

»54. Srečanje mladih raziskovalcev Slovenije 2020«

Mikroorganizmi na mobilnih telefonih srednješolcev

Raziskovalno področje: Biologija

Raziskovalna naloga

Avtor: LARA REČNIK

Mentor: KATJA HOLNTHANER ZOREC, TAMARA ŠIŠKO

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Maribor, februar 2020

»54. Srečanje mladih raziskovalcev Slovenije 2020«

Mikroorganizmi na mobilnih telefonih srednješolcev

Raziskovalno področje: Biologija

Raziskovalna naloga

Maribor, februar 2020

POVZETEK

Mobilni telefoni so najpogosteje uporabljane elektronske naprave na svetu, ki jih imamo v svojih rokah tudi po nekaj ur na dan in tako predstavljajo odličen vektor za prenos patogenih in nepatogenih mikroorganizmov. Namen našega raziskovalnega dela je dokazati, da so mobilni telefoni dijakov kontaminirani z mikroorganizmi. S pomočjo brisov s površin telefonov smo dokazali prisotnost mikroorganizmov na vseh testiranih telefonih, na nekaterih telefonih pa tudi prisotnost koliformnih bakterij. Opravili smo anketo, v kateri so nas zanimale higienske navade srednješolcev in njihov splošni vzorci uporabe mobilnih telefonov. Ugotovili smo statistično pomembno povezavo med higieno rok in kontaminacijo telefonov. Preizkusili smo tudi, katera dezinfekcijska sredstva delujejo učinkovito na mikroorganizme, izolirane s telefonov. Z zaključki raziskovalne naloge želimo spodbuditi uporabnike mobilnih telefonov, da so pozornejši na svoje higienske navade in tako bolje pazijo na svoje zdravje.

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	3
1. UVOD	9
1.1. Raziskovalna vprašanja	11
1.2. Hipoteze.....	11
2. TEORETIČNO OZADJE	13
2.1. Bakterijske vrste	13
2.1.1. Mikroorganizmi kože	13
2.1.2. Fekalne kolibakterije	15
2.1.3. Fekalni streptokoki	17
2.2. Pregled dosedanjih raziskav	18
2.3. Dezinfekcijska sredstva	21
2.3.1. Sveta bazilika ali Tulsi (<i>Ocimum tenuiflorum</i>)	22
2.4. Uporabljene metode dela	23
2.4.1. Metoda z reagentom Colilert – 18.....	23
2.4.2. Metoda difuzije na trdnem gojišču.....	24
2.4.3. Metoda štetja bakterij v vzorcu	25
3. METODE IN MATERIALI.....	26
3.1. Seznam materialov	26
3.1.1. Zaščitna oprema	26
3.1.2. Kemikalije	26
3.1.3. Laboratorijski pribor	27
3.1.4. Laboratorijske aparature.....	27
3.2. Delovne metode	28
3.2.1. Anketiranje	28
3.2.2. Priprava gojišč.....	29
3.2.3. Odvzem brisov z mobilnih telefonov	31
3.2.4. Priprava rastlinskega ekstrakta.....	31
3.2.5. Metoda difuzije na trdnem gojišču.....	32
3.2.6. Metoda za dokazovanje koliformnih bakterij.....	33

3.2.7.	Barvanje po Gramu	33
3.2.8.	Metoda določanja morfologije bakterijskih kolonij	34
3.2.9.	Statistična obdelava podatkov	35
4.	REZULTATI.....	36
4.1.	Rezultati spletne ankete	36
4.2.	Rezultati eksperimenta	39
4.2.1.	Rezultati eksperimentalne ankete	39
4.2.2.	Ovrednotenje izolatov mikroorganizmov.....	40
4.2.3.	Kontaminiranost mobilnih telefonov po uporabi dezinfekcijskih sredstev.....	43
4.2.4.	Metoda difuzije na trdem gojišču.....	44
4.2.5.	Dokazovanje koliformnih bakterij	45
4.2.6.	Barvanje po Gramu	47
4.2.7.	Kvalitativna metoda določanja morfologije bakterijskih kolonij.....	48
5.	RAZPRAVA	58
5.1.	Vrednotenje metod in možne izboljšave	63
6.	DRUŽBENA ODGOVORNOST	65
7.	ZAKLJUČEK	67
8.	ZAHVALA	68
9.	VIRI IN LITERATURA	69
10.	PRILOGE.....	72
10.1.	Priloga 1: Anketa	72
10.2.	Priloga 2: Rezultati spletne ankete	73
10.3.	Priloga 3: Rezultati eksperimentalnega dela	77

KAZALO SLIK

Slika 1: <i>Staphylococcus aureus</i> na krvnem agarju (vir: A photographic atlas for the microbiology laboratory, 2019)	13
Slika 2: Tulsi - <i>Ocimum tenuiflorum</i> (vir: Enciclopedia Britanica, 2019)	22
Slika 3: Reakcija med koliformom in ONPG (vir: idexx.com, 2019)	26
Slika 4: Reakcija med <i>E.coli</i> in MUG (vir: idexx.com, 2019)	23
Slika 5: Shematski prikaz difuzijskega antibiograma – difuzije na trdnem gojišču (lastni vir, 2020).....	24
Slika 6: Inhibicijske cone po Asepsolu (lastni vir,2019)	25
Slika 7: Sveže nalito gojišče v petrijevkah (lastni vir, 2019).....	30
Slika 8: Shema postopka v obliki hodograma (lastni vir, 2019)	31
Slika 9: Razmaz kulture za določanje števila števila mikroorganizmov (lastni vir, 2019)	35
Slika 10: Gojišče za dokazovanje koliformnih bakterij (lastni vir, 2019)	32
Slika 11: Morfološke značilnosti bakterijskih kolonij (Holnthaner Zorec K., 2019)	34
Slika 12: Bakterijske kolonije na M1 (lastni vir, 2019)	40
Slika 13: Bakterijske kolonije na M27 (lastni vir, 2019)	41
Slika 14: Bakterijske kolonije na M31 (lastni vir, 2019)	41
Slika 15: Število kolonij pred in po dezinfekciji (lastni vir, 2019).....	43
Slika 16: Število kolonij pred in po dezinfekciji (lastni vir,2019).....	43
Slika 17: Inhibicijske cone na gojišču s kulturo telefona M19, diski z Asepsolom (lastni vir, 2019).....	44
Slika 18: Ne razvite inhibicijske cone na gojišču s kulturo telefona M20, diski s Tulsi (lastni vir, 2019).....	45
Slika 19: Tekoče MPN gojišče (lastni vir, 2019)	46
Slika 20: Colilert obarvanje M22 (lastni vir, 2019)	49
Slika 21: Colilert obarvanje M29 (lastni vir, 2019)	46
Slika 22: Gram pozitivni koki M3 (lastni vir, 2019).....	50
Slika 23: Gram pozitivni bacili M7 (lastni vir, 2019)	47
Slika 24: Bakterijska kolonija 1 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	48
Slika 25: Bakterijska kolonija 2 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	49
Slika 26: Bakterijska kolonija 3 (levo) in 4 (desno) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019).....	49
Slika 27: Bakterijska kolonija 5 (levo) in 6 (desno) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019).....	50
Slika 28: Bakterijska kolonija 7 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	50
Slika 29: Bakterijska kolonija 8 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019).....	51
Slika 30: Bakterijska kolonija 9 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	51
Slika 31: Bakterijska kolonija 10 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	52
Slika 32: Bakterijska kolonija 11 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	52
Slika 33: Bakterijska kolonija 12 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	53

Slika 34: Bakterijska kolonija 13 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	53
Slika 35: Bakterijska kolonija 13 in 14 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	54
Slika 36: Bakterijska kolonija 15 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	54
Slika 37: Bakterijska kolonija 16 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	55
Slika 38: Bakterijska kolonija 17 (levo) in 18 (desno) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019).....	55
Slika 39: Bakterijska kolonija 19 (levo), 20 (desno zgoraj) in 21 (sredina) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	56
Slika 40: Kolonija črne plesni (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)	56
Slika 41: Kolonija modre plesni 1 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019).....	57
Slika 42: Kolonija modre plesni 2 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019).....	57
Slika 43: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 18 z Asepsolom (lastni vir, 2019).....	77
Slika 44: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 19 z Asepsolom (lastni vir, 2019).....	78
Slika 45: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 20 z Asepsolom (lastni vir, 2019).....	78
Slika 46: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 21 z Asepsolom (lastni vir, 2019).....	78
Slika 47: Colilert obarvanje M 36 (lastni vir, 2019)	80
Slika 48: Gram pozitivni koki M3 (lastni vir, 2019).....	81
Slika 49: Gram pozitivni koki M3 (lastni vir, 2019).....	81
Slika 50: Gram pozitivni koki M24 (lastni vir, 2019).....	82
Slika 51: Gram pozitivne paličaste bakterije M7 (lastni vir, 2019)	82

KAZALO TABEL

Tabela 1: Lestvica za vrednotenje časa uporabe telefona in za vrednotenje higienskih ukrepov ..	35
Tabela 2: Način telefoniranja in mesto prenašanja mobilnih telefonov	39
Tabela 3: Povprečni premer inhibicijskih con (mm) pri Asepsolu	77
Tabela 4: Dokazovanje koliformnih bakterij z bromkrezol vijoličnim in Durhamovimi cevkami	79
Tabela 5: Prisotnost koliformnih bakterij po Colilert metodi	80
Tabela 6: Barvanje po gramu	81

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Dnevni čas uporabe telefona	36
Graf 2: Pogostost čiščenja telefona	37
Graf 3: Čiščenje telefona glede na površino	37
Graf 4: Uporaba antimikrobnih preparatov za čiščenje mobilnih telefonov	38
Graf 5: Uporaba mobilnih telefonov v toaletnih prostorih	38
Graf 6: Povezava med CFU in pogostostjo umivanja rok	42
Graf 7: Povprečni premer inhibicijskih con okoli diskov prepojenih z Asepsolom na štirih testiranih telefonih (M18, M19, M20, M21)	44
Graf 8: Starost uporabnika	73
Graf 9: Starost telefona	74
Graf 10: Število telefonov glede na zaslon	75
Graf 11: Pogostost umivanja rok	75
Graf 12: Pogostost uporabe dezinfekcijskih sredstev za umivanje rok	76

1. UVOD

Enaindvajseto stoletje je v človeško življenje prineslo mobilne telefone, ki jih dandanes uporabljamo povsod, tako v profesionalnem, kot v družabnem življenju. Po podatkih statističnega urada Republike Slovenije je bilo ob koncu 3. četrtertletja 2019 v Sloveniji več kot 2,5 milijona uporabnikov slovenskega mobilnega omrežja, kar pomeni prav toliko mobilnih telefonov. Število uporabnikov mobilnega omrežja v Sloveniji je že davno preseglo število prebivalcev v državi, teh je namreč bilo 1. julija 2019 2.089.310 (Statistični urad RS, 2019). To pomeni, da nekateri prebivalci uporabljajo več mobilnih telefonov; poleg zasebnega še službeni mobilnik.

Mobilni telefoni so najpogosteje uporabljene elektronske naprave po vsem svetu. Naši mobilni telefoni naj bi bili eni izmed najbolj umazanih predmetov, ki jih vsakodnevno uporabljamo. Zaradi naše nenehne uporabe mobilnih telefonov ustvarjamo idealne pogoje za uspevanje različnih mikroorganizmov na njihovih površinah. Mikroorganizmom ustvarjamo toplo in vlažno okolje ter jim nudimo tudi hrano. Ogromno študij iz različnih koncev sveta razkriva, da so naši telefoni idealno gojišče za življenje mikroorganizmov (Tagoe, in drugi, 2011).

Naši telefoni so tudi idealni vektor za prenos patogenih in nepatogenih mikroorganizmov (Kabir, in drugi, 2009), česar pa se ne zavedamo in jih uporabljamo tudi pri prehranjevanju, v toaletnih prostorih, bolnišnicah in drugih neustreznih okoliščinah.

Onesnaženost mobilnih telefonov z mikroorganizmi predstavlja velik problem v splošni populaciji ljudi, še večji pa v zdravstvenih ustanovah (med študenti medicine in delavci različnih zdravstvenih strok) (Zakai, in drugi, 2015). Med specifično populacijo srednješolcev oprijemljivih študij še ni narejenih.

Šokantno je, koliko nas prizna, da uporabljamo svoj telefon med obiskom stranišča in koliko ur srednješolci preživimo pred zaslonom mobilnega telefona. Zdi se, da nas te mobilne naprave tako zasvojijo, da jih redko odložimo z rok.

Mikroorganizmi, med katere uvrščamo predvsem bakterije in nekatere glive, se nahajajo povsod okoli nas, a ker jih ne vidimo, se njihove prisotnosti običajno ne zavedamo. Večina mikroorganizmov ni nevarnih, nekateri izmed njih pa lahko povzročajo bolezni. Tiste imenujemo patogeni mikroorganizmi. Proti patogenim bakterijami se borimo z antibiotiki, žal pa vedno več bakterij postaja rezistentnih na njih, in prav zaradi tega vedno večja grožnja našemu zdravju.

Izhodišče našega raziskovalnega dela je bilo dokazati kontaminacijo naših mobilnih telefonov z mikroorganizmi in s tem opozoriti na to problematiko. Želeli smo tudi ugotoviti, kako na vse navedeno vpliva način uporabe mobilnih telefonov, s poudarkom na higienskih navadah uporabnikov. Ker je določanje mikroorganizmov zahtevno, povezano s specifičnim materialom in opremo, ter zahteva veliko strokovnega znanja in izkušenj, smo se kot srednješolci lotili le ugotavljanja števila mikroorganizmov na mobilnih telefonih, poskusili ugotoviti njihovo vrstno raznolikost in prisotnost koliformnih bakterij.

1.1. Raziskovalna vprašanja

V naši raziskovalni nalogi smo si zastavili naslednja raziskovalna vprašanja:

- 1. Ali se na površini mobilnih telefonov srednješolcev nahajajo mikroorganizmi in v kakšnem številu in raznovrstnosti?**
- 2. Ali so mobilni telefoni srednješolcev kontaminirani s koliformnimi bakterijami?**
- 3. Ali obstaja povezava med higienskimi ukrepi (umivanje rok, razkuževanje rok, čiščenje mobilnih telefonov) in številom mikroorganizmov na mobilnih telefonih?**
- 4. Ali so mikroorganizmi, izolirani s površine telefonov, občutljivi na antimikrobna sredstva (Asepsol in rastlinski ekstrakt Tulsi)?**
- 5. Kakšni so pri srednješolcih vzorci uporabe mobilnih telefonov?**

1.2. Hipoteze

Hipoteza 1: *Na večini testiranih mobilnih telefonov se nahajajo mikroorganizmi, ki pripadajo več različnim vrstam.*

Na Univerzi za mikrobiologijo v Tartu v Estoniji so na vzorcu 27 mobilnih telefonov srednješolcev, starih med 16 in 18 let, ugotovili 100 % nivo kontaminacije telefonov s potencialno patogenimi bakterijami. Na telefonih so bili večinoma identificirani predstavniki kožne mikrobiote (Kõljalg, in drugi, 2017).

Hipoteza 2: *Na mobilnih telefonih so prisotne potencialno patogene koliformne bakterije.*

V Britanski raziskavi so ugotovili, da je eden od šestih mobilnih telefonov splošne populacije ljudi v Veliki Britaniji kontaminiran s fekalnimi bakterijami, kar 16 % mobilnih telefonov in enak delež rok je okužen z *E. coli* (London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2011).

Hipoteza 3: Čiščenje telefonov in umivanje rok sta v obratnem sorazmerju s številom bakterijskih kolonij.

V Britanski študiji so ugotovili, da so mobilniki v tako visokem številu najverjetneje kontaminirani zaradi slabe higiene rok, predvsem zaradi nezadostne higiene rok po uporabi stranišč (London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2011).

Hipoteza 4: Mikroorganizmi na telefonih so občutljivi na antimikrobni sredstvi Asepsol in rastlinski ekstrakt Tulsi.

Eterično olje, etanolni in vodni ekstrakti Tulsi bazilike, so v več raziskavah pokazali antimikrobno delovanje proti različnim vrstam bakterij (Agarwal P., 2010; Sivaraja P., 2012; Yamani H.A., 2016). Glavne sestavine, odgovorne za antimikrobno delovanje, so najverjetneje kafra, eukaliptol in eugenol (Yamani H.A., 2016).

V Indijski študiji so dokazali, da je prišlo do statistično pomembnega zmanjšanja povprečnega števila kolonij ($P = 0,001$) po dekontaminaciji dveh skupin mobilnih telefonov. Prvo skupino so dezinficirali z izopropilnim alkoholom, drugo skupino pa z uporabo dezinfekcijskega sredstva na osnovi UV.

Ugotovili so, da je bilo znižanje odstotka mikrobiote mobilnih telefonov boljše z izopropilnim alkoholom v primerjavi z dezinfekcijskim sredstvom na osnovi UV (Sriram, in drugi, 2018).

Hipoteza 5: Srednješolci uporabljajo telefon vsaj 3 ure na dan, telefone v večini uporabljajo na stranišču, večinoma telefonirajo s telefoni prislonjenimi na uho, telefone prenašajo po žepih hlač in jaknah.

2. TEORETIČNO OZADJE

2.1. Bakterijske vrste

2.1.1. Mikroorganizmi kože

Večina mikroorganizmov, ki jih najdemo na telefonih, izvira z naših rok in naše kože. Za mikroorganizme, ki naseljujejo kožo, sta pomembni vlažnost in temperatura kože ter delovanje lojnic in znojnic, ki zavirajo naselitev začasnih ali prehodnih bakterij (Dragaš, 2004; Greenwood, in drugi, 2007).

Na koži prevladujejo, glede na prisotnost encima koagulaza negativni stafilokoki.

V rodu *Staphylococcus* se nahaja več vrst bakterij, ki poseljujejo kožo. V humani medicini so najbolj prepoznavni *S. aureus*, *S. epidermidis* in *S. saprofiticus*.

Stafilokoki so po Gramu pozitivne, okrogle bakterije. Mikroskopsko jih vidimo posamično ali v skupkih, podobnih grozdu, so negibljivi in ne sporulirajo.

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus je dobil ime po rumeno zeleni barvi njegovih kolonij.

Pri človeku se najpogosteje nahaja v nosu zdravih ljudi (10-30 %) in na površini kože (na prstih, obrazu in presredku). V okolje se širi ob drgnjenju kože ali z rokami, če se dotikamo obraza in nosu. Iz nosu se ne širi pri dihanju, pač pa pri tekočem ali gnojnem izcedku.



Slika 1: *Staphylococcus aureus* na krvnem agarju (vir: A photographic atlas for the microbiology laboratory, 2019)

Okužbe kože nastanejo največkrat, kadar vdrejo patogeni sevi v poškodovano kožo zaradi ran, vbodov, vreznin ali ugrizov. Bakterijo *Staphylococcus aureus* razlikujemo od drugih vrst stafilokokov na osnovi izločanja encimov in izkoriščanja določenih snovi. Izloča encim koagulazo.

Staphylococcus aureus povzroča gnojna vnetja kože, kot so folikulitis, furunkuloza, absces, piodermija, impetigo, ekfoliativni dermatitis novorojenčkov ter toksični šok sindrom. Zelo pogoste so tudi okužbe kirurških ran in opeklin. Z vsakega lokalnega žarišča se lahko glede na virulenco bakterije in glede na odpornost organizma s krvjo ali limfo, razširi po telesu v različna tkiva in organe. Tako lahko povzročijo sepsa, osteomielitis, endokarditis, vnetje sklepov, pljučnico ali gnojni meningitis (Dragaš, 2004).

Zadnja leta se je pojavil zelo nevaren, tudi življenjsko ogrožajoči sev *Staphylococcus aureus*, ki je odporen na meticilin. Imenujemo ga MRSA ali Meticilin Rezistentni *Staphylococcus aureus*, ki lahko povzroči smrtno nevarne okužbe (Greenwood, in drugi, 2007).

Dalj časa se lahko, zlasti v bolnišničnem okolju, *S. aureus* zadrži na rokah, posteljninah in perilu, tudi v suhem okolju. V bolnišnicah stafilokoki pogosto naseljujejo kožo, rane in dihala bolnikov ter roke in dihala osebja, kar predstavlja vir nevarnih okužb (pljučnice novorojenčkov, ogojki mlečnih žlez porodnic, okužbe kirurških ran in opeklin).

Staphylococcus epidermidis

Koagulazno negativni *Staphylococcus epidermidis* je del normalne mikrobne populacije kože, redkeje sluznice. Je fakultativna anaerobna bakterija. Izjemoma lahko povzroči okužbe, največkrat le pri pacientih z oslabljenim imunskim sistemom. Te okužbe se običajno pojavijo v bolnišnicah.

Gre večinoma za vnetja po vstavljanju srčnih in kolčnih vsadkov ter žilnih katetrov. Znano je, da tvorijo biofilme, ki rastejo na površinah teh protetičnih pripomočkov (Dragaš, 2004).

Sposobnost oblikovanja biofilmov na plastičnih napravah je glavni virulenčni dejavnik za *S. epidermidis*. Biofilmi zmanjšajo presnovno aktivnost bakterij. Ta zmanjšana presnova v kombinaciji z oslabljeno razpršitvijo antibiotikov otežuje učinkovito odstranjevanje tovrstne

okužbe z antibiotiki. Sevi *S. epidermidis* so pogosto odporni na antibiotike, kot so rifamicin, fluorokinoloni, gentamicin, tetraciklini, klindamicin in sulfonamidi. Odpornost proti metilicinu je še posebej razširjena, saj ima med 75 in 90 % bolnišničnih izolatov rezistenco na metilicilin (Sichani, in drugi, 2011).

2.1.2. Fekalne kolibakterije

Koliformne bakterije

Koliformne bakterije spadajo v družino *Enterobacteriaceae* (enterobakterij), so primarno nepatogene in so običajni prebivalci spodnjega dela gastrointestinalnega trakta (debelo črevo) človeka in toplokrvnih živali. Ščitijo črevo pred infekcijami patogenih bakterij in so odgovorne za pravilno prebavo hrane in sintezo vitamina skupine B. V črevesju človeka in živali so prisotne v velikem številu (Greenwood, in drugi, 2007).

