
	<p><b>Unverzitet u Novom Sadu</b></p> <p><b>Prirodno-matematički fakultet</b>  <b>Departman za biologiju i ekologiju</b></p> <p><b>Katedra za mikrobiologiju</b>  <b>Trg D. Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija</b>  <b>Tel: +381-21- 4852682 Faks: +381-21-450-620</b></p>	
---	--	---

Naš broj:01KN-2017

**Predmet: Rezultati preliminarnih istraživanja i metodologija ispitivanja vazduha i istorijske građe na prisustvo plesni**

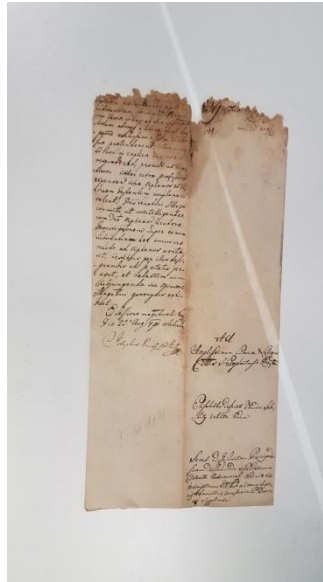
Predmet ispitivanja je istorijska građa koja se nalazi u depoima Istorijskog Arhiva Grada Novog Sada. Arhivska građa fondova i zbirke Istorijskog arhiva dostupna je svim potencijalnim korisnicima (građanima) direktno putem čitaonice Arhiva, kao i indirektno kada se po zahtevima pravnih i fizičkih lica, na osnovu Zakona o kulturnim dobrima, Zakona o opštem upravnom postupku, kao i na osnovu drugih propisa izdaju uverenja, potvrde o činjenicama sadržanim u arhivskoj građi, ili se izdaju overene kopije dokumenata. Pored toga, česti su i zahtevi Fonda za PIOZ, koji se odnose na radni staž i zaradu a u cilju regulisanja penzije građana, kao i na građevinsku dokumentaciju (građevinske dozvole, upotrebne dozvole, rešenja o lokaciji, projekti itd.). Ipak, veliki nedostatak čini nemogućnost praćenja i uticanja na mikro-klimatske uslove u prostorijama Istorijskog Arhiva gde je građa deponovana, kao što su temperatura, vlažnost vazduha i ostalo. U depoima se čuva građa u količini 4409,71 m<sup>3</sup>, koju čine 797 sređenih fondova i preuzet materijal 1 fonda koji se nalaze u postupku obrade i sređivanja (<http://www.arhivns.rs/lat/06koriscenje.html>).

Cilj ovog ispitivanja je da se utvrdi stanje vazduha i arhivske građe koja se koristi u administrativne i privatno-pravne svrhe na prisustvo plesni koje su česti kontaminatni materijala od papira, a posebno nakon neadekvatnog čuvanja građe koja je bila pod uticajem vlage ili u uslovima variranja temperature koje doprinose intenzivnom razvoju mikroorganizama kao i pod uticajem velikog broja korisnika (ljudi). Posebno su analizirani delovi građe koji su imali vidljive promene na svojoj površini – promenu boje papira, teksture ili vidljive fleke različitih boja ili konzistencije (Sl. 1, 2).



**Slika 1a, 1b, 1c.** Uzorak knjiga i spisa za analizu - uzorci "oštećene" arhivske građe

Za potrebe ispitivanja korišćene su standardne eksperimentalne mikrobiološke metode sedimentacije i zasejavanja sterilnim brisevima radi utvrđivanja stanja i brojnosti plesni poreklom iz vazduha i sa površine različite papirne građe (zapisi i dokumenti, knjige i kartoteke o evidenciji tih zapisa).



**Slika 2a, 2b, 2c, 2d.** - izgled raznolike "oštećene" arhivske građe koja je uzorkovana na prisustvo plesni

Nakon obilaska depoa, obavljeno je uzorkovanje mikroorganizama (m.o.) sa površine oštećenog papira, nakon čega je procenjeno kvalitativno i kvantitativno stanje materijala na prisustvo plesni u cilju njihove preliminarne identifikacije i određivanja njihove ukupne brojnosti (SI 3-5).



**Slika 3a, 3b.** Postupak analize - uzimanje briseva sa površine koja je zagađena plesnima

Vremenski period preliminarnog ispitivanja je bio 10 dana (početkom novembra meseca) i podrazumevao je uzorkovanje, kultivaciju u mikrobiološkoj laboratoriji i preliminarnu identifikaciju m.o. (praćenjem rasta na Petri pločama i mikroskopskim analizama) koji egzistiraju u unutrašnjem prostoru zbirki i vazдушnom prostoru u depoima Istorijskog Arhiva.

