Koliki broj bakterija sadrže spužve i krpe za brisanje školske ploče?

Karlo Kabalin, 8. razred

Osnovna škola Tituša Brezovačkog, Zagreb
Mentor: *Nikolina Konjuh Reljić*

SAŽETAK

U školama postoje različita onečišćenja površina mikroorganizmima. Učenici s njima mogu doći u kontakt na različite načine, a između ostalog i pri brisanju školske ploče. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi i usporediti broj aerobnih mezofilnih bakterija na spužvama i krpama od mikrofibre koje se koriste za brisanje ploče. U tu svrhu korištena je uobičajena metodologija uzimanja briseva s površina te nasađivanja i brojanja aerobnih mezofilnih bakterija nakon 48 sati inkubacije (pri 37°C). U 14 učionica osnovne osmogodišnje škole raspoređeno je 7 spužvi i 7 krpa od mikrofibre za brisanje ploča. Brisevi za određivanje broja bakterija uzeti su na dan kada su bile otpakirane i stavljene u učionice, a zatim svakih sedam dana u razdoblju od 4 tjedna. Brisevi su uzeti s površine i iz sredine spužve te s površine krpe. Na početku mjerenja je prosječan broj bakterija u krpama i spužvama bio jednak (0,07 CFU/cm^2), da bi on tijekom četiri tjedna jako porastao, pri čemu je u središtu spužvi on iznosio skoro trostruko više (134,54 CFU/cm^2) u odnosu na površinu krpe od mikrofibre (49,46 CFU/cm^2) i samu površinu spužve (45,82 CFU/cm^2) koja se brzo sušila na zraku. Može se zaključiti da oba sredstva za brisanje ploče predstavljaju povoljan medij za razmnožavanje aerobnih mezofilnih bakterija, posebice školska spužva zbog veće mogućnosti zadržavanja vlage u dubini. S obzirom da učenici prilikom pranja i cijeđenja bilo spužve, bilo krpe, dolaze u doticaj sa svim bakterijama koje se nalaze u njima, preporučljivo bi bilo za brisanje školskih ploča koristiti krpe od mikrofibre s obzirom na bolju mogućnost njihovog ispiranja i sušenja nakon uporabe.

Ključne riječi: *školska spužva; krpa od mikrofibre; aerobne mezofilne bakterije; onečišćenje mikroorganizmima*

UVOD

Onečišćenje mikroorganizmima raznih površina u školi može predstavljati ozbiljnu prijetnju zdravlju učenika. Iako samo manji broj bakterija uzrokuje bolesti kod ljudi, u školama bi se trebala voditi briga o mogućim onečišćenjima, kako bi se spriječila pojava bolesti i očuvao zdrav okoliš (Wang, 2007).

Kod uzimanja mikrobioloških briseva s različitih površina, ruku i pribora najčešće se utvrđuje broj aerobnih mezofilnih bakterija, koji, ako je povećan, često upućuje na nedovoljno čišćenje, pranje i dezinfekciju. Aerobne mezofilne bakterije su one koje rastu i razmnožavaju se pri optimalnom rasponu temperature od 20° do 45°C (kod većine vrsta ona iznosi 37°C, što je ujedno i tjelesna temperatura ljudi), te uz prisutnost kisika (ZZJZDNZ, 1996). Razlog tomu je što bakterije aerobno disanje koriste za dobivanje energije iz oksidacijske fosforilacije (BiologyOnline, 2001). Najvažniji vanjski čimbenici koji pogoduju rastu i razmnožavanju mezofilnih bakterija su: temperatura (određena najnižom temperaturom ispod koje su stanice metabolički neaktivne i najvišom temperaturom iznad koje ne rastu), te relativna vlažnost, jer se mikroorganizmi bolje razmnožavaju pri povišenoj vlazi u okolišu (Gregić, 2014).