Iz organizma se koliformne bakterije v velikem številu izločajo s fekalijami. Če so v blatu poleg koliformnih bakterij prisotne tudi patogene bakterije, bodo tudi te v odpadnih in naravnih vodah. Številne patogene bakterije so prisotne v okolju v nizkih koncentracijah.

Tako kot koliformne bakterije so tudi fekalni streptokoki ali enterokoki indikatorji kakovosti higiene vode.

Koliformne bakterije so lahko fakultativno anaerobne, večinoma paličaste, Gram negativne, ne sporogene, gibljive ali negibljive bakterije (Greenwood, in drugi, 2007).

Kot izhodišče za dokaz koliformnih bakterij na telefonih preiskovane populacije, smo želeli izkoristiti lastnost koliformnih bakterij, da po 48 urni inkubaciji pri temperaturi med 35 in 37 °C fermentirajo laktozo in pri tem nastaneta kislina in plin. To smo želeli dokazati z MPN metodo za dokazovanje koliformnih bakterij, saj imamo v gojišču poleg laktoze, ki jo bodo bakterije uporabile pri fermentaciji, še barvilo bromkrezol za detekcijo spremembe barve pri fermentaciji, in Durhamove cevke za detekcijo nastajajočega plina. Prav tako smo v raziskovalni nalogi želeli izkoristiti bolj specifično lastnost koliformnih bakterij, da imajo encim β -D-galaktozidazo. Na osnovi tega smo želeli z metodo Colilert dokazati spremembo barve ustreznega kemijskega

substrata (indikatorja) v reagentu, kar nakazuje na prisotnost koliformnih bakterij v vzorcu (NLZOH Nova Gorica, 2013).

Metoda, ki smo jo uporabili v raziskovalni nalogi temelji na specifični sposobnosti koliformnih bakterij, da lahko, ko so inkubirane pri temperaturi med 35 in 37 °C v 48-ih urah, fermentirajo laktozo, nekatere tudi glukozo, in pri tem nastajata kislina in plin (ogljikov dioksid). So oksidaza negativne in imajo β -galaktozidazno aktivnost, saj vsebujejo encim β -galaktozidazo.

Medtem, ko koliformne bakterije običajno niso vzrok za resno bolezen, pa njihova prisotnost pogosto nakazuje na prisotnost drugih patogenih mikroorganizmov fekalnega izvora. Takšni patogeni so bakterije in virusi, ki povzročajo različne bolezni.

Kljub temu, da je večina koliformov nepatogenih, so lahko nekateri predstavniki oportunistično patogeni, kar pomeni, da se bo okužba pojavila v primeru oslABLJENE imunosti zaradi obstoječe druge bolezni.

Predstavniki koliformov so predvsem iz rodov *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia* in *Yersinia*. Mednje spada tudi vrsta *E. coli* (Greenwood, in drugi, 2007).

Nekateri predstavniki rodov *Citrobacter* lahko kot oportunistični patogeni povzročajo infekcije dihal, sečil, krvi, jeter, žolčnika, meningitis, ter vnetje centralnega živčnega sistema, ki je v 20 do 50 % primerov smrtonosen.

Nekateri sevi rodu *Enterobacter* lahko kot oportunistični patogeni povzročijo okužbe sečil, kože, septikemijo in meningitis.

Najznačilnejši predstavnik rodu *Klebsiella* je *Klebsiella pneumoniae*. Bakterije rodu *Klebsiella* lahko privedejo do številnih bolezenskih stanj, zlasti nazokomialnih okužb, pljučnice, okužb sečil, sepse, meningitisa, driske, peritonitisa in okužb mehkih tkiv. *K. pneumoniae* je najpogostejši vzrok za okužbe dihalnih poti in bolnišničnih okužb na intenzivnih enotah. Je tudi pomemben vzrok za Gram-negativno bakteriemijo in okužbe sečil. Sevi odporni na antibiotike predstavljajo pomembne bolnišnične bakterijske patogene (Greenwood, in drugi, 2007).

Predstavniki rodu *Hafnia* običajno niso patogeni, lahko pa povzročijo bolezni urinalnega trakta pri bolnikih z oslabljenim imunskim sistemom. Pogosto so odporni na več antibiotikov, vključno z aminopenicilini.

Predstavniki rodu *Morganella* spadajo med oportunistične patogene bakterije, ki lahko povzročijo bakteriemijo, okužbe sečil in dihal.

Bakterija *Escherichia coli* je predstavnica rodu *Echerichia*. Gre za paličasto, Gram negativno, nesporogeno, fakultativno anaerobno bakterijo, ki ima bičke in fimbrije. *E.coli* je ena od glavnih vrst bakterij, ki živijo v spodnjem delu prebavnega trakta sesalcev in predstavlja del črevesne flore ljudi in živali. *E.coli* fermentirajo laktozo in pri tem nastaja plinski produkt. Večina sevov te bakterije je popolnoma neškodljivih ali povzročajo blago drisko. Določeni sevi so patogeni in lahko povzročijo hude oblike zastrupitve s hrano. Patogeni sevi te bakterije povzročijo trebušne krče, različno močne driske in bruhanje (Dragaš, 2004).

2.1.3. Fekalni streptokoki

Fekalne streptokoke oz. enterokoke uvrščamo med streptokoke, ki predstavljajo v naravi zelo razširjeno, heterogeno skupino bakterij (Greenwood, in drugi, 2007).

Fekalni streptokoki so tako kot kolibakterije prisotni v človeškem in živalskem črevesju ter želodcu. Mnoge vrste streptokokov so patogene. Povzročajo bolezni kot so bakterijska pljučnica, ušesne okužbe in bakterijski meningitis.

Tako kot fekalni koliformi so tudi fekalni streptokoki indikatorji za onesnaženost vode.

2.2. Pregled dosedanjih raziskav

Onesnaženost mobilnih telefonov predstavlja velik problem v splošni populaciji ljudi, še večji pa v zdravstvenih ustanovah (med študenti in delavci različnih zdravstvenih strok). Med specifično populacijo srednješolcev še ni narejenih oprijemljivih študij.

Kontaminacijo mobilnih telefonov med splošno populacijo dobro opiše obsežna britanska študija, ki lahko velja kot splošna tudi za naše geografsko okolje, saj imamo podobne življenjske navade (London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2011).

Britanski znanstveniki so ugotavljali kontaminacijo mobilnih telefonov splošne populacije. V 12 mestih so vzeli vzorce 390 telefonov. Ugotovili so, da je eden od šestih mobilnih telefonov splošne populacije ljudi v Veliki Britaniji kontaminiran s fekalnimi bakterijami, kar 16 % mobilnih telefonov in enak delež rok pa je okužen z *E. coli*. Ugotovili so, da so mobilniki v tako visokem številu najverjetneje kontaminirani zaradi slabe higijene rok, predvsem zaradi nezadostne higijene rok po uporabi stranišč. V svojih raziskavah so ugotovili tudi, da ljudje lažje o higieni svojih rok. 95 % od 390 anketiranih ljudi je namreč napisalo, da si, kjer je to mogoče, umivajo roke z milom, pa vendar je bilo kar 92 % mobilnih telefonov in 82 % rok onesnaženih z bakterijami.

Mnogo več raziskav v povezavi s kontaminacijo mobilnih telefonov je bilo izvedenih na mobilnih telefonih zdravstvenega osebja in med študenti različnih zdravstvenih področij.

V številnih študijah, širom po svetu, je bilo tako ugotovljeno, da je kontaminacija mobilnih telefonov med zdravstvenim osebjem v bolnišnicah, kot tudi med študenti različni zdravstvenih strok, pogosta (Selim, in drugi, 2015; Zakai, in drugi, 2015; Sepehri, in drugi, 2009; Kõljalg, in drugi, 2017).

Telefoni v zdravstvenih ustanovah predstavljajo velik riziko za prenos različnih bakterij, med njimi tudi takih, ki so odporne na številne antibiotike, kot je npr. MRSA (Selim, in drugi, 2015). Ti organizmi so lahko zelo nevarni za bolnike intenzivnih enot, saj so pri njih takšne okužbe pogosto zelo hude in neobvladljive. Bolnišnične okužbe predstavljajo povsod po svetu velik družbeni

problem in dokazano je, da bi lahko vsako tretjo bolnišnično okužbo preprečili, če bi se striktno držali pravil in strogih higienskih smernic.

V Savdski Arabiji so na vzorcu 105 telefonov predkliničnih študentov Medicinske fakultete KAU prikazali, da je bilo kar 96,2 % testiranih telefonov kontaminiranih z vsaj enim ali več mikroorganizmov. V 68 % so izolirali koagulaza negativni stafilokok, v 16,2 % *Staphylococcus aureus*, v 19 % pa Gram pozitivni bacili (*Pantoea spp* 0,95 % in *Streptococcus viridans* 0,95 %) (Zakai, in drugi, 2015).

V študiji izvedeni v Egiptu, so bili med zdravstvenimi delavci in pacienti v bolnišnici telefoni 100 % kontaminirani z vsaj enim ali več mikroorganizmi. Najpogosteje, kar v 53 %, je bil izoliran na meticilin odporen *Staphylococcus Aureus* (MRSA), v 50 % koagulaza negativni Stafilokok, v 43 % *Bacillus*, v 30 % *Diphtheroides*, v 18 % meticilin dovzetni *Staphylococcus Aureus* (MSSA), v 13 % *E. coli*, v 13 % *Streptococcus viridans* v 10 % nekateri mikrokokki in v 8 % *Klebsiella pneumoniae*. MRSA je bil v tej študiji identificiran na 53 % telefonih zdravstvenih delavcev in na 33 % telefonih pacientov. Na telefonih pacientov so v 27 % identificirali tudi *Streptococcus viridans* in v 13 % koagulaza negativni *Stafilokok* (Selim, in drugi, 2015).

Študija v učni bolnišnici v Kermanu v Iranu je na vzorcu 150 telefonov zdravstvenih delavcev pokazala kontaminacijo 48 % telefonov in 59 % dominantnih rok. Najpogosteje izolirani so bili mikroorganizmi kožne flore, v 77 % *Staphylococcus epidermidis*, ki je bil v 7 % odporen na cefalotoksin, v 15,6 % na gentamicin in kar v 25 % na amoksicilin. Kar v 16 % so bili izolirani patogeni, ki se prenašajo nazokonazokomialno; v 12 % *Staphylococcus aureus*, v 1 % *Klebsiella* in v 1 % *Bacillus subtilis*. V tej študiji MRSE niso izolirali. Najpogosteje izoliran *Staphylococcus epidermidis* je bil tudi najpogosteje (73,6 %) izolirana bakterija na dominantni roki (Sepehri, in drugi, 2009).

Kontaminacija mobilnih telefonov z bakterijami specifične srednješolske populacije, stare med 14 in 18 let, je zelo malo raziskana. Posledično prav tako ni raziskan morebiten pojav odpornosti bakterij na antibiotike pri telefonih srednješolcev.

Eno izmed takšnih študij so delali na Univerzi za mikrobiologijo v Tartu v Estoniji. Na vzorcu 27 mobilnih telefonov srednješolce, starih med 16 in 18 let, so ugotovili 100 % nivo kontaminacije telefonov s potencialno patogenimi bakterijami. Z molekularnimi študijami (metoda MALDI-TOF; masni spektrometer) so dokazovali prisotnost 16SrRNA v *Enterococcus faecalis* in *Escherichia coli*. Čeprav *E.coli* in *Enterococcus faecalis* nista bili med dominantnimi bakterijskimi vrstami, kažejo molekularne študije prisotnost teh dveh fekalnih indikatorjev na mobilnih telefonih srednješolcev. V raziskavi omenjena fekalna indikatorja nista bila med prevladujočimi bakterijskimi vrstami. Njuna odsotnost med prevladujočimi mikroorganizmi ne nakazuje na znatno fekalno kontaminacijo mobilnih telefonov. Na telefonih so bili večinoma identificirani predstavniki kožne flore (Kõljalg, in drugi, 2017).

Na telefonih je bilo skupno odkritih več kot 20 različnih prevladujočih mikrobnih vrst. Potencialno patogene mikrobe, kot so *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus cereus* so bolj pogosto našli na tistih telefonih, ki so imeli višji delež *E. coli* (>1 %).

V 41 % so izolirali Gram negativne bakterije. Najpogosteje so izolirali *Micrococcus luteus*, *Actinobacter lwoffii*, *Staphylococcus epidermidis* in *Staphylococcus hominis*, v zelo majhnem% pa *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas luteola*, *Neisseria flavescens* in *Bacillus cereus*.

V tej študiji so ugotovili tudi, da noben bakterijski sev na preiskovanih mobilnikih srednješolcev ni imel razvite rezistence na tetraciklin, eritromicin in sulfonamid, tako, da telefoni srednješolcev niso nujno vektor prenosa protibakterijske odpornosti oz. bakterijske rezistence (Kõljalg, in drugi, 2017).

2.3. Dezinfekcijska sredstva

Dezinfekcija (razkuževanje) spada med t.i. antiseptične postopke, ki se izvajajo z namenom uničevanja, odstranjevanja, upočasnjevanja rasti in razmnoževanja večine patogenih mikroorganizmov. Med mikroorganizme prištevamo bakterije, viruse, glive, protiste itd. V ugodnih pogojih se lahko izredno hitro namnožijo. Zato je dezinfekcija ključnega pomena pri preprečevanju in obvladovanju nalezljivih bolezni, saj z njo odstranimo večinoma vegetativne celice, na spore pa le redko delujejo (Centers for Disease Control and Prevention, 2008).

Za razkuževanje površin in prostorov uporabljamo dezinfekcijska sredstva, za razkuževanje kože in drugih mest po telesu pa antiseptike. Kemična sredstva lahko delujejo na mikroorganizme baktericidno (ubijajo), bakteriostatično (inhibirajo rast) ali bakteriolitično (ubijajo celice z lizo). Kemikalije, ki vplivajo na bakterije so alkoholi (etanol, isopropanol), jod, soli težkih kovin (srebrov nitrat), detergenti (kvartarne amonijeve soli), oksidanti (amoniak, klorove spojine) ter fenolne spojine (Turk, 2013).

Na tržišču je na voljo veliko različnih dezinfekcijskih sredstev. Med njimi sta tudi Asepsol, detergentno razkužilo za površine, opremo in pribor ter robčki za razkuževanje Prima. Aktivni sestavini sta v obeh primerih didecildimetilamonijev klorid in propan-2-ol (Farmadent, 2003; Sanolabor, brez datuma) .

Dezinfekcija v vsakdanjem življenju tako zajema predvsem skrb za posameznikovo osebno higieno ter za visoko raven higiene na vseh področjih človekovega delovanja.

2.3.1. Sveta bazilika ali Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*)

Sveta bazilika je cvetoča rastlina v Ayurvedi, ki je že tisočletja priznana kot rastlina zdravilka tudi pri Grkih in Rimljanih. Spada v družino ustnatic (*Lamiaceae*). Izhaja iz indijske podceline in je razširjena kot gojena rastlina po tropih jugovzhodne Azije.

Tulsi se goji in uporablja za namene religiozne in tradicionalne medicine, iz nje pa pridobivajo tudi eterično olje. Po celem svetu se uporablja kot zeliščni čaj za različne tegobe, saj ima številne zdravilne učinke (Encyclopedia Britannica, 2019).

Tako eterično olje kot tudi etanolni in vodni ekstrakti Tulsi bazilike so v več raziskavah pokazali antimikrobno delovanje proti različnim vrstam bakterij (Agarwal P., 2010; Sivaraja P., 2012; Yamani H.A., 2016). Glavne sestavine, odgovorne za antimikrobno delovanje, so najverjetneje kafra, eukaliptol in eugenol (Yamani H.A., 2016). Poleg antimikrobnega ima še protivnetno in antiseptično delovanje. Deluje še kot antioksidant, čisti kri, krepi imunski sistem, deluje na pljuča in sinuse ter zmanjšuje nivo krvnega sladkorja in holesterola.



Slika 2: Tulsi - *Ocimum tenuiflorum* (vir: Enciclopedia Britanica, 2019)

2.4. Uporabljene metode dela

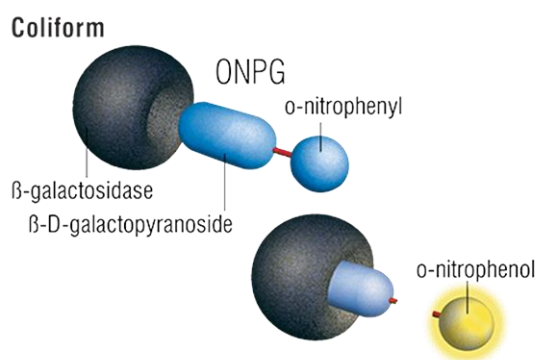
2.4.1. Metoda z reagentom Colilert – 18

Z metodo Colilert določamo prisotnost *E. coli* in koliformnih bakterij.

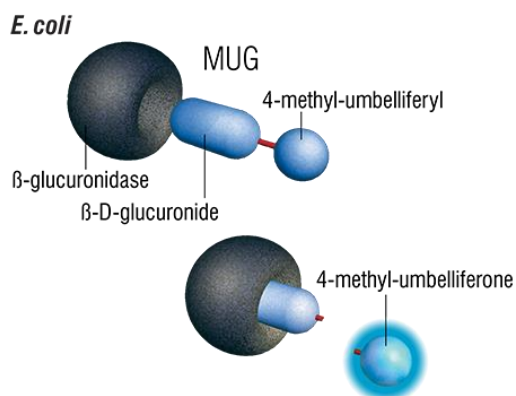
Metoda Colilert-18 temelji na bakterijski encimski tehnologiji, ki signalizira prisotnost *E. coli* in koliformnih bakterij skozi hidrolizo fluorogenega in kromogenega bakterijskega diagnostičnega substrata. Metoda temelji na patentirani definirani substratni tehnologiji (DST) in jo uvrščamo med MPN metode. Medij Colilert – 18 je kemijsko določena formulacija z vsebnostjo substratov za specifično določanje encimov, ki so prisotni pri skupini iskanih mikroorganizmov.

Pri testu Colilert-18 sta prisotna dva indikatorja, ONPG (o-Nitrofenil- β -D-galaktopiranozid) in MUG (4-Methyl-umbelliferyl- β -D-glucuronide). Koliformne bakterije z encimom β -D-galaktozidaza razgradijo indikator ONPG.

Prisotnost koliformnih bakterij potrdimo po 18-urni inkubaciji pri temperaturi 36 ± 2 °C. Dokaz za prisotnost koliformnih bakterij je obarvanost testnih epruvet iz brezbarvnega v rumen vzorec. Dodatno pa lahko s tem testom potrdimo še prisotnost ali odsotnost *E. coli*, saj vzorec v živo rumeni epruveti, v primeru, da je prisotna *E. coli*, ob UV osvetlitvi fluorescira modro. (NLZOH Nova Gorica, 2013).



Slika 3: Reakcija med koliformom in ONPG (vir: idexx.com, 2019)

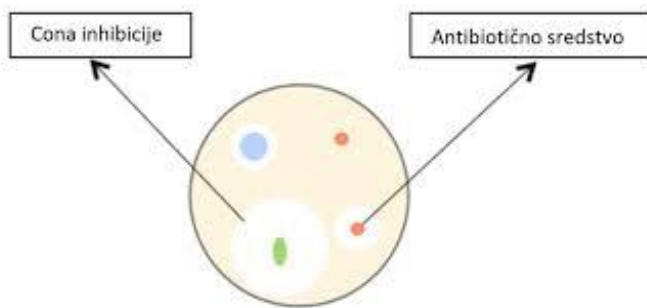


Slika 4: Reakcija med *E. coli* in MUG (vir: idexx.com, 2019)

Kot izhodišče za dokaz koliformnih bakterij na telefonih preiskovane populacije, smo želeli izkoristiti lastnost koliformnih bakterij, da po 48 urni inkubaciji pri temperaturi med 35 in 37 °C, fermentirajo laktozo ter pri tem nastaneta kislina in plin. To smo želeli dokazati z MPN metodo za dokazovanje koliformnih bakterij, saj imamo v gojišču poleg laktoze, ki jo bodo bakterije uporabile pri fermentaciji še barvilo bromkrezol za detekcijo spremembe barve pri fermentaciji in Durhamove cevke za detekcijo nastajajočega plina. Prav tako smo v raziskovalni nalogi želeli izkoristiti bolj specifično lastnost koliformnih bakterij, da imajo encim β -D-galaktozidazo. Na osnovi tega smo želeli z metodo Colilert dokazati s spremembo barve ustreznega kemijskega substrata (indikatorja) v reagentu, kar nakazuje na prisotnost koliformnih bakterij v vzorcu (NLZOH Nova Gorica, 2013).

2.4.2. Metoda difuzije na trdnem gojišču

Metoda difuzije na trdnem gojišču (difuzijski antibiogram) je preprost način ugotavljanja občutljivosti bakterij na različna dezinfekcijska sredstva ali antibiotike. Na gojišče z agarjem nacepimo bakterijsko kulturo in nato na gojišče položimo sterilne diske, prepojene s testiranim sredstvom. Okoli mesta nanosa se pojavi območje, kjer bakterije niso zrastle - imenuje se inhibicijska cona. Premer inhibicijske cone izmerimo z ravnilom, ali kakšnim drugim merilnim pripomočkom. Večji, kot je premer inhibicijske cone, tem bolj je bakterijska kultura občutljiva na dano protibakterijsko sredstvo (Turk, 2013). Dezinfekcijsko sredstvo, ki ima največjo inhibicijsko cono, je najbolj učinkovito pri uničevanju te vrste bakterij.



