prebivalci, domače živali in žuželke so lahko nosilci tako virusov, bakterij kot gliv. Seveda je veliko odvisno tudi od samih fizikalnih pogojev v prostoru ter vzdrževanja klimatskih in prezračevalnih naprav, v kakšnem okolju živimo.

Glive so ubikvitarni, povsod prisotni mikroorganizmi. Ocenjujejo, da je vsaj 600 vrst v stalnem stiku s človekom, manj kot 50 vrst pa je pogosteje opredeljenih v epidemioloških študijah notranjega okolja (Khan, 2009). Glive so sposobne rasti na skoraj vseh naravnih in sintetičnih materialih, še zlasti v vlažnem okolju. Anorganski material je dobro gojišče za *Aspergillus fumigatus* in *Aspergillus versicolor* (Samet and Spengler, 2003). Les je močno občutljiv za plesni *Cladosporium* in *Penicillium*, ki so opisane kot pomembni škodljivci lesenega gradbenega materiala. Notranji stenski material, zlasti mavčne in stropne plošče ter izolacijski materiali iz steklenih vlaken, omogočajo razrast številnih vrst gliv, in to zaradi njihovih hidroskopičnih lastnosti. Tudi papir in lepilo so dobri substrati za večino gliv notranjih prostorov. Med najpogosteje osamljene glive notranjih prostorov sodijo *Aspergillus fumigatus* in *Aspergillus versicolor*, *Stachybotris chartarum*, *Paecilomyces variotii*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aureobasidium pullulans*. Z njimi so pogosto kolonizirani tudi zračni filtri in prezračevalni vodi.

2 ŠKODLJIV VPLIV GLIV IN NJIHOVIH PRODUKTOV NA ZDRAVJE IN POČUTJE LJUDI

Glive v splošnem vplivajo škodljivo na človeka na tri načine: a) v obliki okužb - mikoz, b) zaradi toksičnih učinkov mikotoksinov, ki jih nekatere vrste sproščajo v okolje, in c) v obliki preobčutljivostnih reakcij na njihove alergene.

2.1 Okužbe z glivami - mikoze

Okužbe z glivami, ki jih imenujemo mikoze, razdelimo na povrhnje, ki so pretežno lokalizirane, omejene na kožo, podkožje, lasišče, nohte ter sluznice in sistemske invazivne okužbe. Težko potekajoče, sistemske invazivne okužbe v našem okolju prizadenejo majhen delež prebivalstva in so omejene na ljudi z izjemno prizadetim imunskim odzivom. K slednjim sodijo predvsem bolniki, ki prebolevajo hematološke maligne bolezni, in tisti, ki se zdravijo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic in čvrstih organov, ter drugi kritično bolni, ki se običajno zdravijo na intenzivnih oddelkih. V zadnjih desetletjih incidenca invazivnih glivnih okužb narašča, saj se povečuje delež bolnikov s povečanim tveganjem za oportunistične okužbe, kamor sodijo tudi glivične okužbe našega geografskega področja. Daleč najpomembnejši povzročitelji teh okužb so vrste iz rodu *Candida*, ki predstavljajo približno tri četrtine vseh invazivnih okužb. Najpogosteje se klinična slika bolezni kaže v obliki sepse, s prizadetostjo različnih notranjih organov. Na drugem mestu so plesni iz rodu *Aspergillus* s 15-odstotnim deležem. Klinična slika se najpogosteje izraža v obliki težko potekajoče pljučnice. V izjemno težkih potekih okužbe lahko povzročitelji s krvjo preidejo tudi v druge organe. Najbolj se bojimo prizadetosti centralnega živčevja, ki je še vedno izjemno težko ozdravljiva bolezen. Pet- do desetodstotni delež invazivnih okužb predstavljajo drugi povzročitelji, katerih spekter je izjemno širok. Osamimo jih sporadično, klinične slike so lahko tudi zelo bizarne, med njimi je najpomembnejša skupina zigomicet. Do okužbe pride najpogosteje z vdihovanjem. Zaradi invazije v stene krvnih žil in posledičnega nastanka tromboz nastaja lokalno odmrtje tkiva, ki napreduje lokalno, vendar izjemno hitro, tako da lahko okužba v nekaj tednih

prizadene nosne hrustance in kosti ter kosti orbite in se razširi v možganovino. Smrtnost teh okužb je visoka.

2.2 Mikotoksini

Mikotoksini so različni sekundarni metaboliti, ki jih glive izločajo ob rasti in razmnoževanju. Znanih je več kot 400 vrst. So kompleksne nehlapne, organske spojine velikosti 200-800 kD (Soroka, 2008).