Jedan od zadataka učenika u školama, prvenstveno redara, je brisanje školske ploče spužvama i/ili krpama od mikrofibre. Erdogrul i Erbilir (2005) navode da su spužve i krpe za čišćenje prepoznate kao potencijalna sredstva kojima se lako šire mikroorganizmi te da oni dugo opstaju u njima. Krpe od mikrofibre jako su učinkovite pri čišćenju s obzirom na iznimna apsorbirajuća svojstva, pri čemu mogu ukloniti većinu bakterija (i do 99 %) s površina na kojima ih koristimo (Moore i Griffith, 2006). Spužve dobro apsorbiraju tekućinu, a zbog svoje debljine puno dulje zadržavaju vlagu (Erdogrul i Erbilir, 2005).

Autori zadržavaju autorska prava te časopisu daju pravo prvog objavljivanja rada u skladu s licencijom CC BY 4.0, koja dopušta drugima dijeljenje rada uz navođenje autorstva i izvornog mjesta objavljivanja rada u časopisu.

Na temelju dosadašnjih prikupljenih spoznaja nameće se pitanje o sigurnosti korištenja ta dva različita pomagala za brisanje školske ploče, tj. o tome sadrže li spužve ili krpe, kao mogući mediji za razmnožavanje mikroorganizama, veći broj bakterija nakon redovite uporabe. Različita istraživanja (Erdogrul i Erbilir, 2005; Dey i sur., 2020; Ramli i sur., 2020) pokazala su da su spužve, pogotovo one koje se koriste u kućanstvu, „leglo" velikog broja bakterija, zbog prisustva optimalnih uvjeta potrebnih za njihov rast i razmnožavanje (vlaga, ostaci hrane), dok se u drugim istraživanjima nastojao utvrditi samo broj bakterija u školskim prostorima (Karwowska, 2003; Bartlett i sur., 2004). U istraživanju NSFa (*engl. National Science Foundation*) nastojalo se analizirati na kojim je školskim površinama prisutan najveći broj bakterija (NSF, 1950).

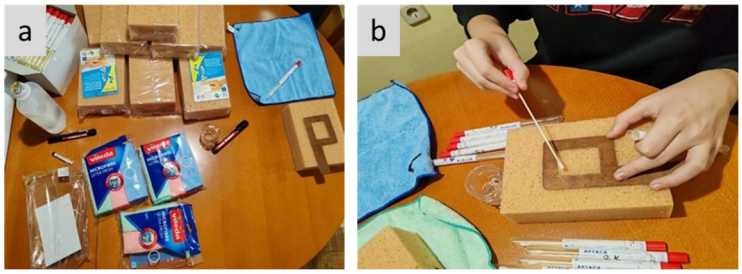
Cilj ovog istraživanja je utvrditi i usporediti broj aerobnih mezofilnih bakterija na spužvama i krpama od mikrofibre koje se koriste za brisanje školske ploče te predložiti što je od navedenog sigurnije koristiti u školama. Pri tome je pretpostavka da krpe od mikrofibre, koje su puno tanje i teže zadržavaju vlažnost od spužvi, nakon mjesec dana korištenja sadrže manji ukupni broj aerobnih mezofilnih bakterija od spužvi te su stoga i sigurnije za korištenje.

METODE RADA

Istraživački dio proveden je prema uobičajenoj metodologiji uzorkovanja tj. uzimanja briseva s površina te nasađivanja i brojanja aerobnih mezofilnih bakterija (Vučemilo i Tofant, 2009; Bešić i sur., 2023). Prikupljanje uzoraka i svaki daljnji korak rada u laboratoriju je samostalno proveden uz detaljne upute i nadzor djelatnika laboratorija.

Prikupljanje uzoraka

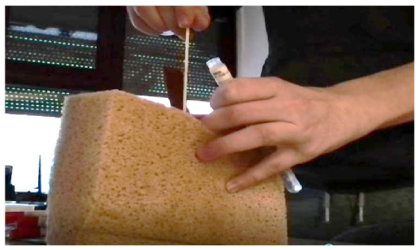
U 14 učionica osnovne osmogodišnje škole (gdje se održava mješovita nastava od petog do osmog razreda) raspoređeno je 7 novih (zapakiranih) spužvi i 7 novih krpa od mikrofibre za brisanje školskih ploča. Kako bi se što više smanjio utjecaj moguće razlike u intenzitetu korištenja spužvi i krpa, one su raspoređene u učionice s podjednakim opterećenjem s obzirom na kabinetsku nastavu, tj. po 2 spužve/krpe u učionicama gdje se u najvećoj mjeri održava nastava iz jezika, po 2 u učionicama za matematiku i fiziku, po 1 u učionicama za biologiju i kemiju, po 1 u učionicama za geografiju i povijest i po 1 u učionicama vjeronauka i tehničke kulture. U svim učionicama nalazila se tzv. „zelena ploča". Brisevi za određivanje broja bakterija uzeti su na dan kada su spužve i krpe bile otpakirane (slika 1) i stavljene u učionice, a zatim svakih sedam dana u razdoblju od 4 tjedna.