Slika 5: Shematski prikaz difuzijskega antibiograma – difuzije na trdnem gojišču (lastni vir, 2020)



Slika 6: Inhibicijske cone po Asepsolu (lastni vir,2019)

2.4.3. Metoda štetja bakterij v vzorcu

Pogosta metoda za ugotavljanje števila bakterij v nekem vzorcu je metoda direktnega štetja na ploščah (trdem gojišču), kjer nanj nanese vzorec, ki vsebuje bakterije in iz števila razvitih kolonij sklepamo na prvotno število bakterijskih celic v vzorcu. Ker so bakterijske kulture večinoma zelo številne in je lahko v enem mililitru tekočine nekaj milijard bakterijskih celic, je potrebno vzorec, preden ga nacepimo na trdno gojišče, ustrezno razredčiti tako, da na površini gojišča ene petrijevke zraste le od 30 do 300 kolonij. Takšna plošča je števna (Holnthaner Zorec, 2019).

3. METODE IN MATERIALI

3.1. Seznam materialov

3.1.1. Zaščitna oprema

- Zaščitna halja,
- zaščitne rokavice.

3.1.2. Kemikalije

- Destilirana voda,
- kvasni ekstrakt (Fluka Analytical),
- medij BHI –Brain Heart Infusion (Panreac AppliChem),
- agar (Biolife),
- tripton (bioMérieux),
- mesni pepton (Sigma),
- kuhinjska sol (NaCl),
- etanol (30 %, 70 %, 96 %),
- lactose monohydrate - laktoza (Sigma),
- sojin pepton (Sigma),
- bromkrezol vijolično (Fluka),
- aseptol detergentno razkužilo za površine (Pliva),
- čaj Tulsi (Lebenbalm),
- fiziološka raztopina (0,9 % NaCl),
- Colilert reagent (Idexx),
- lugolova raztopina joda,
- kristal vijolično barvilo,
- fuksin,
- dezinfekcijski robčki (Prima).

3.1.3. Laboratorijski pribor

- Erlenmajerice (250 mL),
- čaše (50 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL),
- merilni valji (100 mL, 500 mL),
- epruvete (16 x 160 mm),
- cepilna zanka (eza),
- injekcijska brizgalka (20 mL),
- plastična pipeta,
- avtomatske pipete s pripadajočimi nastavki (LLG Micropipette; 10 - 100 µL),
- steklena palčka,
- spatula Drigalski,
- kovinska pinceta,
- ALU folija,
- plastične petrijevke (premera 9 cm),
- 5 mm diski iz filter papirja,
- Bunsenov gorilnik (Labagas),
- Durhamove cevke za detekcijo plina,
- sterilne vatirane paličice (Copan),
- kljunasto merilo (Powerfix).

3.1.4. Laboratorijske aparature

- Tehtnica (Kern, z natančnostjo 0,001 g in 0,01 g),
- inkubator (Binder GmbH),
- kuhalnik (CTC Clatronic),
- avtoklav (CertoClav CVEL 12 LGS (LGA, Nurnberg)),
- mikrobiološka zaščitna komora - laminarij (MC-NC, Iskra PIO),

- vibracijski mešalnik za epruvete (Phoenix),
- UV luč,
- svetlobni mikroskop z digitalno kamero (Leica DM 750),
- stereolupa (Euromex).

3.2. Delovne metode

3.2.1. Anketiranje

Metode raziskovanja smo začeli z anketiranjem. V anketi nas je zanimala starost in spol dijakov, znamka ter starost telefona, vrsta mobilnega telefona (zaslon telefona na dotik/klasična tipkovnica) in koliko časa dnevno dijaki uporabljajo telefon. Drugi sklop vprašanj se je nanašal na higienske navade dijakov, torej kako pogosto in na kakšen način čistijo svoje telefone, ali telefone uporabljajo na stranišču, kolikokrat na dan in ob kakšnih priložnostih si dijaki umivajo roke, ter ali po umivanju rok uporabljajo dezinfekcijska sredstva. Prav tako so v anketi dijaki zapisali kje večinoma prenašajo svoje telefone in na kakšen način telefonirajo.

Na anketo so dijaki odgovarjali na dva načina. Dijaki, katerih telefone smo uporabili pri praktičnem delu, torej pri ugotavljanju kontaminacije telefonov z mikroorganizmi, so anketo rešili ročno. Teh je bilo 32. Vsi ostali anketiranci, ki jih je bilo še 360, pa so anketo rešili elektronsko preko portala lka.si, s katerim je bila tudi sestavljena. Anketa je bila izvedena v času od 06. 12. 2019 do 21. 12. 2019. Anketa je predstavljena v prilogi (Priloga 1: Anketa).

3.2.2. Priprava gojišč

Pripravili smo tri vrste gojišč. Med temi so trdno BHI (Brain Heart Infusion) in LB (Lysogeny Broth) gojišči in tekoči LB in MPN (za dokazovanje koliformnih bakterij) gojišči.

Vsi recepti so navedeni za 1000 ml gojišč.

BHI gojišče pripravimo po navodilih na embalaži:

BHI	37,0 g
Agar	15,0 g

MPN gojišče za koliformne bakterije pripravimo po naslednjem postopku:

Mesni pepton	17,0 g
Sojin pepton	3,0 g
NaCl	5,0 g
Laktoza	10,0 g
Bromkrezol vijolično	0,02 g

LB gojišče pripravimo po naslednjem postopku:

– trdno gojišče:

Kuhinjska sol	5 g
Tripton	10 g
Kvasni ekstrakt	5 g
Agar	15 g

– tekoče gojišče:

Kuhinjska sol	5 g
Tripton	10 g
Kvasni ekstrakt	5 g

Kuhanje in priprava gojišč je potekala po naslednjih korakih. Najprej smo v čašo odmerili destilirano vodo, med mešanjem s stekleno palčko smo dodali vse natehtane sestavine in nato segrevali na kuhalniku do vrenja. Ko so bila gojišča skuhana, smo v prvo serijo epruvet nalili po 5 mL LB gojišča, v drugo serijo epruvet pa po 7 mL MPN gojišča, v te epruvete smo namestili tudi Durhamove cevke za dokazovanje plina. Vse epruvete, čašo z BHI gojiščem in epruvete s fiziološko raztopino smo avtoklavirali 15 minut pri temperaturi 121 °C in tlaku 1,5 kPa.

Po končanem avtoklaviraju smo v sterilne petrijevke nalili po 20 mL BHI gojišča in 20 mL trdnega LB gojišča.

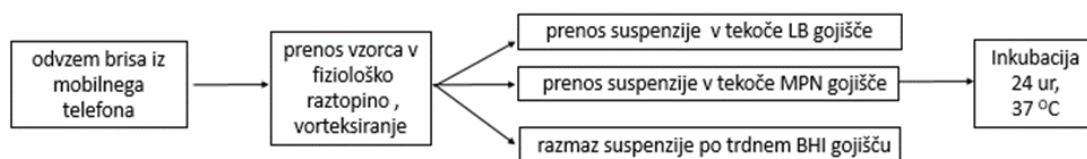


Slika 7: Sveže nalito gojišče v petrijevkah (lastni vir, 2019)

3.2.3. Odvzem brisov z mobilnih telefonov

Brise telefonov smo odvzeli v mikrobiološki zaščitni komori s pomočjo sterilnih vatiranih paličic, s pomočjo katerih smo natančno obrisali zadnjo in sprednjo stranico telefona (zaslona). Po odvzetem brisu smo paličico dali v epruvete, napolnjene s 3 mL fiziološke raztopine in 5 minut stresali z vibracijskim mešalnikom za epruvete. Nato smo z avtomatsko pipeto odmerili 100 μ L fiziološke raztopine s suspendiranimi mikroorganizmi in jo prenesli v epruveto z LB gojiščem, 100 μ L raztopine pa smo prenesli v epruveto z MPN gojiščem. Obe epruveti smo nato inkubirali za 24 ur pri temperaturi 37°C.

100 μ L vzorca pa smo namestili v petrijevko z BHI agarjem in s sterilno spatulo Drigalski temeljito razmazali po celotni površini gojišča ter petrijevke inkubirali pri 37 °C za 24 ur.



Slika 8: Shema postopka v obliki hodograma (lastni vir, 2019)

Nekaj mobilnih telefonov smo po prvem brisu očistili z dezinfekcijskimi robčki Prima in ponovno odvzeli bris, ki smo ga nato inkubirali.

3.2.4. Priprava rastlinskega ekstrakta

Za pripravo čajnega ekstrakta smo uporabili 100 ml 96 % etanola, v katerega smo dodali 35 gramov čaja Tulsí. Med mešanjem smo segrevali v vodni kopeli za 15 minut, prefiltrirali in nato nadaljevali s segrevanjem filtrata, dokler etanol ni izhlapel.

Dobili smo suhi ekstrakt, kateremu smo dodali 5ml 30 % etanola.

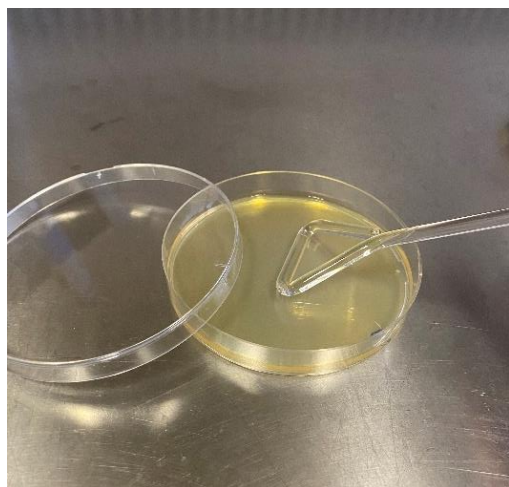
3.2.5. Metoda difuzije na trdnem gojišču

Z avtomatsko pipeto smo odpipetirali 200 μL premešane prekonočne kulture mikroorganizmov, odvzetih s telefona, jo namestili na petrijevko s trdnim LB gojiščem in razmazali po celotni površini gojišča s sterilno spatulo Drigalski.

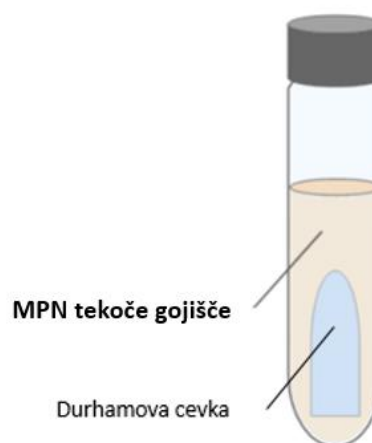
Sterilne papirne diske v premeru 5 mm smo pomočili v Asepsol in jih namestili na gojišče z razmazano kulturo, na sredino petrijevke smo namestili kontrolo (papirček brez dezinfekcijskega sredstva). Petrijevke smo nato inkubirali za 24 ur pri temperaturi 37 °C.

Enak postopek smo ponovili za pripravo rastlinskega ekstrakta Tulsi.

Naslednji dan smo s kljunastim merilom izmerili premere inhibicijskih con. Vsako smo izmerili v treh smereh.



Slika 9: Razmaz kulture za določanje števila mikroorganizmov (lastni vir, 2019)



Slika 10: Gojišče za dokazovanje koliformnih bakterij (vir: <http://faculty.giu.edu/~gantarm/>)

3.2.6. Metoda za dokazovanje koliformnih bakterij

7 mL pripravljene MPN gojišča smo dali v epruveto, kateri smo dodali Durhamovo cevko za detekcijo plina. To epruveto smo avtoklavirali 15 minut pri temperaturi 121 °C in tlaku 1,5 kPa. Zatem smo epruvetam sterilno dodajali 100 µL bakterijske kulture iz brisa. Nato smo pripravljene epruvete inkubirali za 48 ur pri temperaturi 37 °C.

Metoda s Colilert - 18 reagentom

100 gramov Colilert reagenta smo stresli v 50 mL destilirane vode, dobro premešali in dodali vzorec mikroorganizmov s telefonov, suspendiranih v fiziološki raztopini. Epruvete smo nato segrevali v vodni kopeli za 30 minut pri temperaturi 30 °C. Sledila je inkubacija za 18 ur pri temperaturi 35 °C. Po inkubaciji smo preverili prisotnost rumene barve. S pomočjo UV luči (365 nm) smo preverili, ali vzorec fluorescira.

3.2.7. Barvanje po Gramu

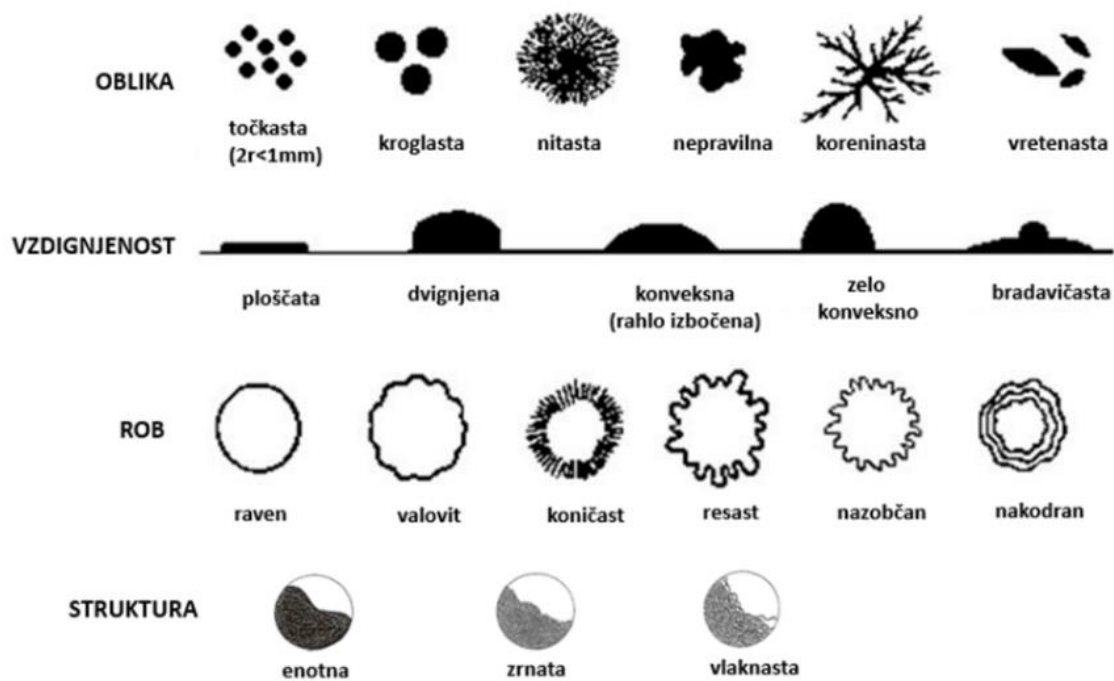
Fiksiran bakterijski razmaz smo prekrili s kristal vijoličnim barvilom in ga po 2 minutah sprali z vodo. Za tem smo nalili jodovico in jo po eni minuti odlili. Objektno steklo smo razbarvali s 3 % acetonskim alkoholom, po pol minute smo to sprali z vodo in nato še dodali fuksin, po nadaljnje pol minute smo objektno steklo sprali z vodo in ga posušili na zraku.

3.2.8. Metoda določanja morfologije bakterijskih kolonij

Bakterijskim kolonijam na mobilnih telefonih smo določili morfološke lastnosti. Kulture na petrijevkah smo pregledali s stereolupo in določili vrste bakterijskih kolonij.

Kolonije različnih vrst bakterij se med seboj ločijo po:

- velikosti (premer < 1 mm, 1 mm, > 1 mm),
- barvi (prozorne, sivobeje, bele, rumene, oranžne, zelene, vijolične, itd.),
- obliki (točkasta, kroglasta, nitasta, nepravilna, koreninasta, vretenasta),
- vzdignjenosti oz. profilu (ploščat, vzdignjen, rahlo konveksen, zelo konveksen, bradavičast),
- robovih (raven, valovit, koničast, resast, nazobčan, nakodran),
- strukturi (enotna, zrnata, vlaknasta) (Turk, 2013).



Slika 11: Morfološke značilnosti bakterijskih kolonij (Holnthaner Zorec K., 2019)

3.2.9. Statistična obdelava podatkov

S programom Excel smo narisali grafe, za izbrane meritve pa z njegovo pomočjo naredili t test. Primerjali smo vzorce telefonov dijakov, ki si roke umivajo redko (manj kot 5 krat na dan), z vzorci telefonov, katerih lastniki si roke umivajo več kot 5 krat na dan. Prav tako smo primerjali vzorce telefonov, ki jih dijaki očistijo zelo redko (enkrat letno ali jih sploh ne čistijo) z vzorci, odvzetimi z redno čistjenimi telefoni (čiščenje vsak dan ali vsaj enkrat na teden).

S programom SPSS pa je bil izračunan Pearsonov in Spearmanov korelacijski koeficient, s katerim smo dokazovali povezavo med higienskimi ukrepi in številom bakterij na mobilnih telefonih.

Za obdelavo podatkov smo zajeli čas uporabe telefona in spodaj opredeljen sklop higienskih ukrepov iz ankete ter jih ovrednotili z ustreznim številom točk, pri čemer smo manj točk dodelili za višje higienske standarde.

Tabela 1: Lestvica za vrednotenje časa uporabe telefona in za vrednotenje higienskih ukrepov

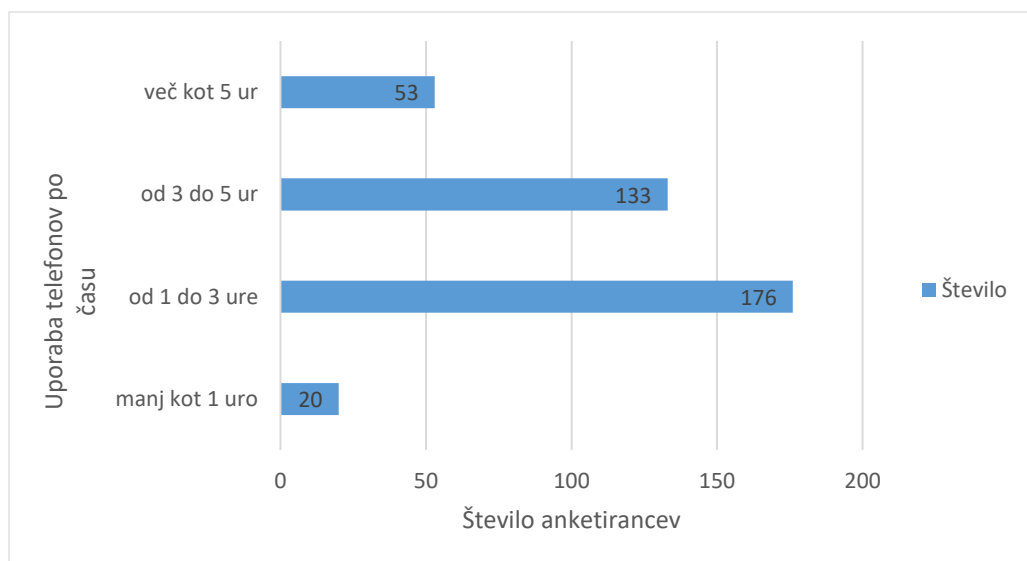
Vprašanja v anketi, povezana s časom uporabe telefona in higienskimi ukrepi	Odgovori v anketi	Število točk
Dnevna uporaba telefona (v urah)	eno uro ali manj	1
	od 1 do 3 ure	2
	od 3 do 5 ur	3
	več kot 5 ur	4
Kolikokrat načrtovano očistite svoj telefon	vsak dan	1
	enkrat na teden	2
	enkrat na mesec	3
	enkrat na leto + nikoli	4
Kako očistite svoj telefon	celotno površino telefona	1
	samo zaslon/tipkovnico	2
	telefona ne čistim	3
Ali telefone uporabljate tudi na WC-ju?	ne	1
	da	2
Na kakšen način v večini primerov telefonirate?	prostoročno z uporabo slušalk	1
	z uporabo zvočnike	2
	telefon prislonim k ušesu	3
Pogostost umivanja rok	več kot 20 krat	1
	več kot 10 krat	2
	med 5 in 10 krat	3
	manj kot 5 krat	4
Uporaba dezinfekcijskega sredstva pri umivanju rok	redno	1
	občasno	2
	nikoli	3

4. REZULTATI

4.1. Rezultati spletne ankete

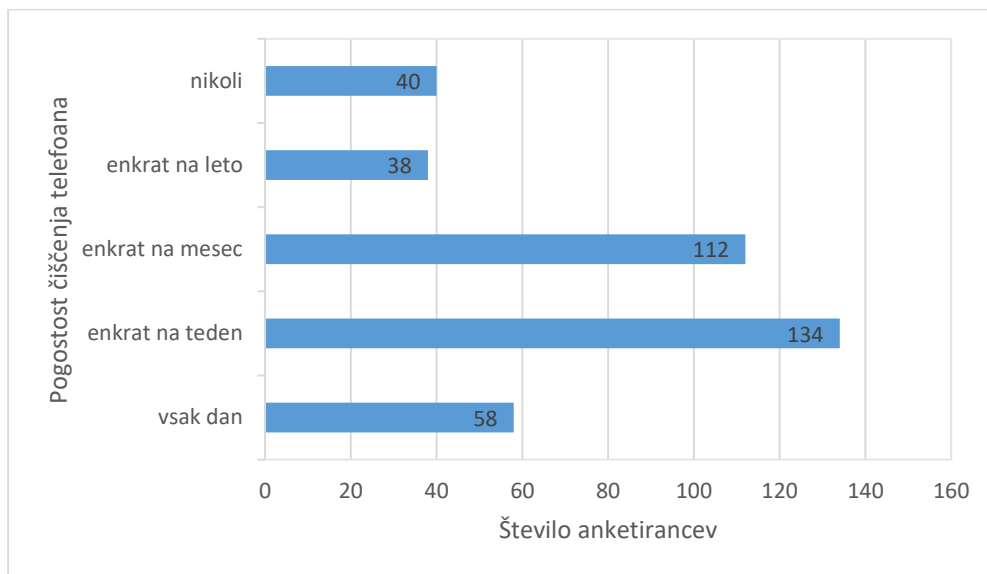
Naš vzorec je vseboval 393 anketirancev, od tega 100 moških (25 %) in 293 žensk (75 %). Povprečna starost anketirancev je bila 16,18 let, povprečna starost telefona pa 2,57 let. V 48 % je prevladovala znamka Apple iPhone, sledil je Samsung s 27% in Huawei z 19%. V 98,2 % je med telefoni prevladoval zaslon na dotik, telefonov s klasično tipkovnico skoraj ni bilo (Priloga 2: diagram 1, 2 in graf 8, 9, 10).