Ne izločajo jih vsi sevi iste vrste, zato osamitev in identifikacija vrste gliv še ni zadosten kazalec prisotnosti mikotoksina v okolici. Na njihovo tvorbo vplivajo različni dejavniki, kot so temperatura, vlažnost, pH, prisotnost hranilnih snovi v okolju. Mikotoksini so pomembni virulenčni dejavniki rastlin, toksično vplivajo na druge vrste plesni, živali in ljudi. Mikotoksine lahko uživamo s kontaminirano hrano, jih vdihavamo ali pridemo z njimi v stik preko kože. Najbolj proučevani mikotoksini iz notranjega okolja so aflatoksini, trihotekani in ohratoksini (Kilburn, 2004; Zain, 2011). Ljudje prihajajo z njimi v stik predvsem v kmetijstvu in v prostorih, kontaminiranih z glivami, ki izločajo te toksine. Toksičen vpliv vdihovanja toksinov se kaže v obliki draženja sluznic dihalnih poti, kožnega izpuščaja, supresije imunskega sistema, poškodbe jeter, centralnega živčevja in nastanku malignih obolenj. Prisotnost gliv v stavbi še ne pomeni, da so mikotoksini prisotni ali da so prisotni v veliki količini (Halios and Helms, 2010). Toksigene glive so bile osamljene iz gradbenega materiala in zraka v vlažnih stavbah, kjer so prebivalci tožili zaradi nespecifičnih simptomov, kot so kašelj, draženje kože in sluznic oči in dihal, glavobol in utrujenost, ki bi bili lahko povezani z mikotoksini (Bonetta, 2010). Mikotoksine identificiramo oz. določamo njihovo koncentracijo iz kontaminiranih površin, kot so stene, preproge in hišni prah s plinsko ali tekočinsko kromatografijo v kombinaciji z masno spektrometrijo (Chao, 2003).

2.3 Sindrom bolne stavbe - Sick Building Syndrom

Sindrom bolne stavbe (*angl. Sick Building Syndrom, SBS*) je skupek nespecifičnih simptomov, ki se pojavijo pri prebivalcih neke stavbe ali prostora in so v sorazmerju s časom, ki ga preživijo v njem, ter se kmalu po zapustitvi teh prostorov bistveno zmanjšajo. Sem sodijo glavobol, utrujenost, draženje očne veznice, krvavitve in nabreklost nosne sluznice in sinusov, kašelj, slabost.

Sindrom povezujejo z bivanjem v vlažnih prostorih, izhajanjem hlapnih organskih spojin, prahom, pasivnim kajenjem, slabo vzdrževanimi klimatskimi in prezračevalnimi napravami in širokim spektrom mikroorganizmov v okolju (po Gramu negativne bakterije, legionele, mikobakterije, plesni in njihovi metaboliti) (Horner, 2003). Hlapni glivni metaboliti, ki jih uvrščamo med hlapne organske spojine (*angl. Volatile organic compounds, VOC*) z raznoliko kemijsko strukturo, nastajajo pri rasti in razmnoževanju gliv. Sem sodijo različni ketoni, aldehidi in alkoholi. Imajo močan, neprijeten vonj v prostoru, njihovo merjenje v skladiščih žita uporabljajo za spremljanje kontaminacije skladišč z glivami (Weir, 2000; Bornehag, 2005). Ali so samostojni dejavnik tveganja za razvoj naštetih simptomov ali v kombinaciji z alergeni oz. v kombinaciji z drugimi škodljivimi vplivi, pa še ni povsem znano (Weinhold, 2007). Samo nekaj študij je potrdilo vzročno povezanost med izpostavljenostjo mikotoksinov in sindromom bolne stavbe (Kuo, 2008; Sen and Asan, 2009; Di Giulio, 2010; Asan, 2010).

2.4 Preobčutljivostne reakcije

Med okoljske alergene, ki lahko vodijo do preobčutljivostnih reakcij, sodijo tudi alergeni gliv. Alergijske reakcije imajo različen potek in težo, izražajo se v obliki alergijskega rinitisa, konjunktivitisa, astme, alergijske bronhopulmonalne aspergiloze in hipersenzitivnega pnevmonitisa. Nekatere osnovne bolezni pljuč, kot so astma, kronična obstruktivna pljučna bolezen in cistična fibroza, se lahko poslabšajo z vdihovanjem spor *Aspergillus* spp. Ob tem se lahko razvije alergična bronhopulmonalna aspergiloza ali mikoza v širšem pomenu besede, invazivna ali semiinvazivna pljučna aspergiloza in pljučni aspergilom (Kawel, 2011).

- Astma je kronična vnetna bolezen dihalnih poti. Ocenjujejo, da ima astmo okoli 4-5 % prebivalstva. Dihalne poti bolnikov z astmo so prekomerno odzivne na številne dražljaje, pri čemer prihaja do spazma gladke miškulature dihalnih poti in značilnih simptomov bolezni. Poznamo alergijsko in intrinzično obliko. Kaže se v obliki težkega dihanja, kašljanja, piskanja in stiskanja v prsnem košu. Bolezen poteka običajno v epizodah, v vmesnem obdobju pa je bolnik lahko brez simptomov bolezni ali pa so posamezni simptomi prisotni v bolj ali manj izraženi obliki. Dokažemo jo z meritvami pljučnih funkcij in ugotavljanjem odziva na zdravila. V krvni sliki imajo bolniki povišane koncentracije eozinofilnih granulocitov in celokupno koncentracijo IgE. Eozinofilce imajo v več kot 3-odstotnem deležu prisotne tudi v izkašljaju. Bolnikom naredijo tudi kožne teste na različne alergene in izmerijo koncentracijo specifičnih IgE.