Slika 1 Priprema spužvi i krpa od mikrofibre za istraživanje (a) te prvotno uzimanje briseva nakon otpakiravanja (b)

S obzirom da su spužve veće debljine u odnosu na krpe od mikrofibre, brisevi spužvi su uzimani i s površine, i iz dubine, te su u tu svrhu skalpelom napravljeni bočni prorezi (5 cm duljine) do središta spužve. Brisevi su uzeti sterilnim vatenim štapićem, koji je prethodno uronjen u sterilnu fiziološku otopinu. Štapićem je prebrisana površina i središte spužvi te površina krpa korištenjem sterilne šablone (5×4 cm), nakon čega je isti vraćen u sterilnu epruvetu (slika 2). Brisevi su uzeti ujutro, prije početka

nastave, te su isti dan dopremljeni u laboratorij Zavoda za higijenu, ponašanje i dobrobit životinja Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.



Slika 2 Primjer uzimanja briseva iz sredine spužve

Nasađivanje uzoraka i brojanje bakterija

U laboratoriju je u svaku epruvetu s uzorkom uliveno 5 mL sterilne fiziološke otopine. Nakon pola sata stajanja, 1 mL uzorka otpipetiran je u sterilnu Petrijevu zdjelicu sterilnom pipetom (Vučemilo i Tofant, 2009). Potom se u Petrijevu zdjelicu nalio hranjivi agar (Nutrient agar, Biolife, Italija) (slika 3) za određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija, koji je prethodno otopljen i ohlađen na 45 °C. Hranjivi agar pripremljen je od strane djelatnika laboratorija.

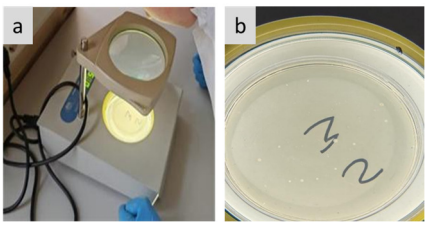


Slika 3 Pipetiranje i nasađivanje uzoraka u sterilnu Petrijevu zdjelicu

Petrijeve zdjelice su bile inkubirane u termostatu na 37 °C tijekom 48 sati (slika 4), nakon čega su izbrojane izrasle kolonije bakterija na aparatu Colony counter (Selecta, Spain) (slika 5).



Slika 4 Termostat za inkubaciju Petrijevih zdjelica s uzorcima nasađenim na hranjivi agar



Slika 5 Brojanje izraslih kolonija na Colony counter-u (a) te njihov vizualni prikaz (b)

Broj izraslih kolonija korišten je za izračun broja bakterija po cm^2 površine (CFU/cm^2 , *engl. Colony Forming Unit*) uz pomoć sljedeće formule: broj kolonija bakterija pomnoženo s 5 (zbog razrjeđenja uzorka) te podijeljeno s 20 (zbog površine Petrijeve zdjelice od 20 cm^2).

Obrada podataka

Broj bakterija po cm^2 (CFU/cm^2) na površini i u središtu spužve te na krpama od mikrofibre prikazan je tablično i grafički. Rezultati su prikazani kao prosječan broj bakterija na spužvama (površina i središte), odnosno krpama po danima istraživanja, te njihova najmanja i najveća zabilježena vrijednost. Za obradu i prikaz podataka korišten je program Excel.