Mobilne telefone anketiranci najpogosteje, v kar 46,1 % uporabljajo med 1 in 3 urami dnevno, 34,8 % telefone uporablja med 3 in 5 urami, pri 5,2 % je časovna dnevna uporaba manj kot 1 uro.



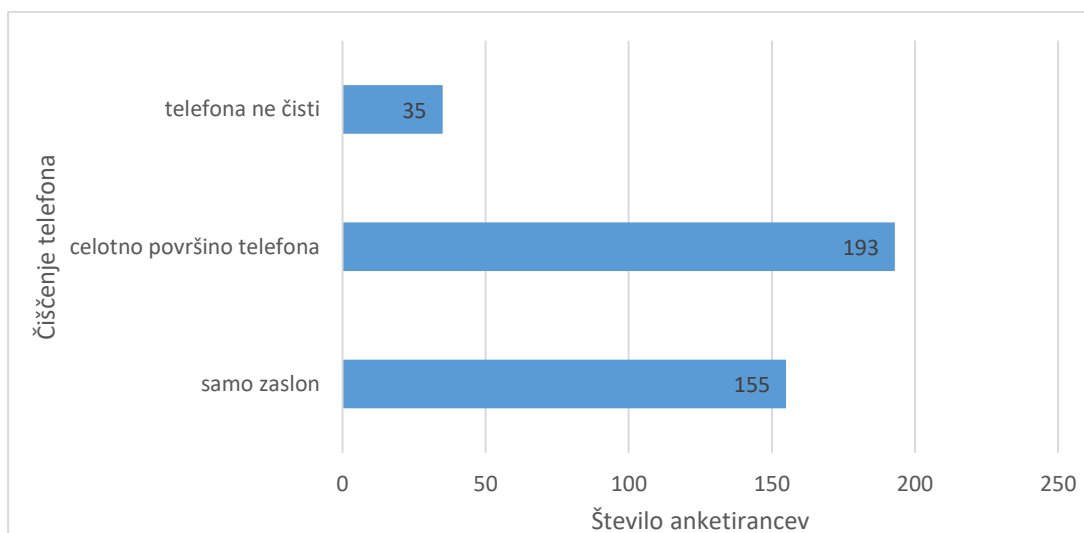
Graf 1: Dnevni čas uporabe telefona

Vsak dan svoje mobilne telefone očisti 58 (15,2 %) anketirancev, 134 (35,1 %) telefone čisti enkrat na teden, 112 (29,3 %) enkrat na mesec in 78 (20,4 %) enkrat na leto ali nikoli.



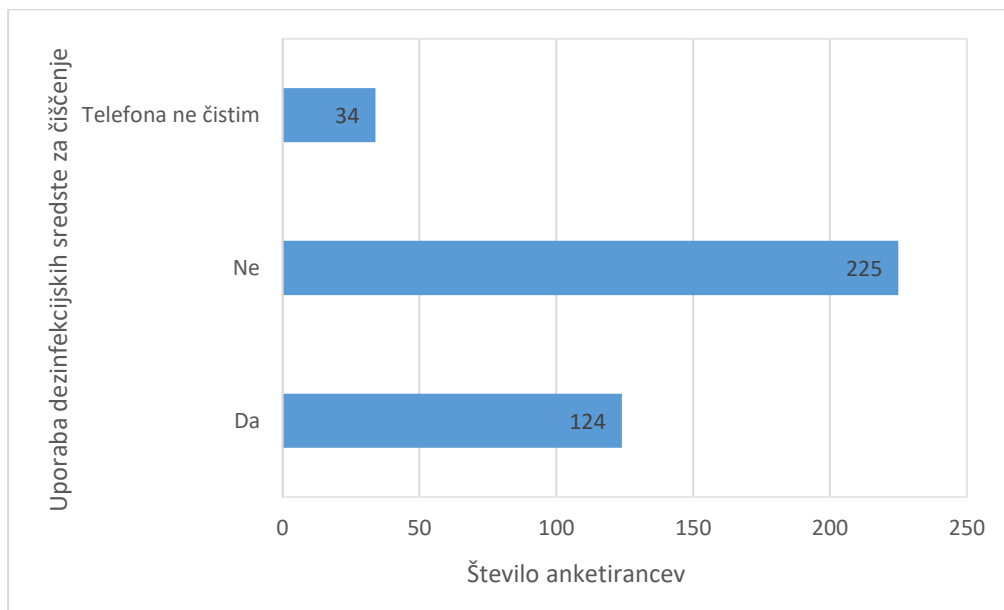
Graf 2: Pogostost čiščenja telefona

193 (50,4 %) anketirancev čisti celotno površino telefona, 155 (40,5 %) jih čisti samo zaslon oz. tipkovnico in 35 (9,1 %) jih telefona ne čisti.



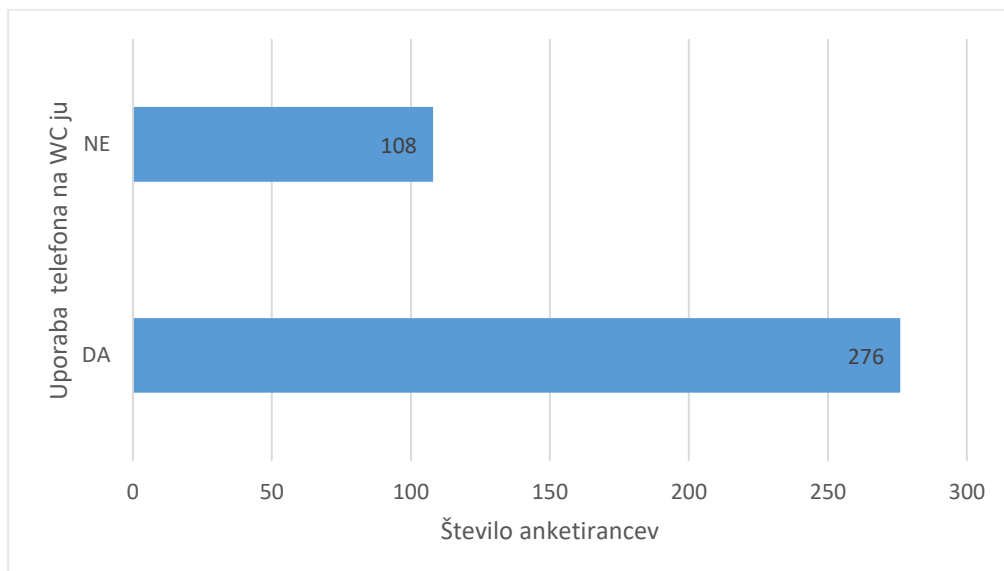
Graf 3: Čiščenje telefona glede na površino

225 (58,7 %) anketirancev svoje telefone čisti z antimikrobnimi sredstvi, 124 (32,4 %) anketirancev z antimikrobnimi preparati svojih telefonov ne čisti, 34 (8,9 %) pa telefonov sploh ne čisti.



Graf 4: Uporaba antimikrobnih preparatov za čiščenje mobilnih telefonov

276 (71,9 %) vprašanih telefone uporablja na WC-ju, 108 (28,1 %) pa ne.



Graf 5: Uporaba mobilnih telefonov v toaletnih prostorih

274 (75,3 %) vprašanih med telefoniranjem telefon prisloni k ušesu, 48 (12,27 %) jih telefonira prostoročno z uporabo zvočnika, in 42 (11,5 %) prostoročno z uporabo slušalk.

Tabela 2: Način telefoniranja in mesto prenašanja mobilnih telefonov

Kako anketiranci telefonirajo (n=364)	
Prislonim k ušesu	274
Prostoročno z uporabo slušalk	42
Prostoročno z uporabo zvočnika	48
Kje anketiranci večinoma prenašajo mobilne telefone (n=357)	
V žepu hlač spredaj	65
V žepu hlač zadaj	78
V žepu jakne	110
V torbi	104

212 (61,3 %) vprašanih si roke umiva med 5 in 10 krat na dan, 58 (16,8 %) več kot 10 krat, 56 (16,1 %) manj kot 5 krat in 20 (5,8 %) več kot 20 krat (Priloga 2: graf 11).

104 (28,9%) anketirancev pri umivanju rok redno uporablja dezinfekcijska sredstva, 125 (27,5 %) občasno, 99 (34,7 %) redko in 32 (8,9 %) nikoli (Priloga 2: graf 12).

4.2. Rezultati eksperimenta

V eksperimentu smo preiskovali kontaminacijo 32 mobilnih telefonov. Vsak preiskovani telefon je bil označen z zaporedno številko, kateri je pripadala tudi enaka številka ankete. Vsak dijak je istočasno, ko je oddal telefon v mikrobiološko analizo, izpolnil tudi anketo, ki jo bomo v nadaljevanju imenovali eksperimentalna anketa. Primer; anketi številka M1 je pripadal mobilni telefon M1 (Priloga 1: Anketa).

4.2.1. Rezultati eksperimentalne ankete

Vsi preiskovani telefoni so bili na dotik. 43,8 % preiskovanih telefonov je v uporabi 1-3 ure na dan, 40,6 % 3-5 ur na dan, 12,5 % več kot 5 ur in 3,1 % manj kot eno uro. 81,25 % uporabnikov telefone uporablja na WC-ju in 18,75 % ne.

65,6 % uporabnikov svojih telefonov ne dezinficira z dezinfekcijskimi sredstvi, 34,4 % pa pravi da telefone dezinficira z dezinfekcijskimi sredstvi. 50 % preiskovancev si roke umiva med 5 in 10 krat, 28,1 % manj kot 5 krat in 21,9 % si roke umiva več kot 10 krat. 6,2 % preiskovancev je povedalo, da si rok nikoli ne dezinficirata, 56,3 % občasno in 37,5 % redno.

4.2.2. Ovrednotenje izolatov mikroorganizmov

Vsi vzorci, odvzeti s telefonov, vključenih v preiskavo, so pokazali kontaminacijo z mikroorganizmi. Število kolonij (CFU), ki so se pojavile na gojišču, se je gibalo od 60 in vse do 8070 na vzorec, v povprečju je bilo 1653 kolonij, glede na obliko in strukturo sklepamo, da v večini primerov bakterijskih.

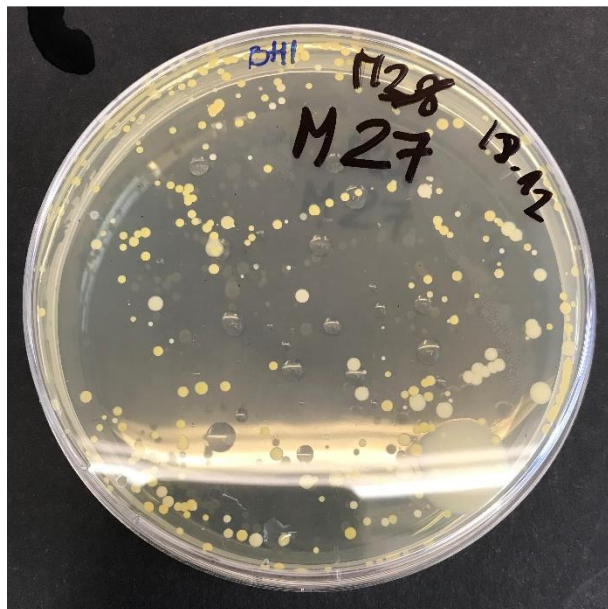
Na posameznih vzorcih smo v petrijevkah našli različno število bakterijskih kolonij. Število različnih vrst bakterijskih kolonij na posameznih petrijevkah je bilo med 1 in 7. Glede na morfologijo kolonij smo med vsemi vzorci identificirali 21 različnih bakterijskih vrst in tri različne vrste plesni.

V petrijevki M1 je bilo 38 bakterijskih kolonij, pri čemer so bile 3 različne.



Slika 12: Bakterijske kolonije na M1 (lastni vir, 2019)

Petrijevka M27 je neštevna (več kot 300 kolonij) in ima 6 različnih bakterijskih vrst.



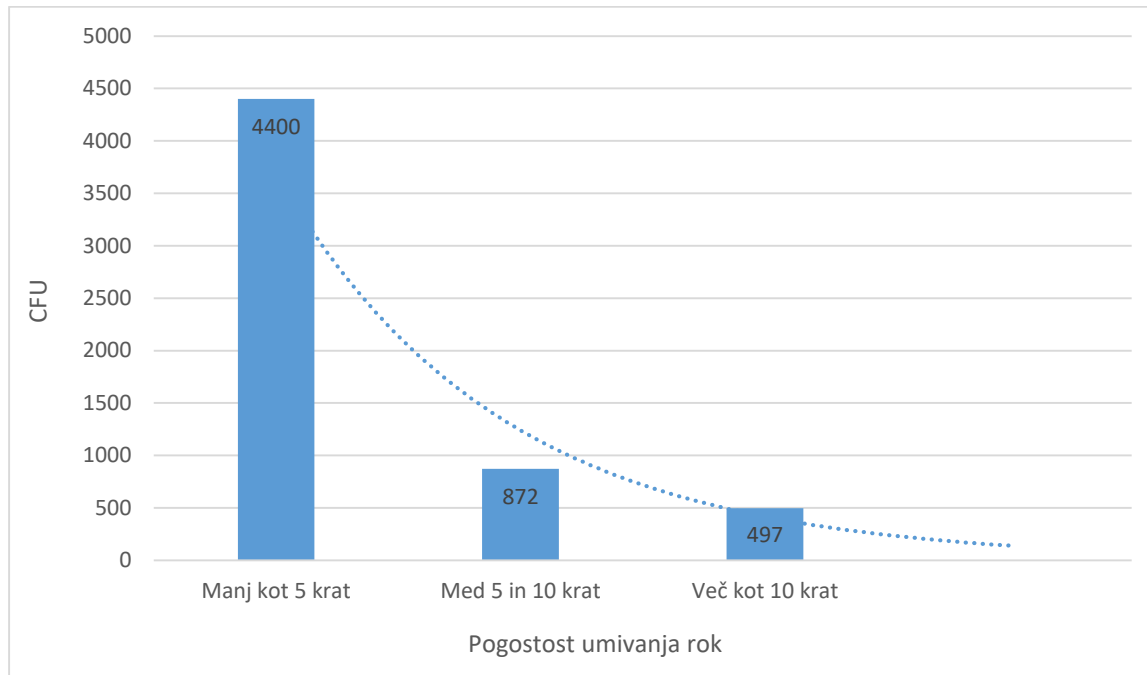
Slika 13: Bakterijske kolonije na M27 (lastni vir, 2019)

V petrijevki M31 smo prešteli 10 bakterijskih kolonij, pri čemer so bile 4 različne bakterijske vrste.



Slika 14: Bakterijske kolonije na M31 (lastni vir, 2019)

Ugotovili smo, da obstaja povezava med vrednostjo CFU in pogostostjo umivanja rok. Anketiranci, ki si roke umivajo pogosteje, imajo na svojih mobilnih telefonih manjše povprečno število kolonij v primerjavi s tistimi, ki si roke umivajo redkeje.



Graf 6: Povezava med CFU in pogostostjo umivanja rok

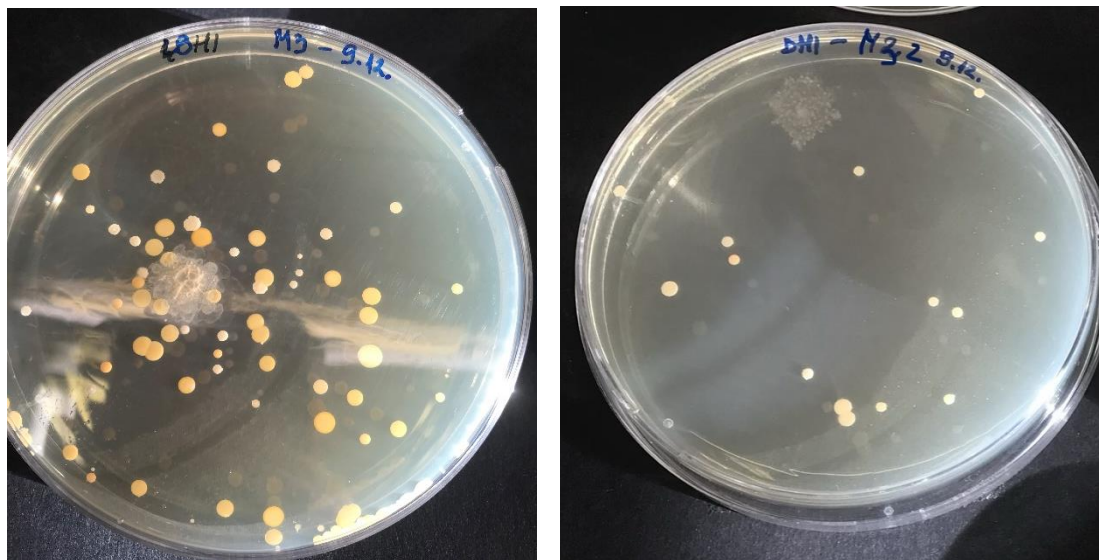
S t testom smo ugotovili, da je število mikroorganizmov (kolonij) na mobilnih telefonih dijakov, ki si roke umivajo redko (manj kot 5 krat) statistično pomembno večje od tistih, ki si roke umivajo pogosto (več kot 5 krat na dan); $p < 0,05$.

Primerjava vzorcev telefonov, ki jih dijaki čistijo redno ali pa čistijo zelo redko, ni pokazala statistično pomembnih razlik ($p > 0,05$).

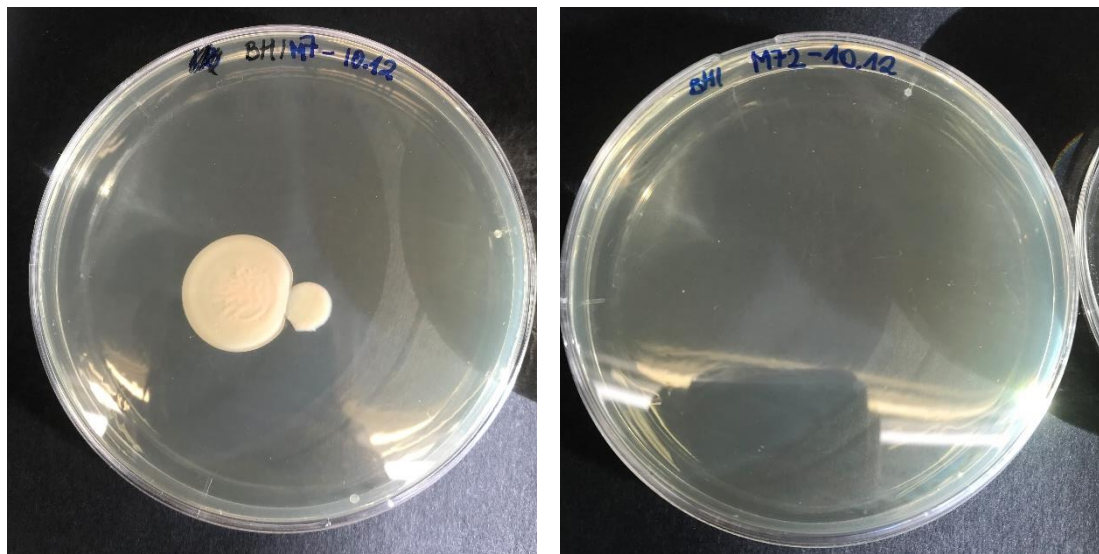
Nismo pa odkrili korelacije med sklopom vseh obravnavanih higienskih ukrepov (Tabela 1) in številom bakterij na mobilnih telefonih testirancev (Spearmanov rho), $p > 0,05$.

4.2.3. Kontaminiranost mobilnih telefonov po uporabi dezinfekcijskih sredstev

Pri naključno izbranih šestih mobilnih telefonih smo odvzeli bris mobilnega telefona po čiščenju z dezinfekcijskim robčkom. Po dezinfekciji telefonov smo na vseh mobilnih telefonih zaznali padec števila bakterij. Pri štirih mobilnih telefonih bakterij na mobilnem telefonu nismo več našli, pri petem mobilnem telefonu je število bakterij padlo za 33%, pri šestem telefonu pa za 86%.



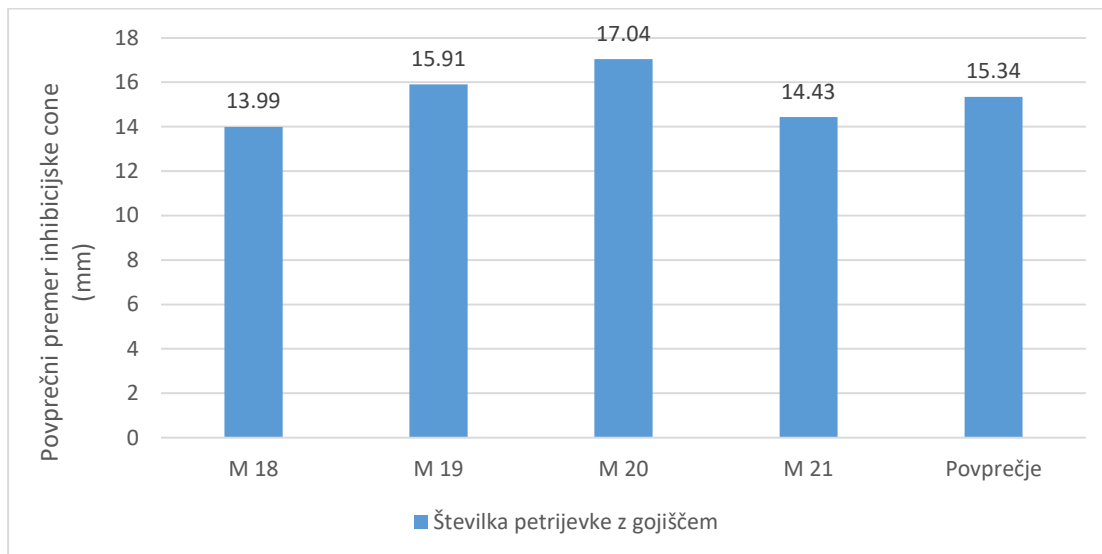
Slika 15: Število kolonij pred in po dezinfekciji (lastni vir, 2019)



Slika 16: Število kolonij pred in po dezinfekciji (lastni vir, 2019)

4.2.4. Metoda difuzije na trdem gojišču

V spodnjem grafu so prikazani povprečni premeri inhibicijskih con okrog diskov, prepojenih z Asepsolom. Metodo smo izvedli z mešanimi kulturami mikroorganizmov, odvzetih s štirih naključno izbranih mobilnih telefonov. Uporabili smo vzorce, odvzete s telefonov M18, M19, M20 in M21.