Med številne alergene, ki lahko sprožijo astmo ali pa jo poslabšajo, sodijo tudi alergeni gliv (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*). Ti bolniki imajo običajno tudi protitelesa proti nekaterim drugim alergenom, najpogosteje proti pršici in alergenom domačih živali (Košnik, 2005).

- Alergijska bronhopulmonalna aspergiloza prizadene 1-2 % bolnikov z astmo. Pri njih je značilno, da imajo dihalne poti naseljene najpogosteje z glivo *Aspergillus fumigatus* ali z drugimi vrstami gliv, kot so *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Curvularia*, *Penicillium*, *Geotrichum*. Glive naselijo dihalne poti, se tam razraščajo in izločajo antigene, ki sprožajo nastanek protiteles IgG in IgE. Za bolezen je značilna izredno visoka koncentracija IgE v krvi, kar je v veliki meri odraz aktivacije imunskih celic limfocitov T. Do poškodb bronhov prihaja zaradi alergijske vnetne reakcije in zaradi delovanja proteolitičnih encimov plesni, ki se tam razraščajo. Posledica je poškodba bronhialnega vejevja - bronhiektazije, redkeje se razvije pljučna fibroza. Bolezen se kaže podobno kot astma in jo potrdimo z merjenjem pljučne funkcije in laboratorijskimi testi (Košnik, 2005).
- Hipersenzitivni pnevmonitis ali ekstrinzični alergični alveolitis je granulomatozna bolezen pljuč, ki nastane zaradi izpostavljenosti in senzibilizacije na vdihan antigen. Bolezen ima lahko akuten ali kroničen potek (Fung, 2003). Gre za bolezen pljučnega intersticija. Preobčutljivostno vnetje prizadene stene alveolov in peribronhialno tkivo pljuč. V akutni obliki nastajajo protitelesa (humoralni imunski odziv), odlagajo se imunski kompleksi, ob stalni, dolgotrajni izpostavljenosti alergenom pa nastaja celični imunski odziv z nastankom granulomov, ki lahko napreduje v pljučno fibrozo. Med poznanimi alergeni, ki lahko sprožijo akutno obliko ekstrinzičnega alergičnega alveolitisa, sodijo tudi antigeni nekaterih gliv, ki so pogosto prisotni v senu, silaži, so ubikvitarni in v večjih koncentracijah lahko prisotni v notranjih, vlažnih, slabo vzdrževanih prostih. Mednje sodijo tudi vrste iz rodu *Aspergillus*. Akutna oblika

bolezni se začne 4-6 ur po izpostavitvi alergenu. Poglavitna simptoma sta težko dihanje in kašljanje. Spremljajo ga mrzlica, bolečine v sklepih in mišicah, povišana telesna temperatura. Simptomi pri kronični obliki pa so predvsem kašljanje, ki lahko postane produktivno, utrujenost, slabši apetit in hujšanje. Bolezen potrdimo s slikovnimi diagnostičnimi metodami, testi pljučne funkcije, izvidi imunoloških in patohistoloških preiskav (Košnik, 2005).

3 GLIVE V NOTRANJIH PROSTORIH ARHIVOV IN KNJIŽNIC

O prisotnosti gliv v prostorih knjižnic in arhivov v literaturi najdemo malo podatkov. Hampel in sodelavci so pregledali literaturo, ki je proučila prisotnost mikroorganizmov in možnost njihovega vpliva na zdravje človeka v arhivskih in knjižničnih prostorih. Prisotnost gliv je bila potrjena v 87,5 % vseh zajetih raziskav, tako v vzorcih zraka kot vzorcih iz različnih površin in knjig teh prostorov (Hempel, 2014).

Mikroorganizmi se v prostorih prenašajo po zraku s prašnimi delci, najdemo jih na raznih površinah kot del prahu. Prah lahko predstavlja ustrezno mikrookolje za razmnoževanje mikroorganizmov (Florian, 1997; Maggi, 2000). Na obstoj prašnih delcev v prostoru vpliva vzdrževanje prostorov in stavbe v celoti, aktivnosti, ki v prostorih potekajo, letni čas in način hrambe dokumentov (Maggi, 2000). Podobnost spektra mikroorganizmov tako v zraku kot tudi na različnih površinah odraža kroženje mikroorganizmov v prostoru in izven teh, v zunanjem okolju. V povprečju je prisotnost mikroorganizmov v zraku pred začetkom dela v prostorih manjša kot v delovnem času (Karbowska-Berent, 2011).

V raziskavah so z vzorčenjem zraka, prahu, površin knjig in arhivskih dokumentov dokazali prisotnost gliv s prevlado plesni rodov *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp. in nekaterih drugih sporogenih in nesporogenih gliv, ki kolonizirajo površine predmetov, dokumente, knjige in so v zraku ter lahko vplivajo na zdravje ljudi v delovnem okolju (Maggi, 2000; Zielińska-Jankiewicz, 2008; Apetrei, 2009). Glive rodu *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* in *Aspergillus* so tudi najpogostejše prisotne glive v domačih bivalnih prostorih in normalno prisotne v zunanjem okolju. Na njihovo rast vpliva predvsem prisotnost vode in vlage, slaba izolacija stavb, kondenz in neustrezno prezračevanje (Méheust, 2014). Zaradi tega je v prostorih pomembno spremljanje mikroklimatskih pogojev, kot so temperatura, relativna vlažnost in prezračevanje (Pasquarella, 2012).

