



**KATEDRA  
TECHNICKÝCH  
ZAŘÍZENÍ BUDOV**

## **Rozšíření výuky v laboratořích TZB o mikrobiální hodnocení kvality vnitřního vzduchu**

**Řešitel:**

Ing. Hana Kabrhelová, Ph.D., [Hana.kabrhelova@fsv.cvut.cz](mailto:Hana.kabrhelova@fsv.cvut.cz)

Katedra Technických zařízení budov

**Projekt:**

Finanční podpora inovačních projektů akademických pracovníků ČVUT  
zaměřených na podporu výuky a vzdělávání pro rok 2024

**Výstupy projektu:**

<b>Typ výstupu</b>	<b>počet</b>
Podklady pro přednášky / semináře / cvičení v CZ/EN (včetně elektronických)	2
Elektronická učebnice / skripta / studijní materiály / dokumentace pro podporu výuky v CZ/EN	1
Vzdělávací / inovativní opory pro zefektivnění a inovaci různých forem výuky (audio/video nahrávky, VR/AR apod.) v CZ/EN	1

Podklady pro přednášky / semináře / cvičení v CZ/EN (včetně elektronických):

Laboratorní cvičení č. 2 – kvantitativní hodnocení mikrobiální kvality  
vnitřního vzduchu, vyhodnocení

## **Laboratorní cvičení č. 2 – kvantitativní hodnocení mikrobiální kvality vnitřního vzduchu, vyhodnocení**

Název: **Kvantitativní hodnocení odebraných vzorků**

Cvičení slouží pro základní stanovení počtu kolonií KTJ (kolonie tvořící jednotky) vzduchu a povrchů, podrobněji bude zkoumáno znečištění bakteriemi a plísněmi. Studenti využijí nakultivované Petriho misky z předešlého cvičení. Nejprve se seznámí s metodami počítání kolonií, následně si práci vyzkouší na svých odebraných a nakultivovaných vzorcích.

### *Potřebné vybavení a pomůcky:*

- Ochranné pomůcky (laboratorní plášť a jednorázové rukavice)
- Inkubátor
- Petriho misky s koloniemi (vzorky získané nasáváním vzduchu, vzorky ze spadu a stěru)
- Manuální počítadlo kolonií (obr. č. 1)
- Značkovací pero pro označení spočítaných kolonií
- Informace o objemu nasátého vzduchu (např. litrech, v metrech krychlových, l, m<sup>3</sup>)
- Zapisovací arch a protokoly z měření
- Autokláv
- Desinfekce – denaturovaný líh v rozprašovači a Savo



*Obr. č. 1 – Manuální počítadlo kolonií*

Teoretická část:

Pro kvantitativní hodnocení je potřeba mít mikroorganismy na odebraných médiích nakultivované v inkubátoru při nastavené teplotě potřebné pro kultivaci po přesně stanovenou dobu podle toho, zda se hodnotí plísně či bakterie.

Ke kvantitativnímu hodnocení slouží speciální přístroj - počítadlo kolonií. Počítadlo může být automatické nebo manuální. Pro účely výuky je použito manuální čítačka kolonií.

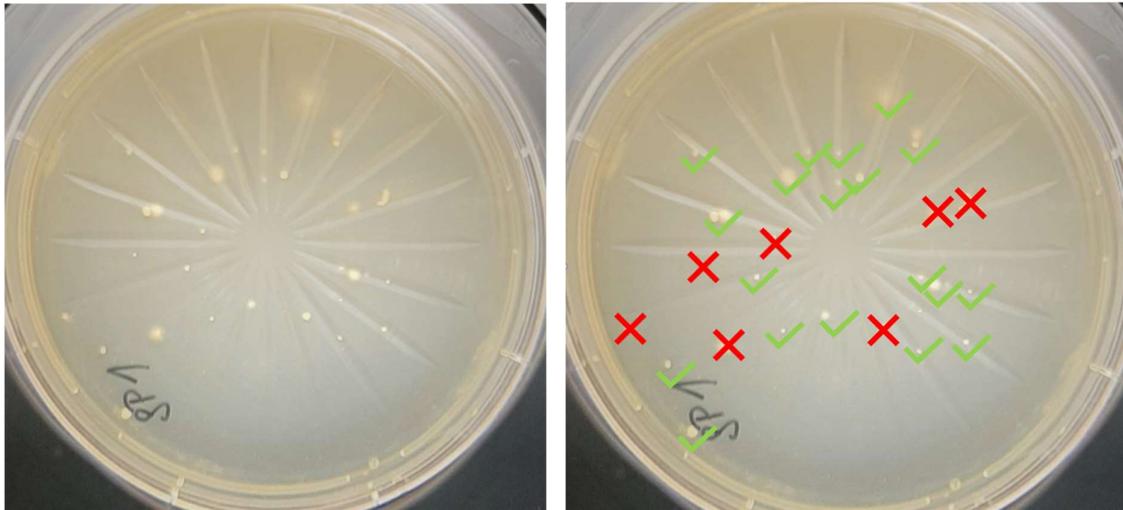
Petriho misky s namnoženými koloniemi z aktivního nasávání vzduchu aeroskopem, je nutno vyhodnotit odděleně a rozlišit pozitivní nález a falešně pozitivní nález. Impaktor aeroskopu má speciální „hvězdič“ (obr. č. 2), přes kterou se vzduch nasává na petriho misku. Tudíž kolonie narostlé v místě této „hvězdič“ jsou pozitivním nálezem. **Kolonie narostlé mimo tuto „hvězdič“ jsou falešně pozitivním nálezem a do hodnocení se nezapočítávají.** Příklad pozitivních a falešně pozitivních výsledku je znázorněn na obr. č. 4.