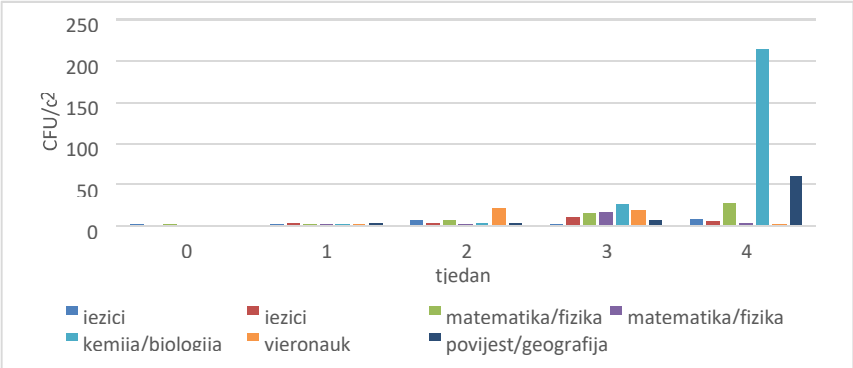
REZULTATI

Nakon uzimanja uzoraka, njihova nasađivanja i inkubacije, od svih su uspješno izbrojane izrasle kolonije (slika 6). Broj bakterija u svim uzorcima (nakon preračunavanja iz pobrojanog broja kolonija u svakom uzorku) prema vrsti pomagala za čišćenje (spužva - površina i središte te krpa) prikazani su na slikama od 7 do 9.



Slika 6 Brojanje i slikanje izraslih kolonija bakterija

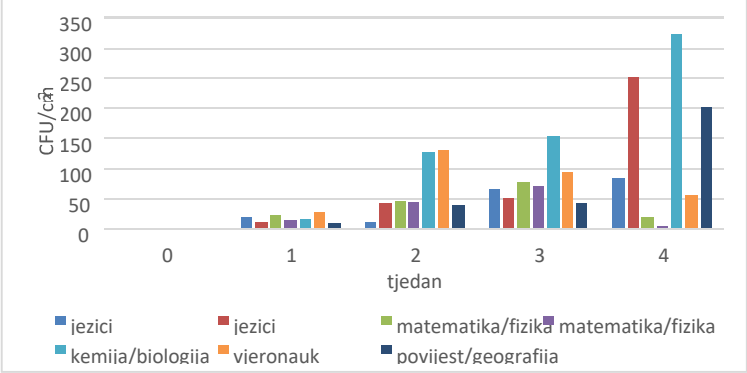
Promatrajući broj bakterija na površini spužvi (slika 7), opaženo je da je on uglavnom kontinuirano rastao s vremenom promatranja. No, u zadnjem tjednu je kod dijela uzoraka zabilježen manji broj bakterija.



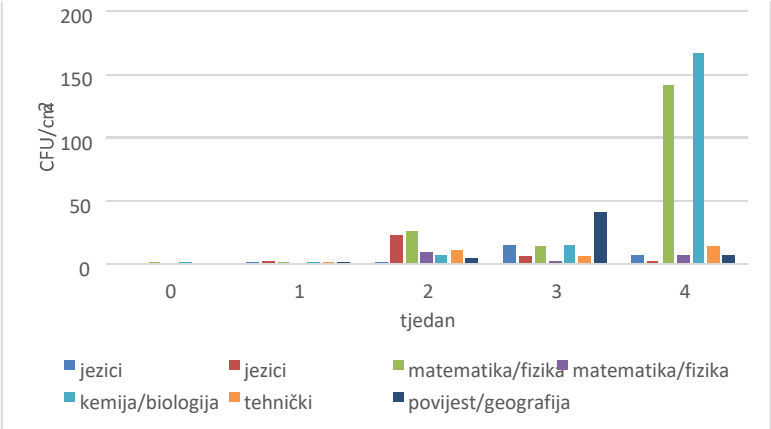
Slika 7 Broj bakterija po cm^2 na površinama spužvi u različitim učionicama kroz 4 tjedna mjerenja

U središtu svih spužvi obuhvaćenih promatranjem utvrđen je veći broj bakterija (slika 8) nego na njihovoj površini, te je on također u najvećoj mjeri kontinuirano rastao s vremenom promatranja.