4 ŠKODLJIV VPLIV PRISOTNOSTI PLESNI IN NJIHOVIH PRODUKTOV NA ZDRAVJE IN POČUTJE LJUDI V ARHIVIH IN KNJIŽNICAH

Spore plesni, ki jih osamimo iz zraka in površin knjig in arhivskega materiala, so najpogostejše povezane z alergijskimi znaki in simptomi, kot so rinitis, konjunktivitis in sinusitis. Pri ljudeh, ki so nagnjeni k preobčutljivosti, se lahko razvije astma ali pa se že prisotna astma ob stiku s temi alergeni poslabša. Nekateri izmed njih lahko ob stalni, večji onesnaženosti zraka s sporami plesni razvijejo alergično bronhopulmonalno aspergilozo. Med alergeni so znane številne vrste gliv, med katerimi so pogostejše omenjene vrste iz rodov *Aspergillus* in *Alternaria* (Košnik, 2005). Pomen mikotoksinov je v prostorih knjižnic in arhivov še zelo slabo raziskan. Sindrom bolne stavbe je opisan pri delavcih v teh prostorih, vendar pa je že sam po sebi kompleksen in težko razložljiv, tako zaradi svojih neznačilnih simptomov in znakov kakor tudi zaradi številnih dejavnikov, ki so lahko vpleteni v njegov nastanek (Horner, 2003).

5 VZORČENJE PROSTOROV IN MIKROBIOLOŠKA DIAGNOSTIKA

Rutinsko vzorčenje delovnega okolja se ne izvaja. Preden se odločimo vzorčiti prostor, moramo natančno definirati namen in cilj vzorčenja. S tem se izognemo neustrezni interpretaciji rezultatov, ki je ob številnih omejitvah zaradi nestandardiziranih metod vzorčenja še vedno otežena (Kung'u J, 2004).

V eni največjih ameriških študij, ki je z enotnim standardiziranim protokolom zajela več tisoč vzorcev v različnih notranjih prostorih in zunanjem okolju posameznih regij, so potrdili pomembno povezavo med prisotnostjo glivnih vrst v zunanjem okolju in njihovo prisotnostjo v notranjih prostorih, kjer je bila v povprečju koncentracija glivnih vrst 6- do 7-krat nižja. Razmerje koncentracij različnih vrst gliv v zunanjem okolju in notranjih prostorih se je skladno spreminjalo tudi glede na različne letne čase, kar dodatno dokazuje, da je ob ugotavljanju prisotnosti gliv v delovnem okolju izredno pomembna previdnost pri interpretaciji rezultatov vzorčenja in morebitnega vpliva na zdravje ljudi (Shelton, 2002).

Kvantitativno vrednotenje rezultatov vzorčenja zraka in površin v knjižnicah in arhivih je težavno, saj ni sprejetih normativov in referenčnih vrednosti za notranje prostore. Študije, ki obravnavajo to področje, uporabljajo različne smernice, ki pa se med seboj zelo razlikujejo (Rao, 1996). Načeloma velja, da mora biti koncentracija mikroorganizmov v notranjih prostorih nižja od tiste v zunanjem okolju in podobne sestave ter da so patogene in toksigene vrste v prostoru nesprejemljive. V primeru, da v notranjem okolju prevladuje posamezna vrsta (>50 CFU/m³), je potrebno raziskati, kje v prostoru je njen izvor (Švent-Kučina, 2013). V bolnišničnih »čistih prostorih« raziskovalci pri vzorčenju zraka predlagajo skupno število spor nižjo od 15 CFU/m³ in manj kot 0,1 CFU/m³ za *Aspergillus fumigatus* in druge oportunistične potencialno patogene vrste (Sehulster, 2004).

Nekatere študije, objavljene v zadnjem obdobju, se sklicujejo na sanitarne standarde za neindustrijske objekte, ki so bili sprejeti v evropski komisiji leta 1993 (Kalvasińska, 2012). Standard opisuje več kategorij onesnaženosti prostorov z bakterijami in glivami (Tabela 1).

Tabela 1: Sanitarni standardi za neindustrijske prostore, povzeto po CEC (angl. Commission of the European Communities, 1993)

Vrsta mikroorganizmov	Mejne vrednosti (CFU/m ³)	Stopnja onesnaženosti
Bakterije	< 50	zelo nizka
	50-100	nizka
	100-500	srednja
	500-2000	visoka
	> 2000	zelo visoka
Glive	< 25	zelo nizka
	25-100	nizka
	100-500	srednja
	500-1000	visoka
	> 2000	zelo visoka

Kategorije stopenj onesnaženosti so bile določene na osnovi podatkov porazdelitve koncentracij gliv v vzorcih zraka iz zaprtih prostorov, ki so jih pridobili iz štirih študij, narejenih v Evropi in Kanadi. Te niso obravnavale vpliva koncentracij in

spektra mikroorganizmov na zdravje in počutje ljudi. Priporočajo tudi primerjavo rezultatov vzorčenja zunanega zraka (CEC, 1994).