Mikrobiološke analize tj. uzorkovanje plesni sa površine ili unutrašnjosti papirne građe ili uzorkovanje vazduha vršene su pomoću sterilnih plastičnih Petri-ploča (d=6 cm) sa medijumima za gljive (Sladni agar, Torlak, Srbija). Petri ploče su sterilne i sadrže mikrobiološke medijume na kojima se nakon eksponiranja vazduha tokom 15-20 min direktno ili nakon zasejavanja uočavaju kolonije plesni. Petri ploče sa tzv. neselektivnim podlogama nakon sedimentacije iz vazduha unose se sa ciljem da detektuju maksimalnu brojnost prisutnih mikroorganizama i predstavljale su "mamce" za spore plesni.

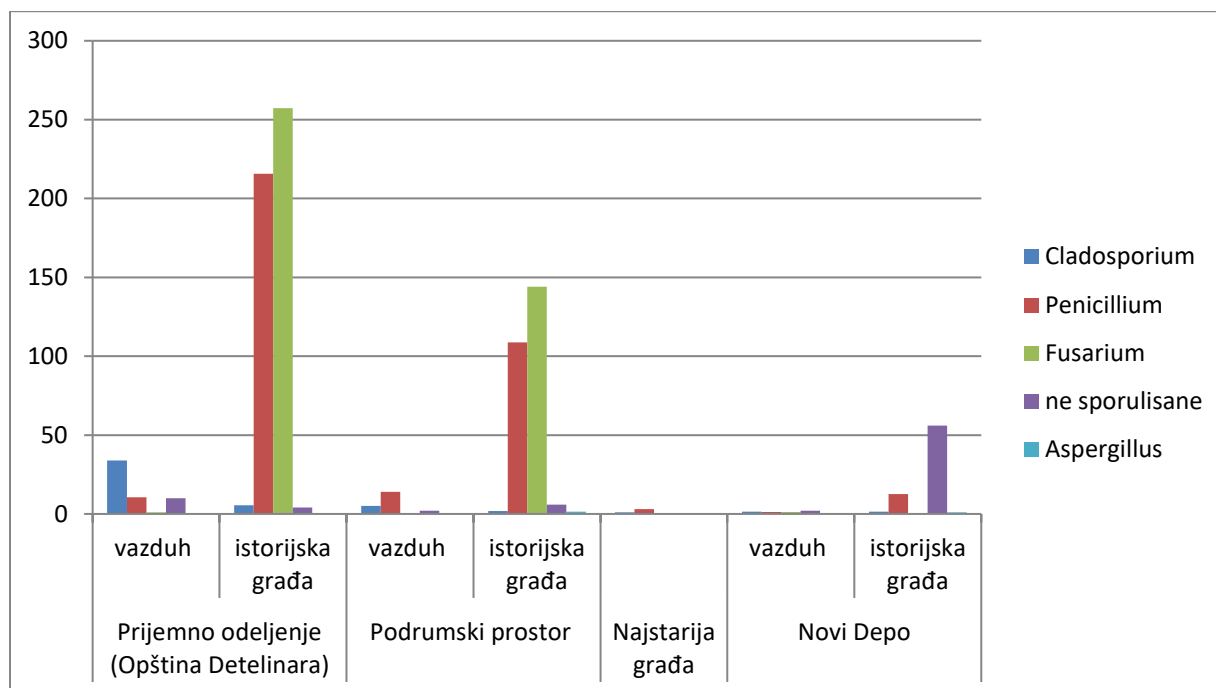
Nakon uzorkovanja, Petri-ploče su zatvorene i prenesene u ručnom frižideru na Departman za biologiju i ekologiju. Pod sterilnim uslovima prebačene su u termostate u mikrobiološkoj laboratoriji koji obezbeđuju konstantnu temperaturu vazduha i pri kojem se nakon perioda inkubacije od 72-96 h na temperaturi od 26-28°C očekuje pojavljivanje plesni poreklom iz vazduha tokom eksponiranja, kao i sa briseva uzetih sa površine papirne građe.

Nakon inkubacije u trajanju od 5-7 dana urađena je prva procena prisustva plesni sa istorijske građe koju je neophodno uraditi kako radi procene bezbednosti zaposlenih u Istorijskom Arhivu, koji su u stalnom i direktnom kontaktu sa takvim materijalom prilikom manipulacije radi evidentiranja, selekcije i daljeg procesuiranja, tako i radi bezbednosti građanstva koje može doći u kontakt sa originalnim dokumentima koji su oštećeni i opasni po zdravlje ili preko vazduha koji je zagađen velikom brojnošću spora gljiva.