Graf 7: Povprečni premer inhibicijskih con okoli diskov prepojenih z Asepsolom na štirih testiranih telefonih (M18, M19, M20, M21)



Slika 17: Inhibicijske cone na gojišču s kulturo telefona M19, diski z Asepsolom (lastni vir, 2019)

Okrog vseh diskov, prepojenih z Asepsolom, so se pojavile dobro vidne inhibicijske cone, kar dokazuje, da Asepsol zavira delovanje mikroorganizmov, izoliranih z izbranih telefonov.

Inhibicijske cone okrog diskov, prepojenih z ekstraktom bazilike Tulsi, se niso pojavile na nobenem izmed štirih gojišč.



Slika 18: Ne razvite inhibicijske cone na gojišču s kulturo telefona M20, diski s Tulsi (lastni vir, 2019)

4.2.5. Dokazovanje koliformnih bakterij

Pri nobenem od testiranih mobitelov z MPN metodo nismo zaznali prisotnosti koliformnih bakterij (Priloga 3: tabela 4).

Za dokaz koliformnih bakterij, bi morala biti prisotna kombinacija obojega. Bromkrezol vijolično barvilo, ki se nahaja v gojišču, bi se moralo ob stiku s kislino, ki nastaja pri bakterijski fermentaciji laktoze, spremeniti v rumeno rjavo barvo (slika 19). Obenem pa bi moralo v Durhamovih cevkah priti do produkcije plina, kar se pri nas v nobenem vzorcu ni zgodilo.



Slika 19: Tekoče MPN gojišče (lastni vir, 2019)

Pri metodi s Colilert reagentom pa smo s spremembo barve iz brezbarvne v rumeno dokazali prisotnost koliformnih bakterij v vzorcih kultur, odvzetih s treh telefonov - M22, M29 in M36 (Priloga 3: tabela 5)..



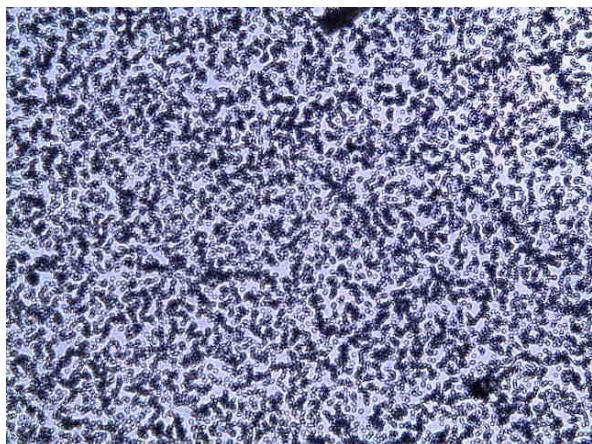
Slika 20: Colilert obarvanje M22 (lastni vir, 2019)



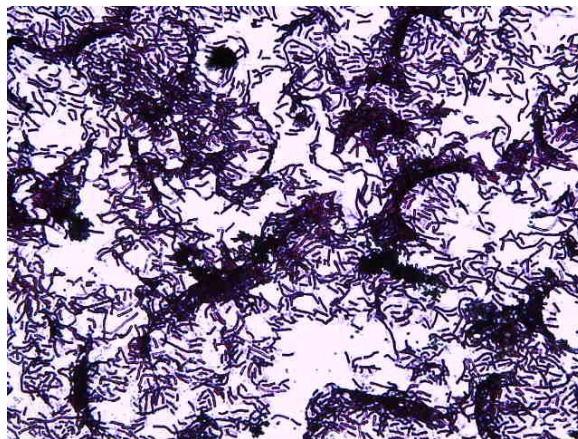
Slika 21: Colilert obarvanje M29 (lastni vir, 2019)

4.2.6. Barvanje po Gramu

Na izbranih telefonih smo bakterije različnih vrst, iz različnih kolonij, pobarvali po Gramu. Dokazali smo prisotnost Gram pozitivnih kokov in paličastih bakterij (bacilov) (Priloga 3: tabela 6).



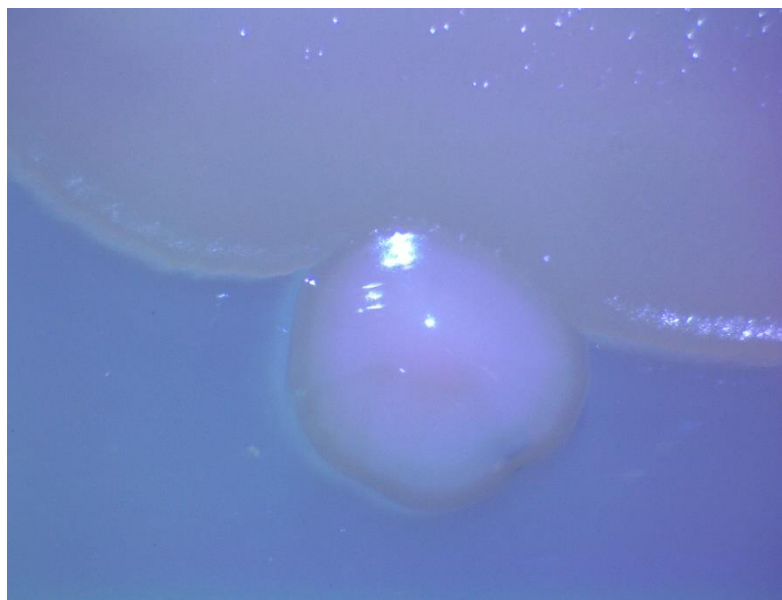
Slika 22: Gram pozitivni koki M3 (lastni vir, 2019)



Slika 23: Gram pozitivni bacili M7 (lastni vir, 2019)

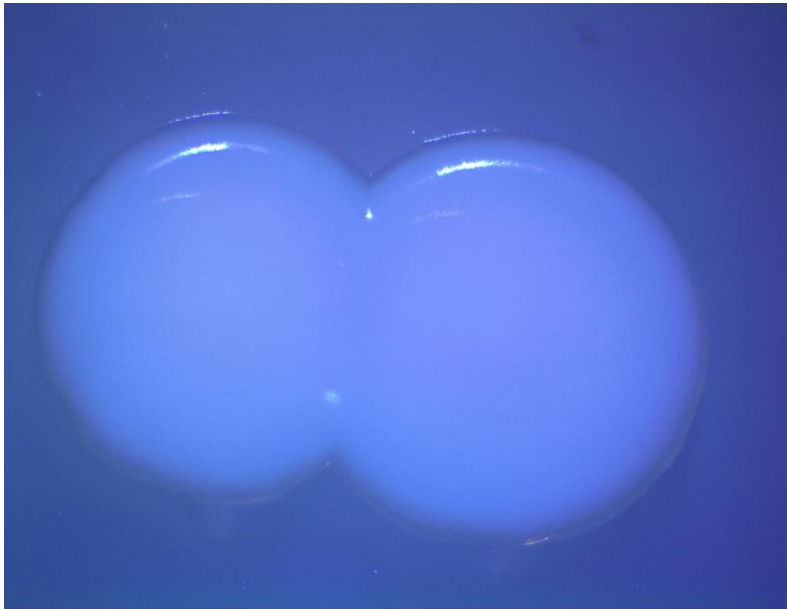
4.2.7. Kvalitativna metoda določanja morfologije bakterijskih kolonij

S stereolupo smo preiskali gojišča z mešanimi kulturami bakterij iz brisov ter prešteli število različnih kolonij in iz tega sklepali na število različnih vrst mikroorganizmov, ki so se nahajali na testiranih telefonih. Z digitalno kamero in stereolupo smo fotografirali vse različne tipe kolonij. Prešteli smo 21 različnih vrst bakterijskih kolonij in 3 različne vrste gliv ter jim z metodo določanja morfoloških značilnosti bakterijskih kolonij določili lastnosti in jih tako med seboj skušali razločiti. Rodov bakterij nismo identificirali, saj za to nismo opravili dovolj testov.



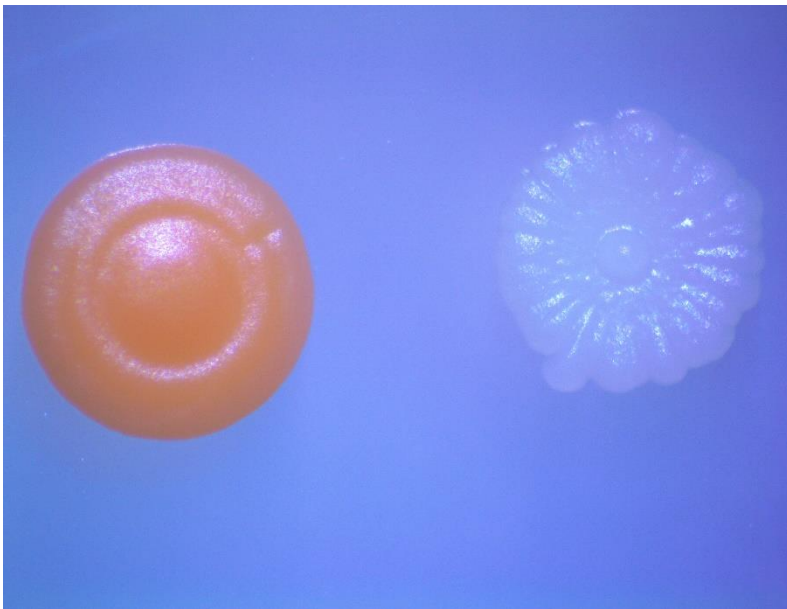
Opis bakterijske kolonije 1: bela, kroglasta, bradavičasta, rahlo valovit rob, enotna struktura

Slika 24: Bakterijska kolonija 1 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 2 (dve zraščeni koloniji): bela, kroglasta, ploščata, raven rob, enotna struktura

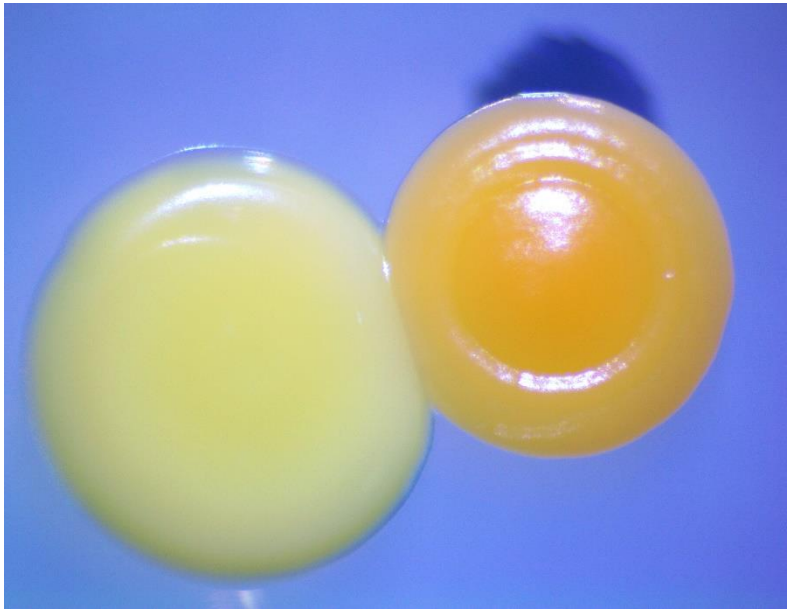
Slika 25: Bakterijska kolonija 2 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 3: oranžna, kroglasta, zunanji rob privzdignjen, centralno bolj konveksna, raven rob, enotna struktura

Opis bakterijske kolonije 4: bela, prosojna, kroglasta, konkavna, valovit rob, vlaknasta struktura

Slika 26: Bakterijska kolonija 3 (levo) in 4 (desno) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 5: svetlo rumena, kroglasta, ploščata, raven rob, enotna struktura

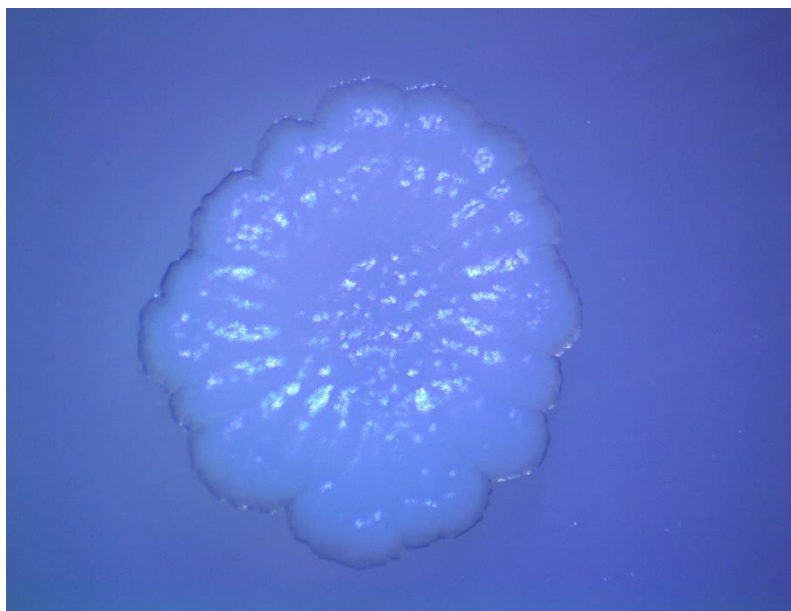
Opis bakterijske kolonije 6: svetlo oranžna, kroglasta, zunanji rob privzdignjen, centralno bolj konveksna, raven rob, enotna struktura

Slika 27: Bakterijska kolonija 5 (levo) in 6 (desno) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 7: mlečno bela, kroglasta, ploščata, raven rob, enotna struktura

Slika 28: Bakterijska kolonija 7 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 8: bela, nepravilna, ploščata v sredini vbočena, resast rob, vlaknasta struktura

Slika 29: Bakterijska kolonija 8 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



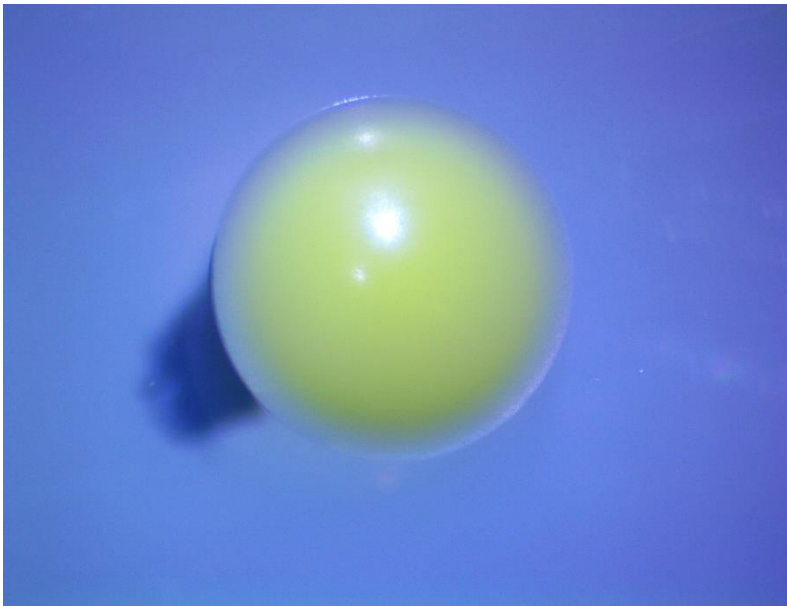
Opis bakterijske kolonije 9: prosojno bela, kroglasta, konveksna (razbrazdana), valovit rob, vlaknasta struktura

Slika 30: Bakterijska kolonija 9 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



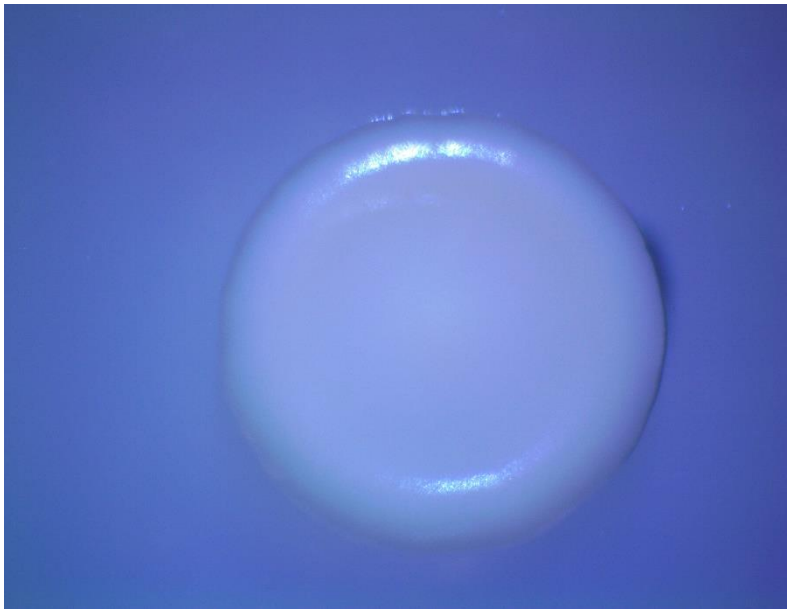
Opis bakterijske kolonije 10:
rumena, svetleča, kroglasta,
ploščata, raven rob, enotna
struktura

Slika 31: Bakterijska kolonija 10 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 11:
zelenkasto rumena, svetleča,
kroglasta, konveksna, raven
svetlejši rob, enotna struktura

Slika 32: Bakterijska kolonija 11 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



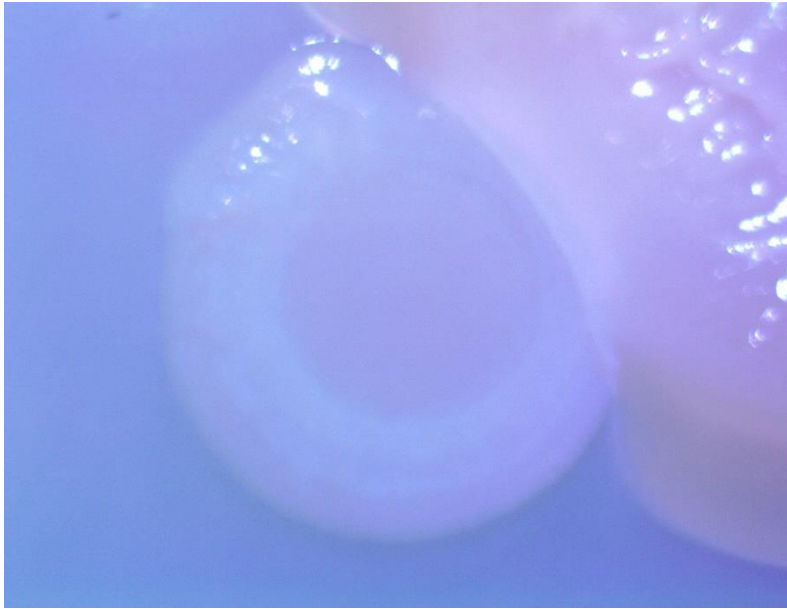
Opis bakterijske kolonije 12: bela, kroglasta, konkavna z privzdignjenim robom, raven rob, enotna struktura

Slika 33: Bakterijska kolonija 12 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 13: bela, navzven kroglasta, navznoter koreninasta, ploščata, raven rob, vlaknasta, v sredini, navzven enotna struktura

Slika 34: Bakterijska kolonija 13 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 13: bela, navzven kroglasta, navznoter koreninasta, ploščata, raven rob, vlaknasta, v sredini, navzven enotna struktura

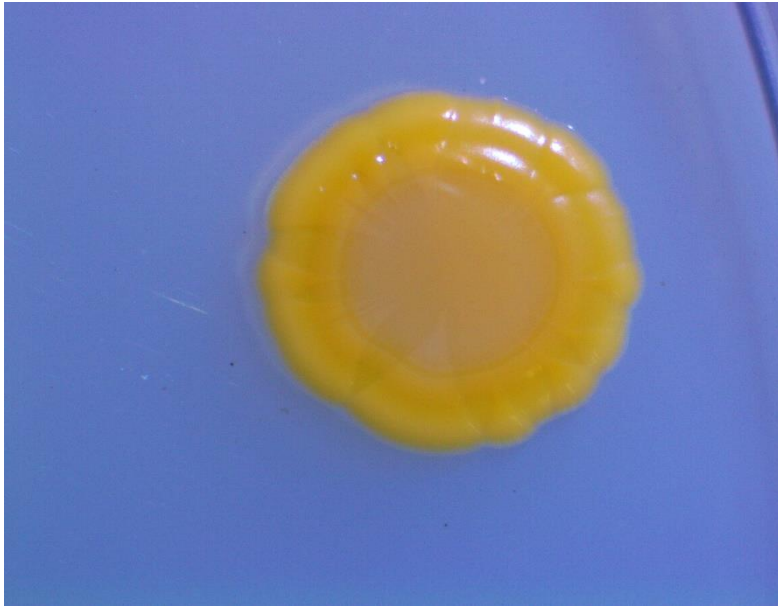
Opis bakterijske kolonije 14: bela, svetleča, kroglasta, navzven privzdignjena, navznoter konkavna, rahlo valovit rob, enotna struktura

Slika 35: Bakterijska kolonija 13 in 14 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