Slično kao što je tijekom četiri tjedna istraživanja rastao broj aerobnih mezofilnih bakterija na površini i u sredini spužve, povećavao se i njihov broj na krpama od mikrofibre (slika 9).



Slika 8 Broj bakterija po cm² u središtu 7 spužvi u različitim učionicama kroz 4 tjedna mjerenja



Slika 9 Broj bakterija po cm² na površinama 7 krpa od mikrofibre u različitim učionicama kroz 4 tjedna mjerenja

Prosječne vrijednosti broja bakterija, najmanje i najviše vrijednosti, te njihovo kretanje kroz promatrano razdoblje (s obzirom na korišteno pomagalo za brisanje školske ploče) prikazani su u tablici 1.

Tablica 1 Prosječne vrijednosti broja bakterija, te najmanja i najveća vrijednost (CFU/cm²) utvrđena na površini krpe od mikrofibre te na površini i u središtu spužve

Sredstvo za brisanje	0-ti dan (1. mjerenje)	Na kraju 1. tjedna (2. mjerenje)	Na kraju 2. tjedna (3. mjerenje)	Na kraju 3. tjedna (4. mjerenje)	Na kraju 4. tjedna (5. mjerenje)
	prosječna vrijednost (min – maks) CFU/cm²	prosječna vrijednost (min – maks) CFU/cm²	prosječna vrijednost (min – maks) CFU/cm²	prosječna vrijednost (min – maks) CFU/cm²	prosječna vrijednost (min – maks) CFU/cm²
Krpa od mikrofibre	0,07 (0 - 0,25)	0,89 (0 - 2)	11,68 (1,75 - 26)	14,07 (3 - 41)	49.46 (2,5 - 166)
Spužva – površina	0,07 (0 - 0,25)	2,11 (0,75 - 3,75)	6,82 (2,75 - 21,5)	13,89 (2,5 - 25,5)	45.82 (2 - 214)
Spužva - sredina	0,07 (0 - 0,25)	17,21 (9 - 28)	63 (11,5 - 130)	78,64 (41 - 153)	134,54 (5,25 - 323)

Iz tablice 1 vidljivo je da na početku istraživanja (nakon otpakiravanja) većina spužvi i krpa nije imala prisutnih bakterija (samo je po jedna kolonija izbrojana nakon inkubacije na dvije spužve i dvije krpe, tj. na 28,6% pomagala za brisanje). Nakon tjedan dana korištenja na jednoj krpi od mikrofibre također još nije pronađena niti jedna aerobna mezofilna bakterija, dok je na površini spužve pronađeno najmanje 0,75 CFU/cm², a u njenoj dubini 9 CFU/cm². Razlika je zabilježena i u najvećem broju bakterija koje su izbrojane nakon tjedan dana – na površini krpe 2, na površini spužve 3,75, a u dubini spužve čak 28 CFU/cm². Slično je kretanje zabilježeno i u daljnjim razdobljima (u dubini spužve je uvijek bio najveći

broj bakterija, kako prosječni, tako i maksimalni), dok između površine krpa i površine spužva nije bilo većih razlika. Na kraju četverotjednog razdoblja istraživanja maksimalni broj bakterija na krpama iznosio je 166, na površini spužve 214, a u sredini spužve 323 CFU/cm^2.

RASPRAVA

U dostupnoj literaturi do sada nisu objavljeni rezultati koji bi obuhvaćali analizu broja bakterija u spužvama ili krpama od mikrofibre koje se koriste za brisanje školske ploče.