Prisotnosti gliv v prostoru lahko grobo opredelimo s prostim očesom s pregledom prostora. V primerjavi z makroskopsko in mikroskopsko metodo je veliko bolj občutljiva metoda kultivacije odvzetih vzorcev prostora, kjer pričakujemo rast gliv (Shamsian, 2006; Dalal, 2011). Vzorce v prostoru lahko pridobimo na različne načine. Odvzete vzorce zasejemo na specifična gojišča (gojišče po Sabourdu (SABA) in dichloranovo gojišče z 18-odstotnim glycerol agarjem (DG18)), jih inkubiramo ob optimalnih pogojih za rast gliv in ob prisotnosti gliv izvedemo identifikacijo.

5.1 Vzorčenje zraka

Vzorčenje zraka je zaenkrat najpogosteje uporabljena metoda za ugotavljanje prisotnosti gliv v prostoru, predvsem v bolnišničnih okoljih, kjer je preprečevanje glivnih okužb izrednega pomena (Muiioz P, 2001; Schulster, 2004).

Aktivno vzorčenje zraka izvajamo s filtriranjem oziroma presesavanjem le-tega. Pri tem uporabljamo impaktorski vzorčevalnik zraka, ta v kratkem času prefiltrira na izbrano specifično gojišče velik volumen zraka (L/min), ki ga določimo glede na pričakovano onesnaženost prostora (v ekstremno onesnaženem prostoru je količina vzorčenega zraka manjša). V »čistih prostorih« se priporoča vzorčenje vsaj tisočih litrov zraka na vzorčno mesto (Švent-Kučina, 2013). Vzorčevalnik zraka moramo postaviti 1 do 1,5 m nad tlemi v oddaljenosti 1 m od predmetov, na višini človeškega vdihovanja in med potekom običajnih aktivnosti (Pasquarella, 2012).

Pasivno vzorčenje zraka izvajamo s tako imenovano sedimentacijsko metodo, ko v prostoru za 1 uro izpostavimo odprto gojišče 1 m nad tlemi in 1 m oddaljeno od ostalih predmetov oziroma zidov. Metoda temelji na posedanju delcev iz zraka na podlagi gravitacije. Omogoča oceno indeksa mikrobne kontaminacije zraka (ang. Index of Microbial Air Contamination, IMA), ki ga navedemo v številu poraslih kolonij na gojišču v določenem času oziroma na kvadratni decimeter v 1 uri (CFU/gojišče/čas; CFU/dm²/h) (Pasquarella C, 2000).

Čeprav velja sedimentacijska metoda za eno najbolj enostavnih, je metoda slabo občutljiva in zgolj orientacijska. Kljub temu Pasquarella in sodelavci v raziskavi, ki je zajemala vzorčenje zraka in površin knjižnice, poudarjajo pomen uporabe tako aktivnega kot tudi pasivnega vzorčenja zraka, saj metodi razpolagata z različnimi rezultati, ki nam lahko podajo skupno, bolj zanesljivo interpretacijo prisotnosti mikroorganizmov v prostoru (Pasquarella, 2012).

5.2 Vzorčenje površin

Za mikrobiološke preiskave površin na snažnost uporabljamo brise in odtisne ploščice za določanje in štetje organizmov (ang. *Replicate organism detection and counting*, RODAC) z ustreznimi gojišči. Pri odvzemu vzorca z brisi ustrezno prilagodimo število odvzetih vzorcev glede na velikost vzorčene površine. Načeloma velja, da z enim brisom odvezamo vzorec z 20 cm² površine. Odvzete brise je potrebno vstaviti v ustrezna tekoča gojišča, ki vsebujejo inaktivator razkužila, ta prepreči učinek razkužil in omogoči ustrezno kvantitativno interpretacijo rezultatov. Pomembno je, da vse vzorce po odvzemu čimprej (v roku dveh ur) prenesemo v mikrobiološki laboratorij, kjer jih dokončno zasejemo na ustrezna gojišča, SABA in DG18 (Švent-Kučina, 2013).

Odtisne ploščice (RODAC) z že vsebujočimi ustreznimi gojišči odtisnemo na vzorčeno površino. Površina ploščice je 21 cm². Ploščice ustrezno označimo in zaščitimo ter čimprej inkubiramo pod ustreznimi pogoji (Švent-Kučina, 2013).

5.3 Obdelava vzorcev in identifikacija gliv

Vsa zasejana gojišča, s katerimi ugotavljamo prisotnost gliv, inkubiramo 5 do največ 7 dni v termostatu z aerobno atmosfero na 37° (SABA) in na 25° (DG18). Ob prisotnosti glivnih spor v zraku in na površinah izoliramo glive, katerih spore so bile ob vzorčenju prisotne v prostoru. Prisotnost rasti na gojiščih opazujemo dnevno, rast ovrednotimo s številom poraslih kolonij in izvedemo identifikacijo do vrste mikroorganizma z uporabo ustreznih laboratorijskih tehnik.

Rezultat vzorčenja zraka izrazimo v številu poraslih kolonij na kubični meter filtriranega zraka (CFU/m³), rezultat vzorčenja površin pa v številu poraslih kolonij na kvadratni decimeter vzorčene površine (CFU/dm²) (Švent-Kučina, 2013).