Gljive su sveprisutni mikroorganizmi poznati kao važni biokompetenti unutrašnjeg prostora (A y d o g d u i A s a n, 2008). Njihove spore se lako oslobađaju u vazduhu i mogu uzrokovati različite zdravstvene probleme kod ljudi, kao što su: iritacije, infekcije, alergije i toksikoze usled sposobnosti produkcije mikotoksina (M e n e r e z i F o a r d e, 2004). Najčešći izvori vazдушnih gljivičnih čestica u zatvorenom prostoru su spoljni vazduh i rast gljiva podstaknut povoljnim uslovima okruženja (vlažnost, visoka temperatura i prisustvo organskih i neorganskih supstrata) (P e s s i e t a l., 2000, L i a o e t a l., 2004). Predviđenom metodologijom ispitivanja upoređeno je kvalitativno i kvantitativno prisustvo plesni na površini i unutrašnjosti različitog istorijskog materijala (knjige, zapisi, spisi) kao i u vazдушnom prostoru depoa koji su obuhvatili 3 odvojena prostora (prijemno odeljenje, podrumski prostor, i Novi Depo sa posebno izdvojenim prostorom gde se nalazi najstarija građa).

Na osnovu preliminarnih rezultata (Slika 1) jasno se uočava da je najopterećenije plesnima prijemno odeljenje, potom podrumski prostor i tek na kraju novi depo, što je bilo i za očekivati s obzirom na činjenicu da je prema našim saznanjima do sada dozvoljen unos građe koja prethodno nije tretirana tj. isčišćena od ranijih zagađenja. Pri ovome, treba posebno obratiti pažnju na činjenicu da je istorijska građa najopterećenija samim plesnima što znači da predstavlja osnovni izvor ovih plesni u unutrašnjem prostoru, koji se dalje širi po vazduhu i potencijalno ugrožava ljude koji su u direktnom kontaktu sa takvim materijalom, kao i samu novounetu građu koja prethodno nije zagađena i rasipa se i dalje po prostoru unutar same zgrade.

Grafikon 1. Preliminarni rezultati ukupne brojnosti plesni u analiziranim prostorima Istorijskog arhiva grada Novog Sada



Na ovaj način može se proceniti opasnost od uticaja identifikovanih plesni na zdravlje ljudi koje posebno može biti opasna za ljude koji su imunokompromitovani (hronični bolesnici ili ljudi koji su pod stalnim uticajem plesni i njihovog delovanja). Pored toga, na osnovu ovih analiza može se proceniti trenutno i pretpostaviti buduće stanje same istorijske građe pošto veliki broj plesni ima sposobnost celulolitičke aktivnosti. Takva enzimska aktivnost plesni uništava sam papir koji je podložan uticaju gljiva posebno pod uticajem povećane vlage i varijabilne temperature. Na osnovu preliminarnih rezultata (Graf. 1) najstarija građa je za sada u najboljem stanju u okviru Novog Depoa, ali je posebno ugrožena prijemna građa i na osnovu naših rezultata trebalo bi je zaštititi pre samog ulaza u prostor istorijskog Arhiva pošto će brže propadati pod uticajem ogromne brojnosti plesni na njima, ali će takođe dalje kontaminirati već postojeću deponovanu arhivu.

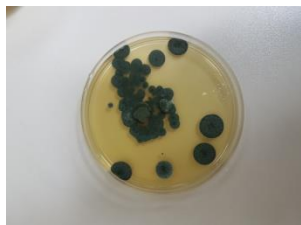
Prisutnost spora gljiva u depoima i papirnoj građi Istorijskog arhiva može uticati na zdravlje osoblja. Rezultati našeg istraživanja pokazali su značajnu prisutnost živih spora gljiva u vazduhu ispitanih prostorija, stoga su potrebna dalja, detaljnija istraživanja. Sezonski nadzor vazduha gljivičnih spora i primena tačnijeg kvantitativnog uzorkovanja (upotreba uzorkivača vakuuma / kulture) pružila bi detaljniju analizu tj. uvid u kvalitet vazduha u zatvorenom prostoru. Informacije dobijene takvim studijama su potrebne za procenu faktora koji ugrožavaju zdravlje, medicinsku procenu i zdravstveno stanje osoblja, kao i za sprovođenje sanacionih postupaka (klasičnim ili alternativnim agensima).