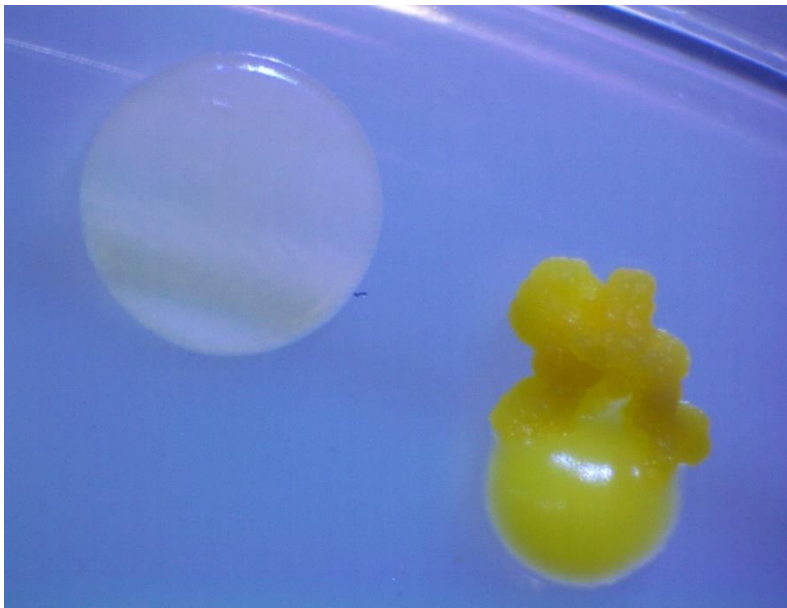
Opis bakterijske kolonije 15: živo rumena, nepravilna oblika, bradavičasta in razbrazdana, resast rob, vlaknasta struktura

Slika 36: Bakterijska kolonija 15 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 16: oranžna, kroglasta oblika z nepravilnim robom, ploščata, vlaknasta struktura

Slika 37: Bakterijska kolonija 16 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis bakterijske kolonije 17: prozorna, kroglasta, ploščata, raven rob, enotna

Opis bakterijske kolonije 18: živo rumena, spodnja polovica kroglasta, dvignjena, raven rob, enotna; bradavičasta in razbrazdana, resast rob, vlaknasta struktura

Slika 38: Bakterijska kolonija 17 (levo) in 18 (desno) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)

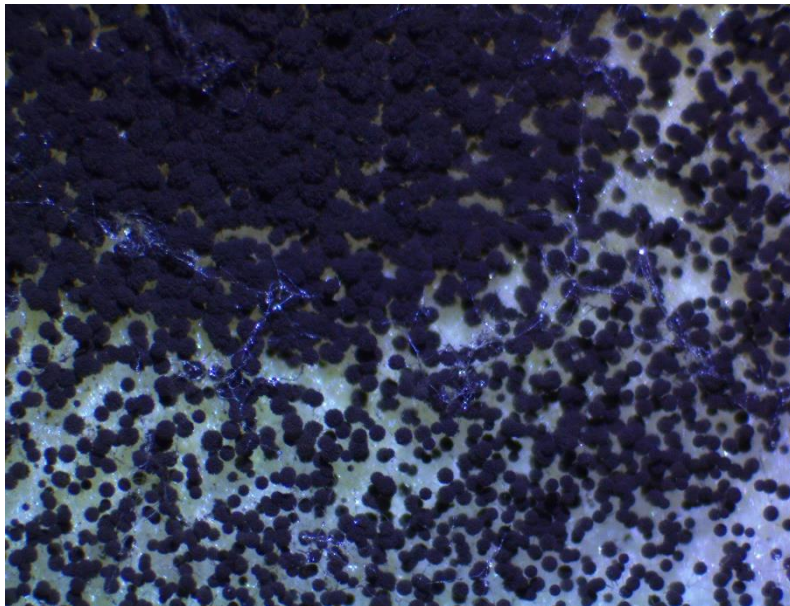


Opis heterogene bakterijske kolonije 19: kroglasta, rumena, ploščata, raven rob, gladka struktura

Opis bakterijske kolonije 20: več kolonij: kroglasta, oranžna, ploščata, raven rob, gladka str.

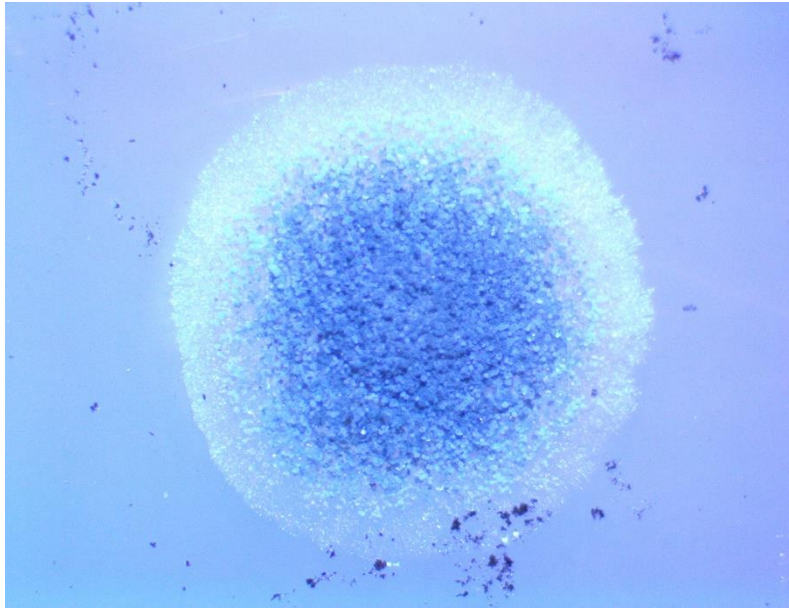
Opis bakterijske kolonije 21: prozorna, konveksna, cvetačasta, razbrazdana, vlaknasta struktura

Slika 39: Bakterijska kolonija 19 (levo), 20 (desno zgoraj) in 21 (sredina) (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



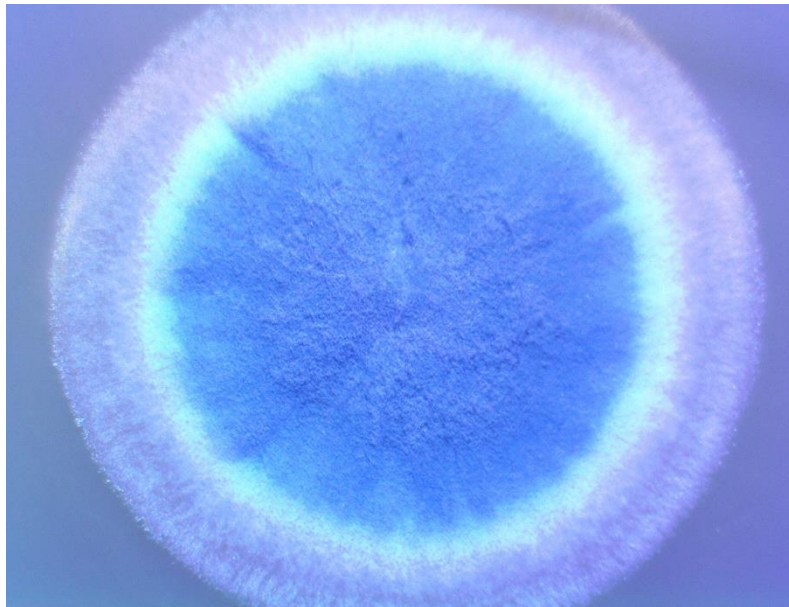
Opis kolonije 22: črna vlaknasta struktura, točkasta oblika

Slika 40: Kolonija črne plesni (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis kolonije 23: modra plesen, centralno temnejša, točkasta, privzdignjena rahlo valovit rob, zrnata struktura

Slika 41: Kolonija modre plesni 1 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)



Opis kolonije 24: modra plesen, centralno temnejša z belo-zelenim in vijoličnim robom, kroglasta, ploščata, raven rob, zrnata struktura

Slika 42: Kolonija modre plesni 2 (lastni vir, posneto s stereolupo Euromex 2019)

5. RAZPRAVA

V vzorcu 32 analiziranih telefonov smo pri vseh ugotovili kontaminiranost z mikroorganizmi. Z metodo direktnega štetja bakterijskih kolonij na ploščah smo ugotovili med 60 in 8070 mikroorganizmov (kolonij) na posameznem vzorcu, povprečno število mikroorganizmov na telefonu pa je znašalo 1653. Glede na morfologijo kolonij so mikroorganizmi pripadali 21 različnim bakterijskim vrstam in trem vrstam plesni.

Tako lahko potrdimo hipotezo 1, saj smo dokazali kontaminacijo vseh testiranih mobilnih telefonov z večjim številom mikroorganizmov različnih vrst.

Prav tako so kontaminacijo mobilnih telefonov v vseh vzorcih, odvzetih z mobilnih telefonov, potrdili tudi v raziskavi, ki so jo naredili med srednješolci v študiji Estonske univerze. Z dodatnimi molekularnimi študijami so dokazali, da sta *E. coli* in rod *Enterococcus* med nedominantnimi bakterijskimi vrstami, na telefonih so bili večinoma identificirani predstavniki kožne mikrobiote (Kõljalg, in drugi, 2017).

Tudi v drugih raziskavah je bilo ugotovljeno, da je na vzorčenih telefonih v kar 16 % prisotna *E. coli*. Prav tako pogosta bakterija, ki se nahaja na naših mobilnih telefonih, je *Staphylococcus aureus*. Na površinah telefonov se lahko nahaja tudi virus gripe, ki je na telefonih sposoben preživeti tudi do 24 ur. S površine telefonov so izolirali tudi bakterijo *Clostridium difficile*, ki lahko povzroči hudo drisko. Prav tako se lahko na mobilnikih nahajajo tudi streptokoki, ki so nevarni predvsem za otroke, in tudi kvasovke iz rodu *Candida* (Kõljalg, in drugi, 2017; Zakai, in drugi, 2015).

Z metodo MPN za dokazovanje koliformnih bakterij nismo dokazali prisotnosti koliformnih bakterij. Za dokaz koliformnih bakterij bi morala biti prisotna kombinacija nastajanja plina in kisline. Spremeniti bi se morala barva iz vijolične v rumeno, hkrati pa bi moral biti v cevkah viden plin.

Ker je pri naših vzorcih v 69 % prišlo samo do spremembe barve v rumeno to najverjetneje nakazuje na prisotnost stafilokokov, značilnih bakterij kože, saj naj bi le-ti povzročali spremembo barve bromkrezol vijoličnega iz vijolične v rumeno. Verjetno se v naših vzorcih MPN gojišč

koliformne bakterije niso pojavile, saj smo za prenos v MPN gojišče uporabili le 100 µL suspendirane kulture brisa, kar je verjetno premalo.

Študije pravijo, da obstajajo povezave med mikroorganizmi na koži rok in mikroorganizmi na telefonih, saj je kar 40 % rok zdravstvenih delavcev in 32 % telefonov le-teh kontaminiranih predvsem s kožno mikrofloro (*Staphylococcus epidermidis*). Med kontaminacijo telefonov in rok so zaznali povezavo pri bakterijah, ki se prenašajo nazokomialno, kot so *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp* v manj kot 10 % (Sepehri, in drugi, 2009).

Prav tako smo koliformne bakterije dokazovali z uporabo Colilert 18 reagenta. S to metodo smo dokazali prisotnost koliformnih bakterij na treh telefonih. Kljub temu, da je številka majhna, je podatek zaskrbljujoč. Koliformne bakterije same po sebi ne veljajo za škodljive, kljub temu pa lahko koliformne bakterije v pitni vodi kažejo na morebitno prisotnost škodljivih mikroorganizmov, ki povzročajo bolezni. Večinoma nepatogeni koliformi so lahko tudi oportunistično patogeni, kar pomeni, da se bo okužba pojavila v primeru oslABLJENE imunosti zaradi obstoječe bolezni. Koliformi lahko kot oportunistično patogeni povzročajo infekcije dihal, kože, sečil, krvi, jeter, žolčnika, meningitis ter vnetje centralnega živčnega sistema. Nekateri sevi, odporni na antibiotik, predstavljajo pomembne bolnišnične bakterijske patogene, saj so lahko povzročitelji nevarnih bolnišničnih okužb (Greenwood, in drugi, 2007).

Naše rezultate potrjuje tudi britanska raziskava, kjer so ugotovili, da je eden od šestih mobilnih telefonov splošne populacije ljudi v Veliki Britaniji kontaminiran s fekalnimi bakterijami, kar 16 % mobilnih telefonov in enak delež rok je okužen z *E. coli* (London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2011).

Hipotezo 2 potrjujemo, saj smo z metodo Colilert dokazali prisotnost koliformnih bakterij pri skoraj 10 % testiranih telefonov.

Razlike med obema metodama za dokazovanje koliformnih bakterij so najverjetneje posledica tega, ker smo pri MPN metodi uporabili le manjšo količino vzorca, za metodo Colilert pa celoten vzorec brisa.

Z analizo podatkov smo ugotovili, da obstaja povezava med pogostostjo umivanja rok in številom mikroorganizmov na površini telefonov. S t testom smo potrdili, da imajo tisti dijaki, ki si povprečno manjkrat umivajo roke, na svojih mobilnih telefonih večje število kolonij, razlika je statistično pomembna ($p < 0,05$). Rezultati so pričakovani, saj naj bi mikroorganizmi na telefonih izvirali prav z rok, kar je glavni vir kontaminacije mobilnih telefonov (Köljalg, in drugi, 2017). Glede na večino omenjenih dosedanjih raziskav kot tudi iz naših rezultatov, je razvidno, da so naši telefoni vektorji za prenos potencialno patogenih bakterij kožne mikroflore in fekalnih bakterij. Zato se nam zdi smiselno poudarjati pomen primerne higiene rok in pazljivosti pri uporabi mobilnih telefonov v primerih, kjer je higiena pomembna, na primer pri jedi.

Primerjava vzorcev telefonov, ki jih dijaki čistijo redno ali pa čistijo zelo redko, pa ni pokazala statistično pomembnih razlik ($p > 0,05$). Očiščeni telefoni se zelo hitro kontaminirajo z mikroorganizmi, sploh če je higiena naših rok slaba, zato se učinek čiščenja telefona, ki smo ga dokazali (slika 15, slika 16) verjetno hitro zmanjša.

Ker smo našli povezavo med umivanjem rok in številom bakterijskih kolonij, nismo pa dokazali statistično pomembne povezave med čiščenjem telefona in bakterijskimi kolonijami, lahko trdimo, da je pomembneje očistiti svoje roke, kot telefon.

Študije, kjer so poleg analiz telefonov delali še analize rok, nakazujejo na prenos velikega števila mikroorganizmov z rok na telefone in obratno (Sepehri, in drugi, 2009).

Na telefonih smo z morfološko analizo odkrili 21 različnih bakterijskih vrst, kar kaže na pestro raznovrstnost mikrobiote. Rezultati bi lahko bili zanesljivejši, če bi se pri analizi opirali na različne biokemijske teste za natančno določitev rodov bakterij. Prav tako pa obstajajo različna gojišča, ki omogočajo rast različnim bakterijam in virusom, ki jih nismo uporabili. Z uporabo različnih gojišč bi lahko morfološko dokazali še višje število različnih bakterijskih vrst. Z izbiro ustrezne metode za dokazovanje določenih virusov bi morda lahko določili tudi nekatere viruse.

Tudi v Britanski študiji so ugotovili, da so mobilniki v tako visokem številu najverjetneje kontaminirani zaradi slabe higiene rok, predvsem zaradi nezadostne higiene rok po uporabi stranišč (London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2011).

Pri ugotavljanju korelacije med celotnim sklopom higienskih ukrepov (Spearmanov rho), ki smo jih ovrednotili po lestvici (tabela 1), povezanimi s čiščenjem rok, čiščenjem telefona in uporabe telefonov na straniščih ter številom mikroorganizmov, pa statistično pomembne povezave nismo dokazali ($p > 0,05$).

Prav tako kot naša študija tudi študija, narejena na 105 telefonih na Medicinski fakulteti KAU, ni ugotovila statistične povezave med uporabo telefona na WC-ju in med prisotnostjo *S. aureusa* (Zakai, in drugi, 2015).

Verjetno bi dobili drugačne rezultate, če bi namesto z anketo, higieno rok preverjali z brisom rok in te brise analizirali. Tako bi se najverjetneje pokazala zanesljivejša korelacija med higieno rok in kontaminacijo telefonov. Ankete niso popolnoma zanesljiv vir, ko sprašujejo o občutljivih temah. Sami smo pri odgovorih zaznali, da osebe, ki si na primer roke umivajo zelo redko, v odgovorih navedejo, da si roke vedno dezinficirajo, kar ni higiensko pravilno in zato je lahko delež zanesljivosti (vrednosti) rezultata vprašljiv.

Hipotezo 3 tako ne moremo potrditi. Dokazali smo samo povezavo med pogostostjo umivanja rok in številom bakterijskih kolonij, ne pa tudi povezave med čiščenjem telefonov in številom bakterijskih kolonij ter tudi ne korelacije med vsemi testiranimi higienskimi ukrepi in številom mikroorganizmov.

V naši nalogi se je glede na rezultate difuzije na trdem gojišču Asepsol izkazal kot dokaj učinkovito antimikrobno sredstvo. Ker so bile inhibicijske cone dokaj podobnih velikosti to pomeni, da so vse bakterijske vrste podobno občutljive na Asepsol. Glede na rezultate pri metodi difuzije na trdnem gojišču z Asepsolom lahko z veliko verjetnostjo potrdimo hipotezo v delu, da Asepsol deluje kot dezinfekcijsko sredstvo na mikroorganizme naših telefonov.

Da je dekontaminacija mobilnih telefonov z alkoholnimi preparati učinkovita potrjuje več študij, saj dekontaminacije oz. čiščenje telefona s 70 % alkoholom signifikantno zmanjša bakterijsko obremenitev oz. kontaminacijo (Beer, in drugi, 2006; Neely, in drugi, 2002).

Na petrijevkah, pri katerih smo uporabili antimikrobno sredstvo Tulsi, se na trdnem difuzijskem gojišču niso pojavile inhibicijske cone. To nakazuje na to, da Tulsi kot antimikrobno sredstvo ni deloval. Glede na znanstvene ugotovitve in uporabnosti Tulsi, Tulsi najverjetneje ni deloval, ker smo verjetno pripravili prenizko koncentracijo ekstrakta, saj znanstvene študije dokazujejo njegove antimikrobne učinke. Eterično olje, etanolni in vodni ekstrakti Tulsi bazilike, so v več raziskavah pokazali antimikrobno delovanje proti različnim vrstam bakterij (Agarwal P., 2010). Glavne sestavine, odgovorne za antimikrobno delovanje, so najverjetneje kafra, eukaliptol in eugenol (Yamani H.A., 2016).

Glede na omenjene ugotovitve, lahko z zagotovostjo trdimo, da je za dezinfekcijo površin bolje uporabljati Asepsol Eko kot pa naravni rastlinski ekstrakt Tulsi.

Asepsol je namreč močno dezinfekcijsko sredstvo sestavljeno iz didecildimetil amonijevega klorida in izopropilnega alkohola, ki delujeta močno baktericidno in fungicidno, hkrati pa ne uničuje površin. Deluje na MRSA humani bolnišnični sev bakterij (EN 1276) in viruse hepatitisa B, C in HIV. Ne učinkuje na acidorezistentne bakterije (*M. tuberculosis*) in na bakterijske spore (PLIVAsept, brez datuma).

Tulsi vodni ekstrakt je bil v našem primeru neučinkovit zaradi premajhne koncentracije vodnega ekstrakta. V višjih koncentracijah bi učinkoval z večjimi premeri inhibicijskih con, saj rastlina vsebuje več kot 70 % eugenola v eteričnem olju, ki je dokazano lokalni naravni antiseptik (Brence, 2019).

Glede na rezultate zavračamo hipotezo v delu, da rastlinski ekstrakt Tulsi na mikroorganizme naših telefonov deluje kot učinkovito dezinfekcijsko sredstvo. Kljub temu menimo, da bi bilo dobro opraviti dodatne raziskave v tej smeri, da spodbudimo iskanje novih, naravnih antimikrobnih sredstev.

Glede na izbrane rezultate smo ugotovili, da večina srednješolcev mobilne telefone uporablja na straniščih in da mobilne telefone srednješolci uporabljajo vsaj 3 ure na dan. Kot že prej omenjeno in potrjeno iz različnih raziskav, ima lahko uporaba telefonov na straniščih negativne posledice, saj se telefoni lahko kontaminirajo s fekalnimi bakterijami. Prav tako pa je pomemben tudi čas preživljen na telefonih, saj z dotikanjem zaslona vedno znova kontaminiramo telefon z različnimi

mikroorganizmi, kar je obenem tudi posledica slabe higiene rok. Ugotovili smo tudi, da 75,3 % vprašanih telefone pri telefoniranju prisloni k ušesu in da 39,2 % vprašanih telefone nosi v hlačnem žepu. Ta podatek je zaskrbljujoč zaradi potencialnega negativnega vpliva elektromagnetnega sevanja (Inštitut za neionizirana sevanja, 2012). Temu primerno je priporočljivo, da sledimo previdnostnemu principu in telefoniramo prostoročno, hkrati pa telefonov ne nosimo v hlačnih žepih.

Hipotezo 5 torej potrjujemo, saj so navade srednješolcev v skladu z našimi pričakovanji.

5.1. Vrednotenje metod in možne izboljšave

Ocenjujemo, da je bila metoda direktnega štetja kolonij mikroorganizmov ustrezna, saj smo uspeli prešteti vse kolonije na petrijevkah. Neštevnost kolonij se je pojavila le na treh telefonih, zato bi morali pri teh vzorcih pripraviti redčitveno vrsto. Različne vrste mikroorganizmov smo lahko razločili po metodi določanja morfologije bakterijskih kolonij. Metoda je sicer ustrezna, za večjo zanesljivost smo za določanje morfoloških lastnosti kolonij uporabili tudi stereolupo, vendar bi lahko z nekaterimi biokemijskimi testi, ki jih v našem omejenem šolskem laboratoriju nismo opravili, določili tudi rodove mikroorganizmov in ugotavljali prisotnost potencialno patogenih vrst bakterij, ki so jih potrdili v ostalih raziskavah.

Za večjo zanesljivost naših rezultatov, bi moral naš vzorec vsebovati večje številko telefonov.