Obr. č. 2 – Impaktor aeroskopu s viditelnou „hvězdič“



Obr. č. 3 – „Hvězdič“ na petriho misce



Obr. č. 4 – Příklad petrihy misky s koloniemi (vlevo) a petrihy misky s označenými pozitivními a falešně pozitivními výsledky (vpravo)

Na Petriho se miskách se spočítá počet kolonií KTJ (kolonie tvořící jednotky) jak pro bakterie, tak pro plísně. Následně dojde k vyhodnocení počtu KTJ na miskách. Zejména dojde k porovnání počtu kolonií mezi pasivním sběrem a aktivním sběrem aeroskopem. Z Petriho misek odebraných aeroskopem se na základě množství použitého vzduchu při odběru stanoví KTJ/m<sup>3</sup> vzduchu.

V současné době máme podle Vyhlášky č. 6/2003 Sb., kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí obytných místností některých staveb, nastaveny požadavky, kdy limit je splněn, nepřekročí-li koncentrace mikroorganismů 500 a plísní 500 kolonií tvořících jednotek na 1 m<sup>3</sup> vzduchu aktivním nasáváním vzduchu za pomoci aeroskopu (KTJ/m<sup>3</sup>).

#### Zjednodušený postup:

- 1) Vyjmutí Petriho misek z inkubátoru (v rukavicích)
- 2) Umístění Petriho misek jednotlivě na určené místo v manuálním čítači kolonií
- 3) Manuální odečet počtu kolonií – značkovacím perem si označit každou kolonii, při dotyku Petriho misky čítadlo automaticky započítá kolonii, potvrdí i zvukovým signálem a zobrazí se na displeji, misky s nakultivovanými koloniemi zásadně neotevírat! (obr. č. 5)
- 4) Postupně výpočet KTJ na všech Petriho miskách
- 5) Zapsat do archu počty KTJ pro plísně a bakterie pro jednotlivé odběry
- 6) Porovnat množství KTJ mezi pasivním sběrem a aktivním sběrem aeroskopem
- 7) Popsat barvu, tvar, odhadnout kolik různých druhů mikroorganismů narostlo
- 8) Sterilizace použitých Petriho misek v autoklávu (při 134°C)

- 9) Desinfekce počítadla kolonií a všech povrchů v pracovním místě
- 10) Likvidace Petriho misek s použitím desinfekce



*Obr. č. 5 – Petriho miska umístěná v počítadle kolonií*

### Experimentální část:

#### **Laboratorní postup: Výpočet počtu kolonií na Petriho miskách**

1. **Příprava pracovního prostoru:**
  - Uspořádání Petriho misek vyjmutých z inkubátorů a kontrola jejich označení.
  - Rozdělení Petriho misek do tří skupin: na vzorky z aktivního odběru, pasivního odběru a stěru
2. **Vizualizace kolonií:**
  - Umístěte Petriho misku pod lupu manuální čítačky kolonií
  - Nastavte si intenzitu podsvícení
  - Zhodnotit počet typů kolonií z hlediska tvaru, barvy a velikosti
3. **Počítání kolonií:**
  - **Kolonie spočítejte manuálně** pomocí čítačky kolonií. Každou kolonii počítejte jedním kliknutím čítačky.
  - Pro snadnější kontrolu označte již spočítané kolonie na spodní straně Petriho misky pomocí **markeru**.