U našem su istraživanju i spužve i krpe od mikrofibre nakon otpakiravanja i pri stavljanju u učionice uglavnom bile bez bakterija (prosječna vrijednost kod svih 0,07 CFU/cm^2) da bi njihov broj rastao s duljinom uporabe kao sredstva za brisanje. Tako je na kraju razdoblja promatranja (nakon četiri tjedna) prosječan broj bakterija na krpama iznosio 49,46 CFU/cm^2, a na površini spužvi 45,82 CFU/cm^2. Od samog početka korištenja spužvi zabilježen je znatno veći broj bakterija u njihovom središtu, koji je ubrzano rastao s vremenom te je na kraju razdoblja promatranja iznosio 134,54 CFU/cm^2. Navedeno se može objasniti samom građom i svojstvima spužve. Pošto je ona porozna, na površini se vrlo brzo suši i time ne predstavlja tako povoljne uvjete za razvoj aerobnih mezofilnih bakterija kojima je, osim povoljne temperature zraka, neophodna i vlaga za razmnožavanje, a time je vrlo slična površini krpe od mikrofibre. Za razliku od toga, unutrašnjost spužve je dovoljno topla, a uz to i odlično zadržava vlagu (Erdogrul i Erbilir, 2005; Dey i sur., 2020; Ramli i sur., 2020). Uz to, učenici često samo „brzinski“ operu spužve, čime se vjerojatno i ukloni dio bakterija s površine, no ne peru je dovoljno dobro da bi se detaljnije isprala njezina unutrašnjost. Iz tog je razloga zabilježen višestruko veći prosječni broj bakterija u središtu spužve, u odnosu na površinu (od 3 do 9 puta više).

U svom radu Erdogrul i Erbilir (2005), promatrajući broj bakterija u kuhinjskim spužvama, navode da je broj aerobnih mezofilnih bakterija nakon jednog tjedna (7. dan) iznosio 5,8 CFU/cm^2. Prosječne vrijednosti zabilježene sedmog dana korištenja sredstva za brisanje školske ploče u našem su istraživanju bile 0,89 CFU/cm^2 (krpe od mikrofibre), 2,11 CFU/cm^2 (površina spužvi) i 17,21 CFU/cm^2 (u sredini spužvi).

U istraživanju NSF-a (1950), koji je suradnički centar Svjetske zdravstvene organizacije (*engl. World Health Organisation*, WHO), nastojalo se analizirati na kojim je površinama najveći broj bakterija u školama. Tako se raspon broja bakterija na analiziranim površinama kretao od 186 CFU/cm^2 na rukama učenika te površini kaveza za laboratorijske životinje do čak 418500 CFU/cm^2 na površini pipe (fontane) iz koje su učenici pili vodu. U istom istraživanju, utvrđeni broj bakterija na površini školske ploče bio je 511,5 CFU/cm^2 (NSF, 1950). Navedeni rezultati opisanih istraživanja prikazuju moguće izvore kontaminacije bakterijama pri korištenju spužvi i krpa za brisanje različitih površina.

U on-line provedenoj mini anketi od strane profesorice biologije (Konjuh Reljić, 2024, pers. comm.), a kojom je obuhvaćena analiza učestalosti uporabe krpa od mikrofibre za brisanje školskih ploča u ukupno 25 škola (17 osnovnih i 8 srednjih škola) iz različitih dijelova Hrvatske, dobiveni su sljedeći rezultati: u 44 % anketiranih škola krpa od mikrofibre se nije upotrebljavala, dok je u preostalih 56 % škola prosječna zastupljenost uporabe krpa od mikrofibre za brisanje školskih ploča bila u 55 % učionica (u rasponu od 8 do 100 %). Pri tome je zanimljivo istaknuti da su se u tim školama krpe od mikrofibre većinom koristile za brisanje „bijelih ploča“ (ili su one brisane specijalnim spužvicama koje imaju plastični držak), dok su za „zelene ploče“ u najvećoj mjeri korištene spužve. U ovoj školi, koja je bila obuhvaćena istraživanjem, krpe od mikrofibre se ranije nisu upotrebljavale za brisanje školske ploče (Konjuh Reljić, 2024, pers. comm.). U opisanoj školi se nalazi 40 učionica: 30 sa „zelenim pločama“ (koje

su se brisale klasičnim školskim spužvama) te 10 učionica s „bijelim pločama“ (za koje su upotrebljavane specijalne spužvice). Na osnovu prikupljenih rezultata ovog istraživanja i usporedbe kretanja broja aerobnih mezofilnih bakterija u različitim pomagalima koja se u školama upotrebljavaju za brisanje školskih ploča, kao i na temelju istraživanja (Erdogrul i Erbilir, 2005; Dey i sur., 2020; Ramli i sur., 2020) koja analiziraju brojnost bakterija u spužvama korištenih u druge svrhe (za brisanje radnih površina u kućanstvu i sl.), bilo bi dobro razmotriti mogućnost prezentacije prednosti korištenja krpa od mikrofibre za brisanje školskih ploča, radi smanjenja potencijalnih izvora širenja bakterija.