Pri dokazovanju koliformnih bakterij je bila metoda s Colilert-18 reagentom ustrezna, saj smo pri vzorcih kultur, odvzetih s treh telefonov, dokazali prisotnost koliformnih bakterij. Po drugi strani pa je bila metoda z MPN gojiščem za dokazovanje koliformnih bakterij neprimerna, saj se v našem primeru nista pojavila oba od zahtevanih pogojev, ki dokazujeta prisotnost koliformnih bakterij. Verjetno bi bilo potrebno povečati količino vzorca bakterijske kulture, da bi lahko zanesljivo potrdili morebitno prisotnost ali odsotnost koliformnih bakterij.

Ocenjujemo, da je bil eden izmed razlogov, da nismo uspeli dokazati korelacije med celotnimi higienskimi ukrepi (tabela 1) in številom kolonij v tem, da nekatera vprašanja v anketi niso bila dovolj jasno postavljena. Zaradi občutljivosti tematike, je (glede na naše izsledke, izpeljane iz analize odgovorov) možnost tudi v tem, da ljudje odgovorov ne podajo točno v skladu z realnostjo

njihovih higienskih navad. Temu primerno bi bilo boljše hkratno opravljanje brisov rok in mobilnih telefonov.

Pri posameznem parametru pogostosti umivanja rok in številom kolonij, pa smo povezavo dokazali s t testom. Z enakim testom pa nismo dokazali povezave med parametrom čiščenja telefona in številom kolonij. Glede na naše rezultate je torej čiščenje rok pomembnejše od čiščenja telefonov, saj se telefoni v primeru slabe higiene rok po očiščenju ponovno kontaminirajo z mikroorganizmi, zato bi bilo smiselno nadaljevati raziskave v tej smeri.

Dezinfekcijsko sredstvo Asepsol se je dokazalo kot učinkovito antimikrobno sredstvo, zato ocenjujemo, da je bila metoda ustrezna. Potrebno bi bilo preizkusiti tudi nižje koncentracije tega produkta. Žal naravno sredstvo iz Tulsi bazilike ni pokazalo antimikrobnega učinka. Poskus bi morali ponoviti in uporabiti višjo koncentracijo rastlinskega ekstrakta. V nasprotju z našimi rezultati so v raziskavah dokazali sposobnost Tulsi kot antimikrobno sredstvo, torej to vsekakor nakazuje na neustreznost naše metode. Kljub temu menimo, da bi bilo dobro opraviti dodatne raziskave v smeri raziskovanja novih naravnih antimikrobnih učinkovin, ki bi jih lahko uporabljali kot dezinfekcijsko sredstvo in s tem prispevali k manjši kemizaciji našega okolja.

6. DRUŽBENA ODGOVORNOST

Pri izbiri tematike raziskovalne naloge in pri eksperimentalnem delu naloge smo upoštevali osnovna načela družbene odgovornosti. Pri eksperimentalnem delu smo se držali vseh varnostnih pravil, da bi zavarovali sebe in okolje, v katerem smo delo opravljali.

Naloge smo se lotili z namenom poučiti sebe in družbo o kontaminaciji in posledičnimi nevarnostmi, ki jih prinaša vsakodnevna uporaba naprav. Želeli smo ustvariti prispevek k temu, kar je o tovrstni tematiki že raziskano.

Resnica je, da večina bakterij, ki končajo na naših telefonih, prihaja s površin, ki se jih telefoni dotikajo, kot so šolske ali jedilne klopi, pisarniške površine, naše roke in navsezadnje tudi stranišča. Usta so eden izmed najpomembnejših poti prenosa in vnosa mikroorganizmov, zato je pametna in dobrodošla navada, da umazanega telefona med jedjo ne uporabljamo in ga odstranimo z mize. Povprečen človek preveri svoj mobilni telefon približno enkrat na 12 minut ali 80-krat na dan. To morda ne zveni kot veliko, ampak uporaba mobilnih telefonov znaša do 23 dni na leto in 3,9 let povprečnega življenja osebe (Koc, in drugi, 2015). To pomeni, da so naše roke neprekinjeno na naših mobilnikih in nas mobilni telefoni spremljajo pri skoraj vseh dnevnih opravilih, tudi na stranišču. Na žalost je kopalnica zelo nečisto okolje in je verjetno vzrok za večino patogenih bakterij, ki se končajo na naših telefonih.

Z našo raziskovalno nalogo spodbujamo, da se ljudje naučijo o pomembnosti higienskih navad in s tem tudi pravilnega umivanja rok. Le to obeležujemo s Svetovnim dnevom umivanja rok, ki je vsako leto 15. oktobra. Na ta dan se ozavešča ljudi, da naj umivanje rok z milom spremenijo v samodejno odgovorno vedenje, ki naj bo globoko zasidrano v našem vsakdanjem življenju. Med drugim želimo uporabnike spodbuditi, da telefonov ob obisku toaletnih prostorov ne uporabljajo. Ključno priporočilo, glede na zaključke naše raziskovalne naloge je, da skrbno upoštevamo vsa priporočila glede higiene rok in tudi mobilne telefone čistimo vsakodnevno, vsaj s suho krpo iz mikrovlačen ali celo z dezinfekcijskimi sredstvi/robčki.

Sicer je zaenkrat takšen postopek v nasprotju s priporočili proizvajalcev mobilnih telefonov, ki uporabo tovrstnih dezinfekcijskih sredstev odsvetujejo. Vsekakor bi razmišljanje v smeri izvajanja dezinfekcije telefonov bilo potrebno tudi s strani proizvajalcev.

Ekperimentalnega dela naloge smo se lotili odgovorno in vse kontaminirane materiale varovali ter odstranili na predpisan način.

7. ZAKLJUČEK

Namen našega raziskovalnega dela je bil dosežen. Pri vseh v eksperiment zajetih mobilnih telefonih smo dokazali kontaminacijo z več različnimi mikroorganizmi, večinoma bakterijami. Na nekaterih telefonih smo ugotovili tudi prisotnost koliformnih bakterij, zaradi česar odsvetujemo uporabo mobilnih telefonov v toaletnih prostorih. Potrdili smo povezavo med pogostostjo umivanja rok in številom mikroorganizmov na telefonih. Glede na to je ključno priporočilo naše raziskovalne naloge, da skrbno upoštevamo vsa priporočila glede higiene rok, in da mobilnikov tako v toaletnih prostorih kot med prehranjevanjem ne uporabljamo. V času epidemij pa smo z njimi bolj pazljivi tudi pri ostalih opravilih.

Ugotovili smo, da z dezinfekcijo učinkovito dekontaminiramo površino mobilnih telefonov, vendar je ta učinek le kratkotrajen, saj se mobilnikov običajno kmalu spet dotikamo z rokami, ki so polne mikroorganizmov.

Večjo pozornost je potrebno torej nameniti umivanju rok.

Želeli smo se poglobiti v to pomembno tematiko in opozoriti na problematiko kontaminacije mobilnih telefonov srednješolcev, ki jo lahko glede na globalne trende prenesemo na širšo populacijo. Medtem ko je zaradi velikega števila dosedanjih raziskav že jasno, da so mobilni telefoni vir mnogih nevarnosti, se nam zdi najpomembneje, da nadalje opozarjamo na to problematiko in spodbujamo omejevanje njihove uporabe in pravilne higienske navade, posebej med mladimi ljudmi, kjer se vzorci navad za življenje še vzpostavljajo. Tako lahko – tudi v času novih globalnih aktualnih tveganj širjenja infekcijskih bolezni – preprečimo različna neprijetna bolezenska stanja in bolje pazimo na svoje zdravje.

8. ZAHVALA

Želela bi se zahvaliti mentoricama, da sta mi pri raziskovanju pomagali od prvih korakov pa vse do konca. Zahvaljujem se obema za stalno pomoč, usmerjanje, vse diskusije in nasvete. Rada bi se zahvalila vsem dijakom, ki so sodelovali in mi s tem pomagali pri raziskovanju. Najlepša hvala tudi biološkemu in fizikalnemu aktivu ter šoli za možnost uporabe laboratorija.

9. VIRI IN LITERATURA

1. **Agarwal P., Nagesh L. 2010.** Evaluation of the antimicrobial activity of various concentrations of Tulsi (*Ocimum sanctum*) extract against *Streptococcus mutans*: An in vitro study,. [Elektronski] 2010. <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2010;volume=21;issue=3;spage=357;epage=359;aulast=Agarwal>.
2. **Beer, Darcy, in drugi. 2006.** Bacterial contamination of health care workers' pagers and the efficacy of various disinfecting agents. november 2006, str. 1074-5.
3. **Brence, Ana. 2019.** *Primerjava antimikrobne učinkovitosti eugenola, indol-3-karbinola in karvona s triksanom.* 2019.
4. **Centers for Disease Control and Prevention. 2008.** Centers for Disease Control and Prevention. *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities.* [Elektronski] 2008. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/disinfection-methods/index.html>.
5. **Dragaš, Ana Zlata. 2004.** *Mikrobiologija z epidemiologijo.* Ljubljana : DZS, 2004. str. 65-102. Izv. 2.izd. ISBN 86-341-3827-5.
6. **Encyclopedia Britannica. 2019.** *Encyclopedia Britannica, Holy basil.* 2019.
7. **Farmadent. 2003.** Varnostni list Asepsol eko. www.farmadent.si. [Elektronski] september 2003. http://www.farmadent.si/listine/asepsol_eko.pdf.
8. **Greenwood, David, in drugi. 2007.** *Medical Microbiology, A Guide to Microbial Infections.* sedemnajsta. Edinburg : Churchill Livingstone Elsevier, 2007. str. 285-354, 178-92. ISBN: 978-0-443-10209-7.
9. **Holnthaner Zorec, K. 2019.** *Mikrobiologija in biotehnologija, navodilo za vaje, 3. letnik - izbirna biologija.* Maribor : s.n., 2019.
10. **Inštitut za neionizirana sevanja. 2012.** Inis.si. *Kako zmanjšati sevanje.* [Elektronski] 2012. <http://www.inis.si/index.php?id=344#.Xj8EFm5Fyzk>.
11. **Kabir, o. Akinyemi in Audu , D Atapu. 2009.** The potential role of mobile phones in the spread of bacterial infections. [Elektronski] 2009. <file:///C:/Users/info/AppData/Local/Temp/Akinyemimobilearticle-1.pdf>.
12. **Koc, Tugba in Koc, Tugba. 2015.** Time for Digital Detox: Misuse of Mobile Technology and Phubbing. [Elektronski] 2015. https://www.researchgate.net/publication/280529125_Time_for_Digital_Detox_Misuse_of_Mobile_Technology_and_Phubbing/.

13. **Kõljalg, Siiri in Mandar, Rando. 2017.** High level bacterial contamination of secondary school students' mobile phones. [Elektronski] junij 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5466825/>.
14. **London School of Hygiene & Tropical Medicine. 2011.** Contamination of UK mobile phones and hands revealed. [Elektronski] oktober 2011.
https://commed.vcu.edu/IntroPH/Food&Law/2011/cellphones_fecalbacteria.pdf.
15. **Neely, Alice in Sitting, Dean. 2002.** Basic Microbiologic and Infection Control Information to Reduce the Potential Transmission of Pathogens to Patients via Computer Hardware. 2002, Izv. 9, str. 500-508.
16. **NLZOH Nova Gorica. 2013.** Uvedba Collilert in Enterolert metode za hitro mikrobiološko testiranje vod. *gepgis.eu*. [Elektronski] NIJZ, NLZOH, junij 2013. [Navedeno: 5.. januar 2020.] http://www.gepgis.eu/sl/wp-content/uploads/2013/06/WP8_Uvedba-COLILERT-in-ENTEROLERT-METODE.pdf.
17. **PLIV Asept. brez datuma.** Varnostni list Asepsol Eko. *www.pliva-sept.hr*. [Elektronski] brez datuma. <http://www.pliva-sept.hr/proizvodi/dezinficijensi-povrsine/Asepsol-eko-11.html>.
18. **Prevention, Centers for Disease Control and. 2008.** Desinfection, Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. [Elektronski] 2008.
<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/disinfection-methods/index.html>.
19. **Sanolabor. brez datuma.** *www.sanolabor.si. Ročki Prima*. [Elektronski] brez datuma.
<https://www.sanolabor.si/si/medicinski-pripomocki/robcki-prima-refil-lemon-fresh-120-kom>.
20. **Selim, Heba in Abaza, Amani. 2015.** Microbial contamination of mobile phones in a health care setting in Alexandria; Egypt. [Elektronski] 2015.
https://www.researchgate.net/publication/272519104_Microbial_contamination_of_mobile_phones_in_a_health_care_setting_in_Alexandria_Egypt/link/5523cf7e0cf2c815e0732842/download. ISSN 2196-5226.
21. **Sepehri, Gholamreza , Tebibzadeh , Nooshin in Mirzazadeh, Ali. 2009.** Bacterial Contamination and Resistance to Commonly Used Antimicrobials of Healthcare Workers' Mobile Phones in Teaching Hospitals, Kerman, Iran. [Elektronski] 2009.
<file:///C:/Users/info/AppData/Local/Temp/ajas65693-697-16082009.pdf>. ISSN 1546-9239.
22. **Sichani, Maryam in Karbasizadeh, Vajiheh. 2011.** Bacterial contamination of healthcare workers' mobile phones and efficacy of surface and decolonization techniques. *African Journal of Microbiology Research*. 5, 2011.

23. **Sivaraja P., Dhandapani S., Ponnusamy S., Subbaiyan M. 2012.** Effect of Tulsi (*Ocimum sanctum*) as a Disinfectant for Water Treatment. [Elektronski] 2012.
https://www.researchgate.net/publication/259318001_Effect_of_Tulsi_Ocimum_sanctum_as_a_Disinfectant_for_Water_Treatment/link/00b7d52afe22579e77000000/download.
24. **Sriram, Srikanthan in Kumar, Parangimalai Diwakar. 2018.** Effectiveness of isopropyl alcohol and ultraviolet based sanitizer on decontamination of mobile phones used by dental personnel. [Elektronski] november 2018.
[https://idhjournal.com/article/S2468-0451\(17\)30158-X/fulltext](https://idhjournal.com/article/S2468-0451(17)30158-X/fulltext).
25. **Statistični urad RS. 2019.** www.stat.si. [Elektronski] 2019.
<https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/8562>.
26. **Tagoe, D N, Ansah, E O in Gyande , V K. 2011.** Bacterial Contamination of Mobile Phones: When Your Mobile Phone Could Transmit More Than Just a Call. [Elektronski] 2011.
file:///C:/Users/info/AppData/Local/Temp/Mobile_phones_and_nosocomial_infections.pdf
f. ISSN 2046-1690.
27. **Turk, M in Zalar, P. 2013.** *Mikrobiologija - vaje (Gradivo za vaje)*. Ljubljana : Oddelek za biologijo, Biotehnična fakulteta, Univerza v Ljubljani, 2013.
28. **Yamani H.A., Pang E.C, Mantri N., Deighton M.A. 2016.** Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) Essential Oil and Their Major Constituents against Three Species of Bacteria. [Elektronski] maj 2016.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4868837/>.
29. **Zakai, Shadi in Mashat , Abdulah. 2015.** Bacterial Contamination of cell phones of medical students at King Abdulaziz University. [Elektronski] 2015.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6014197/>.

10. PRILOGE

10.1. Priloga 1: Anketa

Vprašalnik: **Mikroorganizmi na mobilnih telefonih dijakov**

Draga dijakinja, dragi dijak. Sem Lara Rečnik, 3.A in pred vami je vprašalnik, s katerim si želim za svojo raziskovalno nalogo pridobiti čim več informacij v zvezi z mikroorganizmi na mobilnih telefonih. Vprašalnik je anonimen.

Prosim, če **dopišete** oziroma **obkrožite/podčrtate** pravilni odgovor.

Spol uporabnika: Moški Ženski Starost uporabnika: _____

Starost telefona: _____ Znamka telefona: _____

1. Kakšno vrsto mobilnega telefona imate?

- Telefon z zaslonom na dotik (»touch screen«) - telefon s klasično tipkovnico

2. Koliko časa dnevno uporabljate telefon?

- eno uro ali manj - od 1 do 3 ure - od 3 do 5 ur - več kot 5 ur

3. Kolikokrat očistite (načrtno obrišete) svoj telefon?

- vsak dan - enkrat na teden - enkrat na mesec - enkrat na leto - nikoli

4. Kako očistite svoj telefon?

- samo zaslon/ tipkovnico - celotno površino telefona - telefona ne čistim

5. Ali za čiščenje telefona uporabljate antimikrobne (dezinfekcijske) preparate/robčke?

- da - ne - telefona ne čistim

6. Ali telefone uporabljate tudi na WC-ju?

- da - ne

7. Kje večinoma prenašate telefone, ko jih ne uporabljate?

- v žepu hlač (spredaj) - v žepu hlač (zadaj) - v žepu jakne - v torbi - drugje: _____

8. Na kakšen način v večini primerov telefonirate?

- telefon prislonim k ušesu - prostoročno (z uporabo slušalk) - z uporabo zvočnika

9. Kolikokrat na dan in ob kakšnih priložnostih si čez dan umijete roke?

10. Ali za umivanje rok uporabljate dezinfekcijska sredstva?

- da, občasno - da, redno - nikoli

10.2. Priloga 2: Rezultati spletne ankete

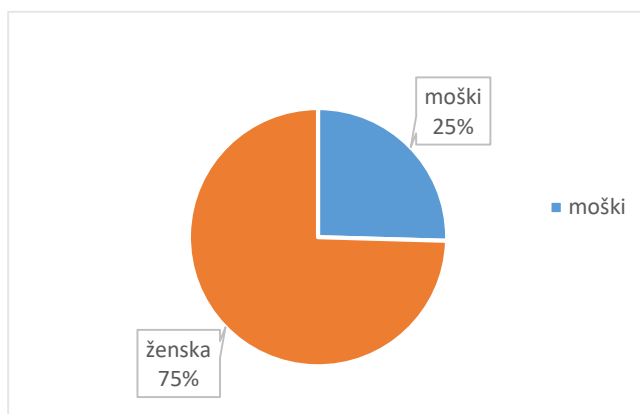
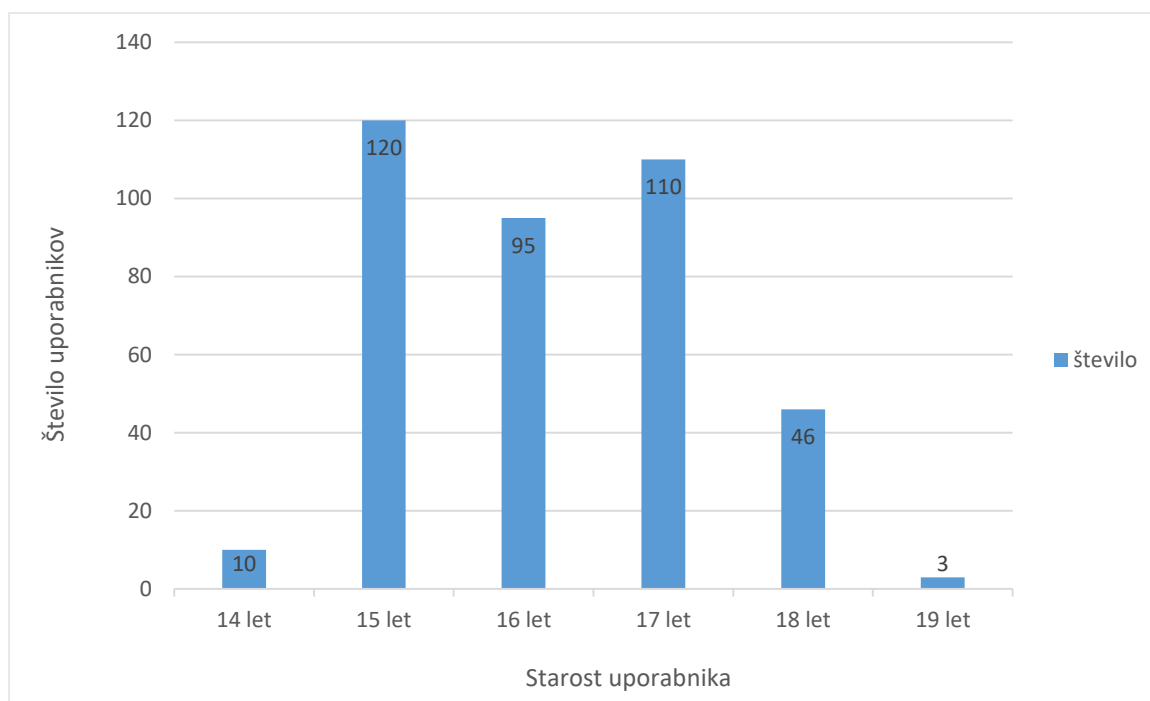
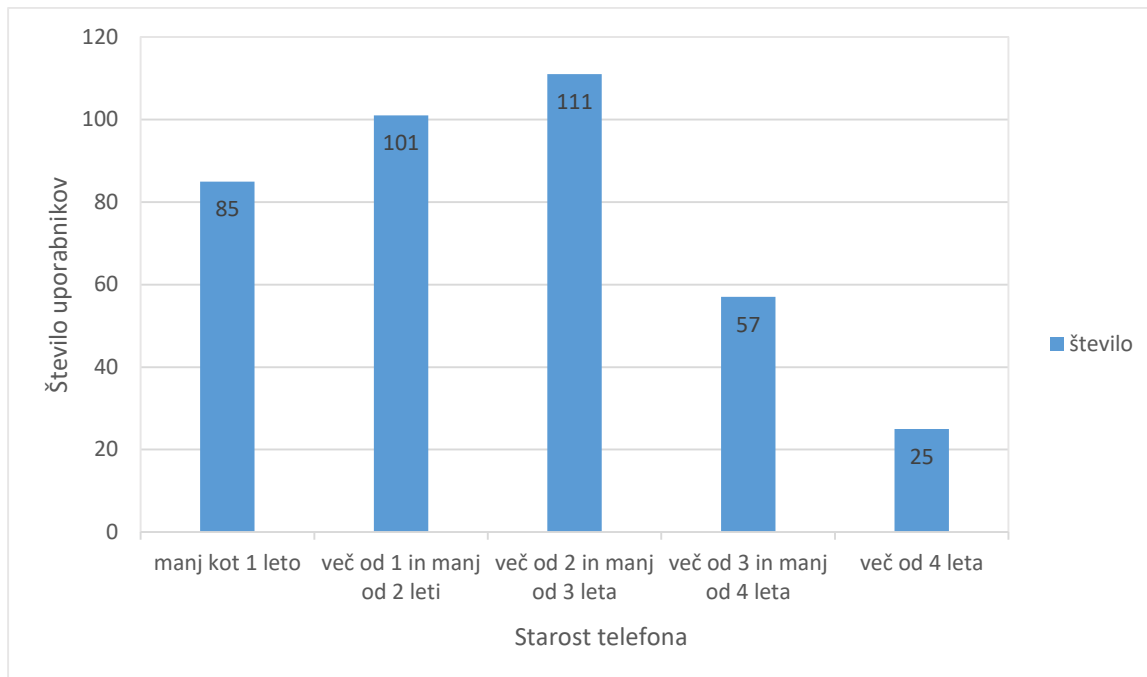