V literaturi se kot ena izmed tehnik vzorčenja prostorov omenja tudi vzorčenje prahu (predvsem prah s tal, preprog in prezračevalnih vodov domačih bivalnih in notranjih prostorov na delovnih mestih). Prednost te metode vzorčenja naj bi bila predvsem pri nadaljnji analizi vzorcev, saj je pri tem mogoča uporaba tehnik širšega spektra, ki omogočajo tudi zaznavanje gradnikov celične stene gliv in glivnih metabolitov (hlapnih organskih spojin in osnovnih plinov).

Korak v tej smeri sta od tradicionalne kultivacije in mikroskopskih tehnik naredila razvoj in uporaba molekularnih tehnik, ki temeljijo na verižni reakciji s polimerazo (PCR), sekvenciranje genoma, imunoencimske tehnike, tehnike kromatografije in masne spektrometrije ter specifični kemični testi (Méheust, 2014).

6 UKREPI ZA OBVLADOVANJE PLESNI V NOTRANJIH PROSTORIH KNJIŽNIC IN ARHIVOV

Ali predstavljajo prostori knjižnic in arhivov večje tveganje za zdravje delavcev v teh prostorih, je odvisno predvsem od vzdrževanja ustreznih klimatskih pogojev. Glede na to, da je v teh prostorih veliko substratov, ki predstavljajo ustrezno podlago za rast in razmnoževanje gliv, predstavlja vzdrževanje primerne okolja s temperaturo med 18 in 22 °C in vlažnostjo pod 50 % najpomembnejši in nujen ukrep, s katerim dosežemo pogoje, ki so neugodni za razmnoževanje gliv ter tako zmanjšamo in preprečimo njihovo rast (Dalal, 2011; Shamsian, 2006; Florian, 1994; Cole and Cook, 1998).

S tem zmanjšamo glivno breme v prostoru in tveganje za nastanek bolezni in sindromov, ki so povezani z večjo izpostavljenostjo glivam v notranjih prostorih. Potrebno je zagotoviti prostore, kamor se lahko odmakne najbolj kontaminirane predmete, posebno tiste, ki jih je potrebno restavrirati, da ne ogrožajo drugega arhivskega materiala in seveda zdravja in počutja ljudi, ki imajo večje tveganje za razvoj alergijskih reakcij ali imajo celo osnovne bolezni, ki se lahko ob delu z močno onesnaženim materialom poslabšajo. Preproge in tapete so pogosto kotišča plesni in ne sodijo v prostore knjižnic in arhivov. Stene vzdržujemo z uporabo fungicidnih sredstev in antimikrobnih produktov. Redno je potrebno vzdrževati prezračevalne in klimatske naprave in vode ter menjavati filtre. Priporočajo redno čiščenje z vakuumskimi sesalci in uporabo filtrov HEPA (Pinzari F, 2004). Ustanove morajo imeti izdelane načrte za ukrepanje ob izlivih vode (Khan, 2012).