ZAKLJUČCI

Nakon provedenog istraživanja i analize rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Oba sredstva za brisanje školske ploče – i spužve i krpe od mikrofibre sadrže mezofilne aerobne bakterije. Pri tome je broj bakterija tijekom promatranog razdoblja bio manji na krpama od mikrofibre nego u središtu spužve.
- Na kraju četverotjednog istraživanja, broj bakterija u središtu spužve bio je skoro trostruko veći nego na krpama od mikrofibre (134,54 CFU/cm^2 u središtu spužve, a 49,46 CFU/cm^2 na površini krpa od mikrofibre).
- Kod uzimanja uzoraka sa spužvi, neophodno je osim površinskog uzorka uzeti i dubinski (iz sredine), jer se površina brzo suši na zraku, a aerobne bakterije se u većem broju umnažaju u središtu koje zadržava vlagu, te učenici kod cijeđenja spužvi dolaze u doticaj s njima.
- Preporučljivo bi bilo za brisanje školskih ploča koristiti krpe od mikrofibre, s obzirom na jednostavnost pranja/ispiranja te bolju mogućnost cijeđenja i sušenja nakon uporabe. Na taj način bi se mogao smanjiti broj bakterija s kojima učenici (redari) dolaze u doticaj.

LITERATURA

Bartlett K. H., Kennedy S. M., Brauer M., van Netten C., Dill B. 2004. Evaluation and determinants of airborne bacterial concentrations in school classrooms. Journal of Occupational and Environmental Hygiene 1: 639–647.

Bešić A., Hrapović E., Čaklovica K. 2023. Uvod u metodologiju uzorkovanja. Metodologija uzorkovanja u okolišu. Sveučilište / Univerzitet „VITEZ“, Travnik, str. 17–78.

BiologyOnline 2001. Aerobic bacteria. Dictionary, https://www.biologyonline.com/dictionary/aerobic-bacteria, pristupljeno 19.11.2023.

Dey N., Farjees Fathima A., Shafinaz Filwa S., Sowjenya M. 2020. Microbial evaluation of domestic kitchen sponge. International Journal of Advanced Research in Engineering and Technology (IJARET) 11: 657–663.

Erdogrul O., Erbilir F. 2005. Microorganisms in Kitchen Sponges. Journal of Food Safety 6: 17–22.

Gregić Z. 2014. Bakterije kao najčešći uzročnici kvarenja namirnica biljnog i životinjskog podrijetla. Završni rad. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, str. 1–5.

Karwowska E. 2003. Microbiological air contamination in some educational settings. Polish Journal of Enviromental Studies 12: 181–185.

Moore G., Griffith C. 2006. A laboratory evaluation of the decontamination properties of microfibre cloths. Journal of Hospital Infection 64: 379–385.

NSF. 1950. Germiest Places at School, https://www.nsf.org/blog/consumer/germiest-places-schools, pristupljeno 16.2.2024.

Ramli P. R., Syakira Salman H., Sariza Sazari L. N., Azmi A. 2020. Evaluating microbiological quality of kitchen equipment in school canteens. Health Scope 3: 49–53.

Vučemilo M., Tofant A. 2009. Sanitacija. Praktikum – Okoliš i higijena držanja životinja. Naklada Slap, Jastrebarsko, str. 119–146.

Wang Z. 2007. Potential pathogens in the school environment. Journal of Student Research, https://minds.wisconsin.edu/bitstream/handle/1793/52929/Pathogens.pdf?sequence=1&isAllowed=y, pristupljeno 12.12.2003.

ZZJZDNZ. 1996. Aerobne mezofilne bakterije. Rječnik pojmova, https://www.zzjzdnz.hr/hr/o-nama/rjecnik-pojmova/960, pristupljeno 19.11.2023.