#### 4. Zaznamenání výsledků:

- Po spočítání všech kolonií na Petriho misce zaznamenejte celkový počet kolonií do zapisovacího archu a protokolu o měření

#### 5. Výpočet počtu kolonií ve vzduchu KTJ/m<sup>3</sup> (CFU/m<sup>3</sup>):

- Pro výpočet **koncentrace mikroorganismů ve vzduchu** použijte následující vzorec:

$$\text{CFU/m}^3 = \frac{\text{Počet kolonií (CFU)}}{\text{Objem nasátého vzduchu (m}^3\text{)}}$$

Kde:

- **Počet kolonií (CFU)** = počet spočítaných kolonií na Petriho misce.
- **Objem nasátého vzduchu (m<sup>3</sup>)** = objem vzduchu, který byl nasáván a kultivován na Petriho misce (např. 0,5 m<sup>3</sup>, 1 m<sup>3</sup> apod.).

**Příklad:** Pokud jste nasáli 1 m<sup>3</sup> vzduchu a na Petriho misce narostlo 100 kolonií:

$$\text{CFU/m}^3 = \frac{100}{1} = 100 \text{ CFU/m}^3$$

Tento výsledek znamená, že ve vzduchu bylo 100 kolonií na metr krychlový vzduchu.

#### 6. Opakování postupu u dalších vzorků:

- Pokud máte více Petriho misek s různými objemy nasátého vzduchu, zopakujte výpočet pro každý vzorek zvlášť.

#### 7. Závěr:

- Zkontrolujte, zda všechny výsledky byly správně zapsány a výpočty provedeny pro všechny misky.

#### Poznámky:

- **CFU/m<sup>3</sup> (kolonie tvořící jednotky na metr krychlový vzduchu)** je standardní jednotkou pro vyjádření koncentrace mikroorganismů v nasávaném vzduchu.
- Pokud byl nasán příliš malý objem vzduchu a na misce narostlo málo kolonií, výsledky mohou být nepřesné – v takovém případě je vhodné nasát větší objem vzduchu.
- Pokud je počet kolonií příliš vysoký a není možné je přesně spočítat, může být potřeba odebrat menší množství vzduchu.

**Protokol z měření viz. Příloha č. 1 a 2**

## Příloha č. 1 - Protokol z hodnocení mikrobiální kvality vnitřního vzduchu

**Datum měření:** [doplnit]

**Místo měření:** [doplnit]

**Použité zařízení:** Aeroskop [typ zařízení, např. BioCapt® Single-Use]

**Objem vzduchu:** [doplnit] počet litrů na každý odběr

**Celkový počet odběrů:** [doplnit] odběry ([doplnit] na TSA, [doplnit] na Sabouradovu půdu)

**Limit KTJ (kolonie tvořící jednotky):** 500 KTJ/m<sup>3</sup>

### Popis měření

Měření bylo provedeno v uzavřené místnosti o velikosti přibližně [doplnit] m<sup>2</sup> s [doplnit] způsob větrání, počet osob apod.]. Za účelem stanovení mikrobiální čistoty ovzduší byly použity dvě různé kultivační půdy: Trypticase Soy Agar (TSA) a Sabouradova glukózová půda.

### Parametry a postup měření:

Aktivní odběr aeroskopem:

#### 1. Odběr č. 1a:

- **Použitá půda:** TSA
- **Místo odběru:** [doplnit]
- **Objem vzduchu:** [doplnit]
- **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/m<sup>3</sup>]

#### 2. Odběr č. 1b:

- **Použitá půda:** Sabouradova půda
- **Místo odběru:** [doplnit]
- **Objem vzduchu:** [doplnit]
- **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/m<sup>3</sup>]

#### 3. Odběr č. 2a:

- **Použitá půda:** TSA
- **Místo odběru:** [doplnit]
- **Objem vzduchu:** [doplnit]
- **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/m<sup>3</sup>]

#### 4. Odběr č. 2b:

- **Použitá půda:** Sabouradova půda
- **Místo odběru:** [doplnit]
- **Objem vzduchu:** [doplnit]
- **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/m<sup>3</sup>]

[doplnit popis dalších odběrů]

## Pasivní odběr:

1. **Odběr č. 3a:**
  - **Použitá půda:** TSA
  - **Místo odběru:** [doplnit]
  - **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/misku]
2. **Odběr č. 3b:**
  - **Použitá půda:** Sabouradova půda
  - **Místo odběru:** [doplnit]
  - **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/misku]
  
3. **Odběr č. 4a:**
  - **Použitá půda:** TSA
  - **Místo odběru:** [doplnit]
  - **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/misku]
4. **Odběr č. 4b:**
  - **Použitá půda:** Sabouradova půda
  - **Místo odběru:** [doplnit]
  - **Výsledek:** [doplnit počet KTJ/misku]

[doplnit popis dalších odběrů]

## **Vyhodnocení výsledků:**

Limitem pro mikrobiální kontaminaci vzduchu je 500 KTJ/m<sup>3</sup>. V případě překročení tohoto limitu je nutné provést další šetření a přijmout opatření k odstranění zdroje kontaminace.