VIRI IN LITERATURA

- Apetrei, I.C., Drăgănescu, G.E., Popescu, I.T., Carp-Cărare, C., Guguianu, E., Mihăescu, T., Ștefanache, A., Crețu, C., Patraș, X. (2009). Possible cause of allergy for the librarians: books manipulation and ventilation as sources of fungus spores spreading. *Aerobiologia* 25, 159-166.
- Asan A., Okten, S.S., Sen, B. (2010). Airborne and soilborne microfungi in the vicinity Hamitabat Thermic Power Plant in Kırklareli City (Turkey), their seasonal distributions and relations with climatological factors. *Environmental Monitoring and Assessment* 164, (1-4), 221-231.
- Bernstein, J.A., Alexis, N., Bacchus H, Bernstein, I.L., Fritz, P., Horner, E., Li, N., Mason, S., Nel, A., Oullette, J., Reijula, K., Reponen, T., Seltzer, J., Smith, A., Tarlo, S.M. (2008). The health effects of non-industrial indoor air pollution. *J Allergy Clin Immunol* 121,(3), 585-591.
- Bonetta, S., Mosso, S., Sampo, S., Carraro, E. (2010). Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian officebuilding equipped with an HVAC system. *Environmental Monitoring and Assessment* 161,(1-4), 473-483.
- Bornehag, C.G., Sundell, J., Sigsgaard, T. (2005). Dampness in buildings and health (DBH): Report from an ongoing epidemiological investigation on the association between indoor environmental factors and health effects among children in Sweden. *Indoor Air* 14,(s7), 59-66.
- Chao, H.J., Schwartz, J., Milton, D.K., Burge, H.A. (2003). The work environment and workers health in four large office buildings. *Environmental Health Perspectives* 111,(9), 1242-1248.
- Cole, E.C., Cook, C.E. (1998). Characterization of infectious aerosols in health care facilities: an aid to effective engineering controls and preventive strategies. *Am J Infect Control* 26,(4), 453-464.
- Commission of the European Communities: Luxembourg, (1994). *Biological Particles in Indoor Environments, Report no. 12*.
- Dalal, L., Bhowal, M., Kalbende, S. (2011). Incidence of deteriorating fungi in the air inside the college libraries of Wardha city. *Archives of Applied Science Research* 3, (5), 479-485.
- Di Giulio, M.D., Grande, R., Campli, E.D., Bartolomeo, S.D., Cellini, L. (2010). Indoor air quality in university environments. *Environmental Monitoring and Assessment* 170, 509-517.
- Florian, M.L. (1997). Heritage Eaters. Insects and Fungi in Heritage Collections. *James and James, London*, 1997, 1-12.
- Florian, M.L.E. (1994). Conidial fungi (mould, mildew) biology: A basis for logical prevention, eradication and treatment for museum and archival collections. *Leather Conservation News* 10, (1), 1-29.
- Fung, F., Hughson, W.G. (2003). Health effects of indoor fungal bioaerosol exposure. *Applied Occupational and Environmental Hygiene* 18,(7), 535-544.
- Halios, C.H., Helmis, C.G. (2010). Temporal evolution of the main processes that control indoor pollution in an office microenvironment: a case study. *Environmental Monitoring and Assessment* 167, 199-217.
- Hempel, M., Rakhra, V., Rothwell, A., Song, D. (2014). Bacterial and fungal contamination in the library setting: a growing concern? *Environ Health Rev* 57,(1), 9-15.
- Horner, W.E. (2003). Assessment of the indoor environment: evaluation of mold growth indoors. *Immunology and Allergy Clinics of North America* 23, 519-531.
- Kalwasińska, A., Burkowska, A., Wilk, I. (2012). Microbial air contamination in indoor environment of a university library. *Ann Agric Environ Med* 19,(1), 25-29.
- Karbowska-Berent, J., Gońcny, R.L., Strzelczyk, A.B., Wlazło, A. (2011). Airborne and dust borne microorganisms in selected Polish libraries and archives. *Building and Environment* 46,(10), 1872-1879.
- Kawel, N., Schorer, G., Desbiolles, L., Seifert, B., Marincek, B., Boehm, T. (2011). Discrimination between invasive pulmonary aspergillosis and pulmonary lymphoma using CT. *European Journal of Radiology* 77,(3), 417-425.

- Khan, A.A.H., Karuppayil, S.M., Chary, M., Kunwar, I.K., Waghray, S. (2009). Isolation, identification and testing of allergenicity of fungi from air-conditioned indoor environments. *Aerobiologia* 25,119-123.
- Khan, A.A.H., Mohan Karuppayil, S. (2012). Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi J Biol Sci* 19,(4), 405-426.
- Kilburn, K.H. (2004). Role of molds and mycotoxins in being sick in buildings: neurobehavioral and pulmonary impairment. *Adv Appl Microbiol* 55, 339-359.
- Košnik, M. (2005). Bolezni dihal. In A. Kocijančič, F. Mravlje, D. Štajer, (Eds.), *Interna medicina* (pp.291-438). Littera Picta: Ljubljana.
- Kung'u, J. (2004). Limitations and considerations in air sampling, sample analysis and result interpretation for airborne mould spores. *Inoculum - supplement to Mycologia* 55,(5),1-4.
- Kuo N.W., Chiang, H.S., Chiang, C.M. (2008). Development and application of an integrated indoor air quality audit to an international hotel building in Taiwan. *Environmental Monitoring and Assessment* 147, 139-147.
- Maggi, O., Persiani, A.M., Gallo, F., Valenti, P., Pasquariello, G., Sclocchi, M.C., Scorrano, M. (2000). Airborne fungal spores in dust present in archives: Proposal for a detection method, new for archival materials. *Aerobiologia* 16,(3-4), 429-434.
- Méheust, D., Cann, P., Reboux, G., Millon, L., Gangneux, J.P. (2014). Indoor fungal contamination: Health risks and measurement methods in hospitals, homes and workplaces. *Crit Rev Microbiol*, 40,(3), 248-260.
- Muioz, P., Budlo, A., Bouza, E. (2001). Environmental surveillance and other control measures in the prevention of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Infect* 7,(2), 38-45.
- Pasquarella, C., Pitzurra, O., Savino, A. (2000). The index of microbial air contamination. *J Hosp Infect* 46,(4), 241-256.
- Pasquarella, C., Sacconi, E., Sansebastiano, G.E., Ugolotti, M., Pasquariello, G., Albertini, R. (2012). Proposal for a biological environmental monitoring approach to be used in libraries and archives. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19(2), 209-212.
- Pinzari, F., Fanelli, C., Canhoto, O., Magan, N. (2004). Electronicnose for the early detection of moulds in libraries and archives. *Indoor and Built Environment* 13,(5), 387-395.
- Rao CY, Burge HA, Chang JCS. (1996). Review of Quantitative Standards and Guidelines for Fungi in Indoor Air. *Air & Waste Manage Assoc.* 46, 899-908.
- Samet, J.M., Spengler, J.D. (2003). Indoor environments and health: moving into the 21st century. *Am J Public Health* 93,(9), 1489-1493.
- Sehulster, L.M., Chinn, R.Y.W., Arduino, M.J., Carpenter, J., Donlan, R., Ashford, D., Besser, R., Fields, B., McNeil, M.M., Whitney, C., Wong, S., Juraneck, D., Cleveland, J. (2004). Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations from CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Chicago IL; American Society for Healthcare Engineering/American Hospital Association.
- Sen, B., Asan, A. (2009). Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag City (Turkey): seasonal distribution and relationship with climatic factors. *Environmental Monitoring and Assessment* 151, 209-219.
- Shamsian, A., Fata, A., Mohajeri, M., Ghazvini, K. (2006). Fungal contaminations in historical manuscripts at Astan QudsMuseum Library, Mashhad, Iran. *International Journal of Agriculture and Biology* 8, 420-422.
- Shelton, B.G., Kirkland, K.H., Flanders, W.D., Morris, G.K. (2002). Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl Environ Microbiol* 68,(4),1743-1753.
- Soroka, P.M., Cyprowski, M., Szadkowska-Stańczyk, I. (2008).Occupational exposure to mycotoxins in various branches of industry. *Med Pr* 59,(4), 333-345.