Udisanje ili dodirivanje plesni ili spora plesni mogu uzrokovati alergijske reakcije kod osetljivih pojedinaca pri čemu sve plesni mogu izazvati zdravstvene probleme. Plesni mogu proizvesti

alergene koji mogu izazvati alergijske reakcije ili čak napade astme kod ljudi alergičnih na plesan. Alergijski odgovori uključuju simptome tipa groznice, kao što su kijanje, curenje nosa, crvene oči i osip kože (dermatitis). Alergijske reakcije na plesan su uobičajene i mogu biti neposredne ili odložene. Osim toga, izlaganje plesni može iritirati oči, kožu, nos, grlo i pluća kako kod alergičnih, tako i kod nealergičnih ljudi. Neke studije o izloženosti ljudi zagađivačima vazduha pokazuju da nivo zagađenja unutrašnjeg vazduha može biti 2-5 puta, a ponekad i više od 100 puta veća od spoljašnjih zagađenja, što je od posebnog značaja za depoe i arhive koje sakupljaju istorijsku građu koja je zbog starosti odavno pod uticajem različitih faktora sredine. Smatra se da je čak 94% svih respiratornih bolesti prouzrokovano zagađenim vazduhom. Neka istraživanja pokazala su da metabolički gasovi koji se emituju iz plesni mogu biti značajan izvor isparljivih organskih jedinjenja (volatile organic compounds - VOC) u vazduhu koji mogu prouzrokovati probleme vazduha u zatvorenom prostoru. Plesni i druge gljive koje rastu i žive unutar zgrada mogu biti izvor problema s unutrašnjim vazduhom poznatima kao "*sindrom bolesnih zgrada*". Istraživanja ukazuju da bi mere kontrole propisane za "bolesne zgrade" trebale biti izmenjene kako bi se rešili problemi vezani za mikroorganizme, a posebno plesni.

Pojedinačne osobine plesni koje su izlovene i deponovane u kolekciji kultura Fungi Cult date su u daljem tekstu i pojašnjavaju njihove biološke karakteristike kao i same rizike po zdravlje ljudi koji se sa njima svakodnevno susreću.

### **Cladosporium**



*Cladosporium* je veoma česta plesan koja se nalazi u umerenim klimatskim zonama poreklom iz različitih vrsta zemljišta i biljnog smeća; enzimi plesni razgrađuju celulozu, pektin i lignin koji su glavni sastojci lišća kao i papira. U unutrašnjim prostorima se *Cladosporium* može naći u prljavim hladnjacima, kondenzatorskim spremnicima, vlažnim prozorima na bilo kojoj vlažnoj, poroznoj površini.

**Slika 4.** *Cladosporium* sp.

*Cladosporium* često obezbojava papir za crtanje ili tekstil koji je pohranjen u vlažnom okruženju. Sposobnost da brzo i jako sporuliše, čini *Cladosporium* najčešćim alergenom respiratornog puta povezan s astmom i polenskom groznicom, a kod imunokompromitovanih osoba može uzrokovati ozbiljnije bolesti.

### **Penicillium sp.**



Spore *Penicillium* sadrže mikotoksine odgovorne za izazivanje različitih alergijskih simptoma i bolesti. Mikotoksini su metaboliti koji su najviše skoncentrisani u sporama, ali takođe se prenose u aktivno rastuće hife. U normalnim okolnostima, unutrašnja koncentracija spora je uopšte dovoljno niska da ne izaziva imunološki odgovor osim kod ljudi koji su osjetljivi na specifične mikotoksine ili im je imunološki sistem oslabljen.

**Slika 5.** *Penicillium* sp.

Mikotoksini mogu izazvati niz kratkoročnih, kao i dugotrajnih bolesti. Simptomi usled izloženosti mikotoksinu uključuju ili menjaju imunološku funkciju, što može dovesti do oportunističkih infekcija.

### **Alternaria sp.**

*Alternaria* je vrlo uobičajena gljiva koja raste na drvetu koje propada, u kompostima, na biljkama i hrani, kao i u različitim vrstama tla. Široko je rasprostranjena u vazduhu, a u umerenim klimatskim uslovima brojnost konidija (spora) dosežu vrhunac krajem leta. U zatvorenom prostoru može se nalaziti u prašini i tepihu, na vlažnim mestima, oko tuševa i okvira prozora i gotovo bilo kojem području gde postoji kondenzacija.

*Alternaria* je značajan alergen, a najčešće uzrokuju neposredno posredovanu alergijsku reakciju, međutim, došlo je do slučajeva preosjetljivosti pneumonitisa nakon dugotrajnog izlaganja spora *Alternaria*, iako je ozbiljnija infekcija veoma retka.