- **Odběr č. 1a (TSA):** [doplnit výsledek KTJ/m<sup>3</sup> a zda je nad/pod limitem]
- **Odběr č. 1b (Sabouradova půda):** [doplnit výsledek KTJ/m<sup>3</sup> a zda je nad/pod limitem]
  
- **Odběr č. 2a (TSA):** [doplnit výsledek KTJ/m<sup>3</sup> a zda je nad/pod limitem]
- **Odběr č. 2b (Sabouradova půda):** [doplnit výsledek KTJ/m<sup>3</sup> a zda je nad/pod limitem]

- **Odběr č. 3a (TSA):** [doplnit výsledek KTJ/misku]
- **Odběr č. 3b (Sabouradova půda):** [doplnit výsledek KTJ/misku]

A porovnat s aktivním odběrem, zda je množství KTJ vyšší/nížší

- **Odběr č. 4a (TSA):** [doplnit výsledek KTJ/misku]
- **Odběr č. 4b (Sabouradova půda):** [doplnit výsledek KTJ/misku]
- A porovnat s aktivním odběrem, zda je množství KTJ vyšší/nížší

[doplnit popis dalších odběrů]

### **Závěr:**

Na základě výsledků odběrů [závěrečné hodnocení, např. "výsledky měření jsou v normě a nejsou nutná žádná další opatření" nebo "došlo k překročení limitu, je třeba provést nápravná opatření"]. Zhodnocení a diskuse nad výsledky aktivního a pasivního odběru.

### **Podpis osoby provádějící měření:**

[doplnit jména]

## Příloha č. 2 - Protokol z hodnocení mikrobiální kvality povrchů

**Datum měření:** [doplnit]

**Místo měření:** [doplnit]

**Celkový počet odběrů:** [doplnit] odběry ([doplnit] na TSA, [doplnit] na Sabouradovu půdu)

### Popis měření

Měření bylo provedeno ....., stěry byly odebrány z míst ..... Za účelem stanovení mikrobiální čistoty byly použity dvě různé kultivační půdy: Trypticase Soy Agar (TSA) a Sabouradova glukózová půda.

### Parametry a postup měření:

#### 1. Odběr č. 1a:

- a. **Použitá půda:** TSA
- b. **Místo odběru:** [doplnit]
- c. **Výsledek:** [doplnit počet KTJ]

#### 2. Odběr č. 1b:

- a. **Použitá půda:** Sabouradova půda
- b. **Místo odběru:** [doplnit]
- c. **Výsledek:** [doplnit počet KTJ]

[doplnit popis dalších odběrů]

#### 3. Odběr č. 2a:

- a. **Použitá půda:** TSA
- b. **Místo odběru:** [doplnit]
- c. **Výsledek:** [doplnit počet KTJ]

#### 4. Odběr č. 2b:

- a. **Použitá půda:** Sabouradova půda
- b. **Místo odběru:** [doplnit]
- c. **Výsledek:** [doplnit počet KTJ]

[doplnit popis dalších odběrů]

### Vyhodnocení výsledků:

Naměřené hodnoty nelze porovnat s vyhláškou č. 6/2003 Sb., jelikož se jedná o stěry a získané hodnoty jsou počty plísní či KTJ (kolonií tvořících jednotek) na stěr, tedy získané údaje jsou o mikroorganismech žijících na povrchu.

- **Odběr č. 1a (TSA):** [doplnit výsledek KTJ]
- **Odběr č. 1b (Sabouradova půda):** [doplnit výsledek KTJ]
  
- **Odběr č. 2a (TSA):** [doplnit výsledek KTJ]
- **Odběr č. 2b (Sabouradova půda):** [doplnit výsledek KTJ]

[doplnit popis dalších odběrů]

### **Závěr:**

Výsledky jsou ukazatelem znečištění daného povrchu a i s těmito výsledky lze nadále provádět diskusi.

### **Podpis osoby provádějící měření:**

[doplnit jména]