- Švent-Kučina, N., Kofol, R., Pirš, M., Mrvič, T., Germ, J., Triglav, T., Planinc Strunjaš, N., Lah, L.L., Videčnik Zorman, J., Pečavar, B., Seme, K., Matos, T. (2013). Vzorčenje bolnišničnega okolja in rok zdravstvenih delavcev. *Med razgl* 52(S6), 167-178.
- Weinhold, B. (2007). A spreading concern: inhalational health effects of mold. *Environmental Health Perspectives* 115, 300-305.
- Weir, E. (2000). Indoor moulds and human health. *Canadian Medical Association Journal* 162, 1469.
- Zain, M.E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society* 15,(2), 129-144.
- Zielińska-Jankiewicz K, Kozajda A, Piotrowska M, Szadkowska-Stańczyk I. (2008). Microbiological contamination with moulds in work environment in libraries and archive storage facilities. *Ann Agric Environ Med* 15(1), 71-78.

SUMMARY

*Tadeja MATOS**, *Mateja ŠKAMPERLE***

PRESENCE OF FUNGI IN LIBRARIES AND ARCHIVES AND THEIR IMPACT ON PEOPLE'S HEALTH

Building materials, furniture, stored books and documents, held by libraries and archives are an excellent substrate for the reproduction of many microorganisms due to the presence of cellulose and proteins. Among them, molds that are normally present in the air, are particularly important. The most frequently isolated fungi in indoor spaces are *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus versicolor*, *Stachybotris chartarum*, *Paecilomyces variotii*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aureobasidium pullulans*. Their growth is mainly facilitated by the presence of water and moisture, poor building insulation, condensation and inadequate ventilation.

The air in libraries and archives, contaminated with mold spores, is a risk factor for a variety of symptoms that are most often allergic. Symptoms appear in people who are predisposed to development of hypersensitive reactions, such as skin irritation and irritation of respiratory or conjunctival mucosa. It can also worsen the symptoms of asthma, or may cause its reappearance.

The importance of volatile organic compounds and mycotoxins, released by the propagation of mold, is still poorly understood. These compounds are frequently referred to as one of many possible causative agents of the so-called Sick Building Syndrome (SBS). SBS comprises of non-specific symptoms that occur among inhabitants of buildings or indoor spaces and are directly linked to the time spent in mentioned places as the symptoms considerably improve soon after leaving. The symptoms include headache, fatigue, conjunctival irritation, bleeding and swelling of nasal mucosa and sinuses, cough, nausea. Other possible causes of this syndrome include living in damp

* *Tadeja Matos, Ph. D., Assist. Prof., Institute for Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenia, contact: tadeja.matos@mf.uni-lj.si.*

** *Mateja Škamperle, Institute for Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana, Slovenia.*

places, dust, passive smoking, poorly maintained air-conditioning and ventilation equipment.

Air sampling is the most widely used method for detection in indoor places. Routine sampling of workplaces is not implemented. Prior to sampling, we need to precisely define its purpose and objective. Quantitative evaluation of the sampling results of air and different surfaces in libraries and archives is difficult, as there are no guidelines or reference measures applicable to indoor environments. It is believed that the concentration of microorganisms indoors should be lower than in the outdoor environment and of similar composition, and that the pathogenic and toxigenic species are unacceptable. If the indoor environment is dominated by a single species, it is necessary to investigate the location of its origin.

There is a lack of criteria that would clearly define the constellation of symptoms and possible causative agents of the above-mentioned clinical presentation. There is particularly little knowledge about the causal relationship between the presence of various concentrations of fungi and their metabolites and the health of people working in those places. However, there are measures that can significantly restrict the reproduction and dissemination of fungal spores, which are ubiquitous in our environment. Maintenance of an adequate internal environment (with a temperature between 18 and 22 °C, and humidity below 50 %), is the most important and necessary measure to bring about conditions that are unfavorable for the reproduction of fungi and to help reduce and prevent their growth. In addition to regular cleaning of surfaces, a lot of attention should also be paid to the regular maintenance of the ventilation systems and the air conditioning. In practice, these measures should be implemented and regularly monitored, with the purpose of creating a healthy environment for employees and visitors of these institutions.