Diagram 1: Uporabniki mobilnih telefonov glede na spol



Graf 8: Starost uporabnika



Graf 9: Starost telefona

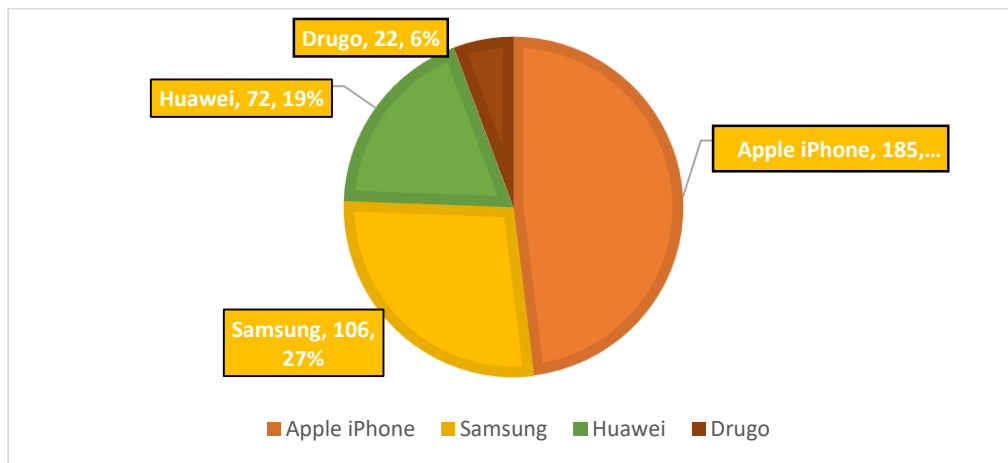
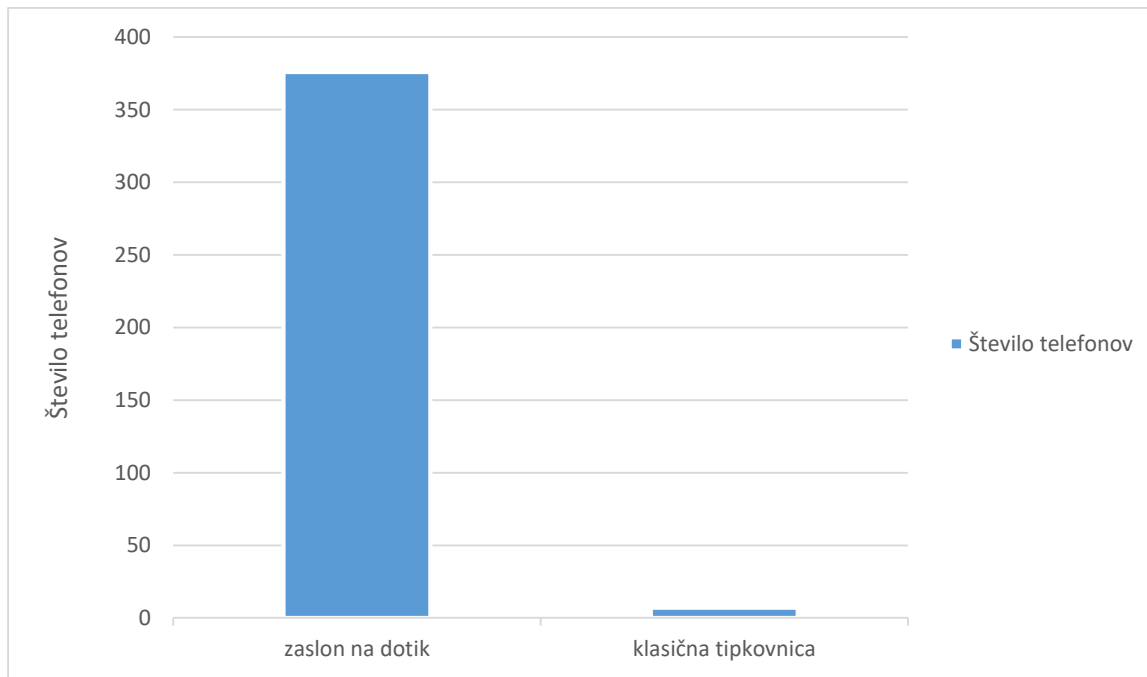
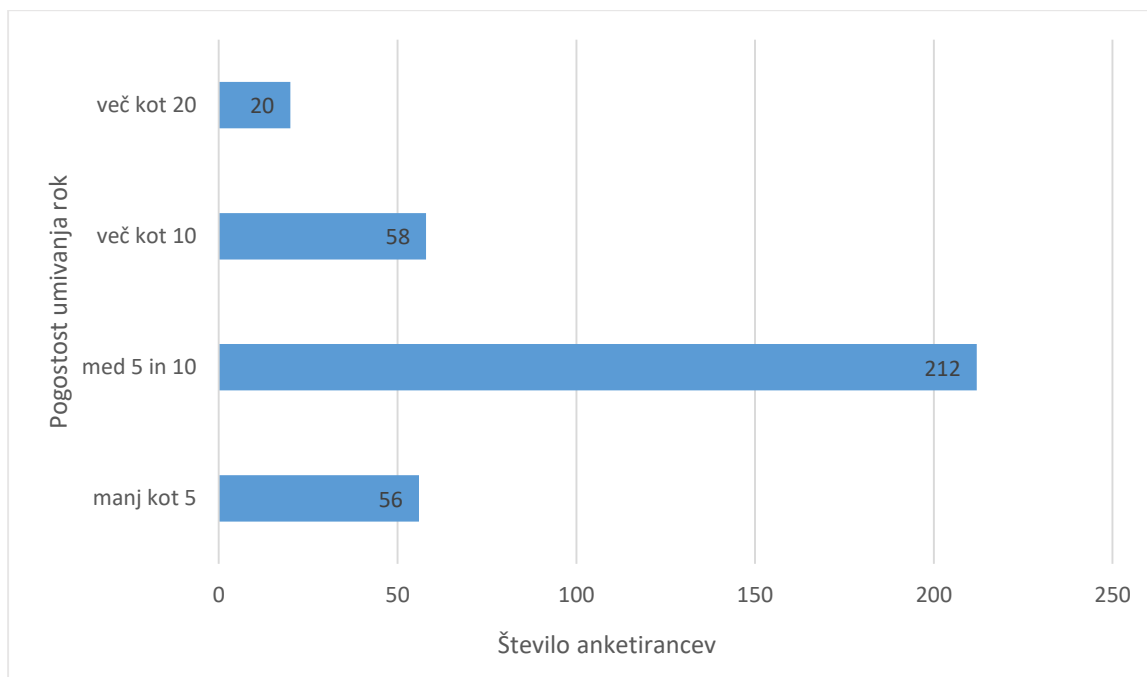


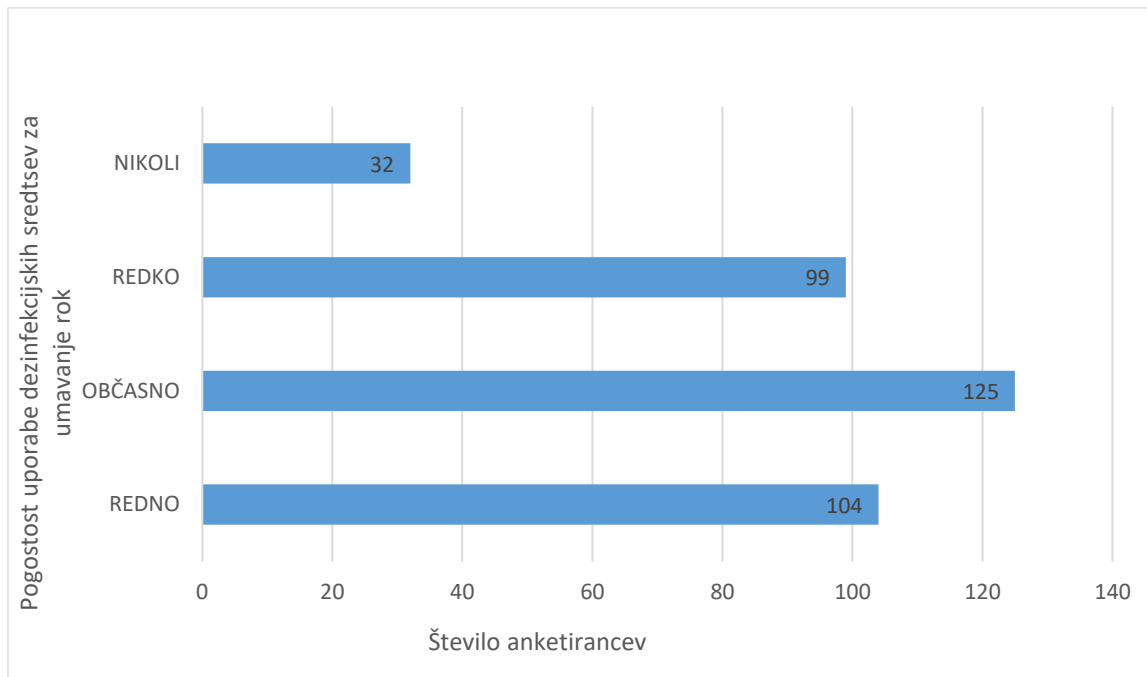
Diagram 2: Znamka telefona



Graf 10: Število telefonov glede na zaslon



Graf 11: Pogostost umivanja rok



Graf 12: Pogostost uporabe dezinfekcijskih sredstev za umivanje rok

10.3. Priloga 3: Rezultati eksperimentalnega dela

Tabela 3: Povprečni premer inhibicijskih con (mm) pri Asepsolu

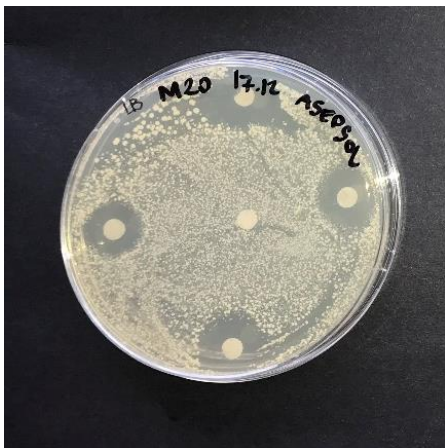
Zaporedna številka mobitela	Inhibicijske cone (mm) in število ponovitev meritev				Povprečna meritev vsake cone	Povprečna meritev vseh con v petrijevki (mm)	Povprečna meritev vseh petrijevk (mm)
M18	1.	12,88	13,16	12,69	12,91	13,99	15,34
	2.	13,20	15,75	13,95	14,30		
	3.	15,52	14,34	16,13	15,33		
	4.	12,93	15,12	12,20	13,42		
M19	1.	15,82	16,89	12,52	15,08	15,91	
	2.	17,25	15,48	14,18	15,61		
	3.	16,28	16,72	16,46	16,49		
	4.	15,58	13,68	20,09	16,45		
M20	1.	15,09	14,44	13,94	14,49	17,04	
	2.	28,10	18,01	19,12	21,74		
	3.	18,57	17,63	14,18	16,79		
	4.	16,13	14,92	14,47	15,17		
M21	1.	14,26	13,99	14,64	14,30	14,43	
	2.	14,66	14,53	14,01	14,40		
	3.	15,44	12,83	12,54	13,60		
	4.	17,86	14,91	13,49	15,42		



Slika 43: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 18 z Asepsolom (lastni vir, 2019)



Slika 44: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 19 z Asepsolom (lastni vir, 2019)



Slika 45: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 20 z Asepsolom (lastni vir, 2019)



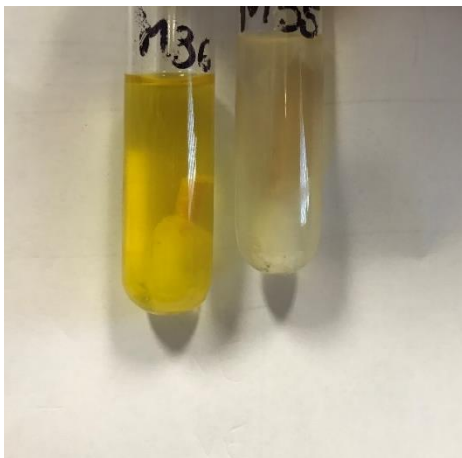
Slika 46: Inhibicijske cone na difuzijskem gojišču M 21 z Asepsolom (lastni vir, 2019)

Tabela 4: Dokazovanje koliformnih bakterij z bromkrezol vijoličnim in Durhamovimi cevkami

Zaporedna številka mobitela	Sprememba barve tekočega gojišča z bromkrezol vijoličnim barvilom MPN gojišče	Nastanek plina	Prisotnost koliformnih bakterij
M1	Rjavo vijolična	NE	–
M2	srednja obarvanost (rjava)	NE	–
M3	srednja obarvanost (rjava)	NE	–
M4	večja obarvanost (temno rjava)	NE	–
M5	oranžna (med svetlo in večjo)	NE	–
M6	rumena	NE	–
M7	vijolična	NE	–
M8	vijolična	NE	–
M9	vijolična	NE	–
M10	vijolična	NE	–
M11	vijolična	NE	–
M12	vijolična	NE	–
M13	vijolična	NE	–
M14	vijolična	NE	–
M15	vijolična	NE	–
M16	vijolična	NE	–
M17	vijolična	NE	–
M18	vijolična	NE	–
M19	vijolična	NE	–
M20	motna /rumena	NE	–
M21	motna /rumena	NE	–
M22	temno rumena	NE	–
M23	temno rumena	NE	–
M24	vijolična	NE	–
M25	vijolična	NE	–
M26	temno rumena	NE	–
M27	temno rumena	NE	–
M28	temno rumena	NE	–
M29	temno rumena	NE	–
M30	rumena	NE	–
M31	oranžno rumena	NE	–
M32	vijolično rjava	NE	–
M33	oranžno rumena	NE	–
M34	rjavo rumena	NE	–
M35	bledorjavo rumena	NE	–
M36	bledo rumena	NE	–
M37	vijolična	NE	–
M38	rjava	NE	–
M39	Rumeno rjava	NE	–
M40	Rumeno rjava	NE	–

Tabela 5: Prisotnost koliformnih bakterij po Colilert metodi

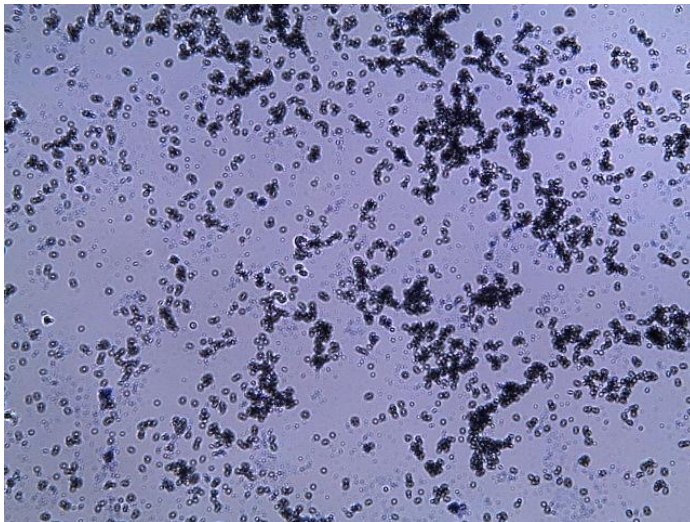
Zaporedna številka mobitela	Prisotnost obarvanja
M14	NE
M15	NE
M16	NE
M17	NE
M18	NE
M19	NE
M20	NE
M21	NE
M22	DA
M23	NE
M24	NE
M25	NE
M26	NE
M27	NE
M28	NE
M29	DA
M30	NE
M31	NE
M32	NE
M33	NE
M34	NE
M35	NE
M36	DA
M37	NE
M38	NE
M39	NE
M40	NE



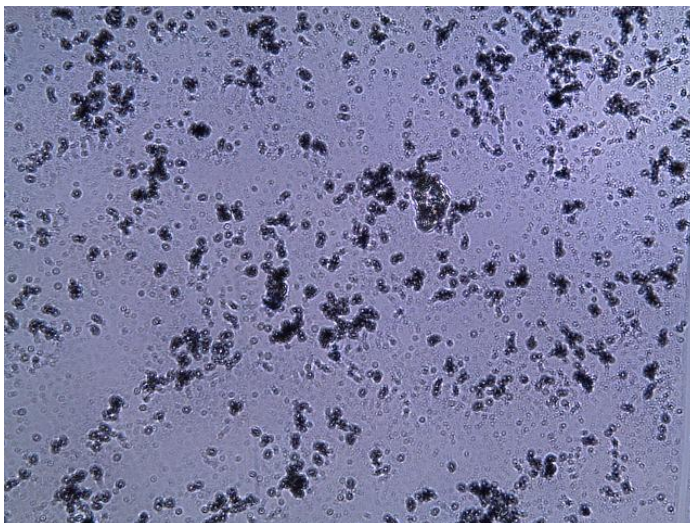
Slika 47: Colilert obarvanje M 36 (lastni vir, 2019)

Tabela 6: Barvanje po gramu

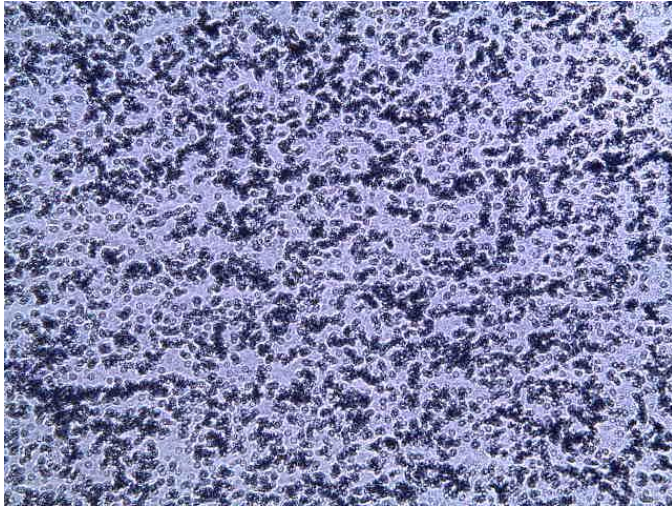
Zaporedna številka mobitela	Vrsta različnih kolonij bakterij	Barvanje po Gramu
M2	koki	Gram pozitivne
M24	koki	Gram pozitivne
M242	koki	Gram pozitivne
M3	koki	Gram pozitivne
M7	paličaste	Gram pozitivne



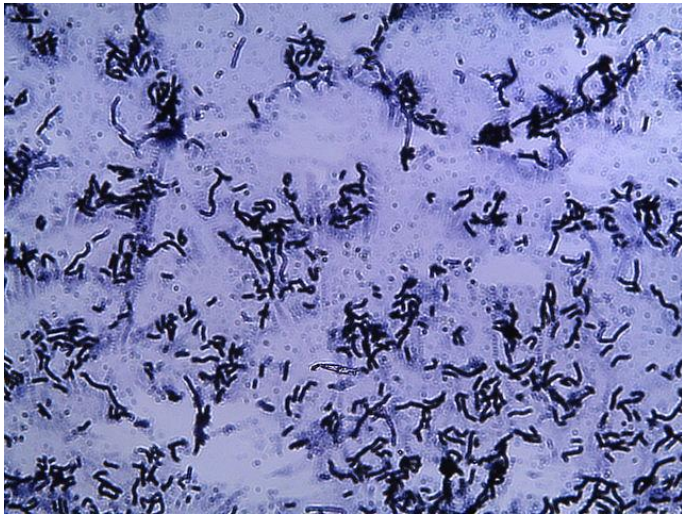
Slika 48: Gram pozitivni koki M3 (lastni vir, 2019)



Slika 49: Gram pozitivni koki M3 (lastni vir, 2019)



Slika 50: Gram pozitivni koki M24 (lastni vir, 2019)



Slika 51: Gram pozitivne paličaste bakterije M7 (lastni vir, 2019)

Correlations

		Dnevna uporaba telefona - ure uporabe telefona	SEŠTEVEK	Število kolonij po brisu na 3000 μ l
Dnevna uporaba telefona - ure uporabe telefona	Pearson Correlation	1	-,218	-,133
	Sig. (2-tailed)		,231	,467
	N	32	32	32
SEŠTEVEK	Pearson Correlation	-,218	1	,120
	Sig. (2-tailed)	,231		,512
	N	32	32	32
Število kolonij po brisu na 3000 μ l	Pearson Correlation	-,133	,120	1
	Sig. (2-tailed)	,467	,512	
	N	32	32	32

Correlations

			Dnevna uporaba telefona - ure uporabe telefona	SEŠTEVEK	Število kolonij po brisu na 3000 µl
Spearman's rho	Dnevna uporaba telefona - ure uporabe telefona	Correlation Coefficient	1,000	-,275	-,294
		Sig. (2-tailed)	.	,127	,103
		N	32	32	32
	SEŠTEVEK	Correlation Coefficient	-,275	1,000	,142
		Sig. (2-tailed)	,127	.	,437
		N	32	32	32
	Število kolonij po brisu na 3000 µl	Correlation Coefficient	-,294	,142	1,000
		Sig. (2-tailed)	,103	,437	.
		N	32	32	32