### **Aspergillus sp.**



**Slika 6.** *Aspergillus niger*

Postoji više od 160 vrsta *Aspergillus*, od kojih je 16 dokazano kao etiološka sredstva ljudske bolesti. One su među najčešćim skupinama ekoloških gljiva. Mnoge vrste su izolirane iz različitih supstrata, uključujući žitarice, orasi, pamuk, organski otpad i oštećene vode, organski građevinski materijali. Najčešći oportunistički *Aspergillus* patogen je *A. fumigatus* i najčešće se vidi u raspadanju organskih materija. *Aspergillus fumigatus* i *A. niger* su najopasnije vrste *Aspergillus* grupe.



**Slika 7.** *Aspergillus* sp.

*Aspergillus* može uzrokovati zdravstvene rizike kada je povišena koncentracija spora i uključuje glavobolje, iritaciju očiju i kože, pogoršanje astme kod postojećih respiratornih stanja, druge tipične alergijske simptome i preosjetljivost pneumonitisa koje mogu biti podstaknute čak i minimalnom izloženosti, a posebno kod ljudi koji imaju postojeću osjetljivost. *Aspergillus* može veoma uspešno da sporuliše u zatvorenom prostoru kada su uslovi povoljni što dovodi do povećanja broja spora, a time i koncentracije mikotoksina koje mogu biti štetne.

### **Fusarium sp.**

*Fusarium* vrste su gljivice tla i imaju široku distribuciju. Mnogi su biljni patogeni, ali ima i patogena za ljude i druge životinje koje uzrokuju mikotične infekcije posebno kod žrtava spaljivanja i transplantiranih bolesnika.

U toku je formiranje kolekcije kultura plesni koje su izolovane sa građe Istorijskog Arhiva grada Novog Sada koje će biti deponovane kao autohtoni izolati u okviru FungiCult kolekcije kultura na Katedri za mikrobiologiju pod supervizijom dr Maje Karaman, vanrednog profesora PMF iz Novog Sada. One će dalje služiti za proveru uticaja antimikrobne aktivnosti nekih konvencionalnih i alternativnih izvora antimikrobnih agenasa na izolovane plesni u budućim

istraživanjima radi procene najefikasnijih agenasa u procesima sanacije zagađene i oštećene istorijske građe saciljem očuvanja kulturnog nasleđa.

Nakon svih preliminarnih rezultata prikazanih u okviru ovog izveštaja predlažemo dalje analize:

- detaljna mikroskopska identifikacija gljiva
- molekularna analiza gljiva po potrebi za gljive koje su nedetrminisane ili su sumnjive prema analizi klasičnim postupcima
- primena skening elektronske mikroskopije - SEM radi detaljne analize celulolitičkih gljiva snimanjem samog papira sa uočenim simptomima oštećenja radi preciznije identifikacije gljiva i procene rizika po građu od aktivnosti celulolitičkih gljiva
- predlog primene konvencionlanih – (timol) i alternativnih tretmana – (jonske tečnosti) u okviru pilot projekta na samom materijalu koji je ugrožen
- predlog pripreme međunarodnog projekta koji bi se finansirao sredstvima Evropske unije

Reference:

- A y d o g d u, H., A s a n, A. (2008): Airborne fungi in child day care centers in Edime city, Turkey. Environmental Monitoring and Assessment 147: 423-444.
- M e n e t r e z, M. Y., F o a r d e, K. K. (2004): Emission exposure model for the transport of toxic mold. Indoor and Built Environment 13:75–82.
- P e s s i, A. M., S u o n k e t o, J., P e n t t i, M., K u r k i l a h t i, M., R a n t i o – L e h t i m a k i, A. (2000): Microbial growth in insulation of external walls: modeling the indoor air biocontamination sources. Proceedings of Healthy Buildings 3:295–300.
- L i a o, C. M., L u o, W. C., C h e n, S. C., C h e n, J. W., L i a n g, H. M. (2004): Temporal/ seasonal-variations of size-dependent airborne fungi indoor/outdoor relationship for a wind-induced naturally ventilated airspace. Atmospheric Environment 38:4415–4419.
- <http://www.arhivns.rs/lat/06koriscenje.html>
- [http://www.envirotestlab.com/mold\\_test\\_inspection.html](http://www.envirotestlab.com/mold_test_inspection.html)

*U Novom Sadu*  
*21.12.2017.*

*dr Maja Karaman*



*vanr. profesor*