

Elżbieta WOŁEJKO\*, Urszula WYDRO\*, Joanna STRUK-SOKOŁOWSKA\*,  
Monika PUCHLIK\*\*, Janina PIEKUTIN\*\*

## **OCENA ZMIENNOŚCI *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* W POWIETRZU WEWNĘTRZNYM NA TERENIE WYBRANYCH PIEKARŃ**

Występowanie *Pseudomonas* w powietrzu w środowisku wewnętrznym uważa się za istotny i aktualny problem, gdyż w polskich normach z 1989 r. Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* są uważane za wskaźnikowe bakterie jakości powietrza w pomieszczeniach zamkniętych i na dzień dzisiejszy brak jest aktualnych norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziły do tej grupy mikroorganizmów. Celem pracy było określenie występowania *Pseudomonas fluorescens* w powietrzu wewnętrznym w wybranych trzech piekarniach na terenie województwa podlaskiego. Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone jesienią 2014 roku w województwie podlaskim na terenie trzech zakładów piekarniczych. Próby powietrza pobierano metodą zderzeniową z użyciem próbnika powietrza MAS-100 (Merck, Niemcy) w 3 równoległych powtórzeniach. Mikrobiologiczne badania powietrza wewnątrz piekarni obejmowały oznaczenie bakterii z gatunku *Pseudomonas fluorescens*. Na podstawie normy stwierdzono, że jakość sanitarna powietrza we wszystkich badanych piekarniach pod względem ilości *Pseudomonas fluorescens*, świadczy o średnim zanieczyszczeniu, a ich średnia ilość wynosiła w piekarni 1–20 jtk/m<sup>3</sup>, w piekarni 2–30 jtk/m<sup>3</sup>, natomiast w piekarni 3–5 jtk/m<sup>3</sup>. Występowanie w powietrzu wewnętrznym *Pseudomonas fluorescens* w badanych piekarniach różniło się w zależności od miejsca wykonywanych pomiarów. Otrzymane wyniki badań wskazują na konieczność systematycznej kontroli powietrza wewnątrz piekarń oraz potrzebę uaktualnienia norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziły do tej grupy mikroorganizmów.

---

\* Zakład Biologii Sanitarnej i Biotechnologii, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok, e.wolejko@pb.edu.pl.

\*\* Katedra Technologii w Inżynierii i Ochronie Środowiska, Politechnika Białostocka, ul. Wiejska 45A, 15–351 Białystok.

## 1. WSTĘP

Czystość powietrza zewnętrznego, jak i wewnętrznego jest przedmiotem badań wielu naukowców. Według Chmiel i in. [3] celem takich badań jest głównie charakterystyka ilościowa i jakościowa drobnoustrojów występujących w powietrzu, jak również określenie czynników, które mogą wpływać na jego jakość. Jak podaje Chmiel i in. [3] oraz Cabral [2], warunki środowiskowe i rozwojowe mikroorganizmów znajdujących się w powietrzu atmosferycznym jak również w pomieszczeniach zamkniętych znacząco odbiegają od siebie zarówno pod względem liczbowym, jak i gatunkowym oraz źródeł pochodzenia danych mikroorganizmów [6]. Głównym źródłem zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego jak sugeruje Cabral [2] jest pył bakteryjny i zarodniki grzybów z różnych źródeł naturalnych i antropogenicznych, z kolei w pomieszczeniach dominuje mikroflora z górnych dróg oddechowych, mikroorganizmy ze złuszczonego naskórka, pył bakteryjny i zarodniki grzybów domowych [3].

Jak podaje Gołofit-Szymczak i Skowron, [8] drobnoustroje występujące w powietrzu w postaci bioaerozoli mogą być w formie układów zawierających fazę rozpraszającą (powietrze) oraz fazę rozproszoną. Ze względu na rodzaj i wielkość cząstek bioaerozolu, które tworzą fazę rozproszoną jak podaje Chmiel i in. [3], najczęściej wyróżnia się: wirusy (0,01–1  $\mu\text{m}$ ), bakterie (0,1–2  $\mu\text{m}$ ), glony (1–9  $\mu\text{m}$ ), zarodniki grzybów, mchów i porostów (1–100  $\mu\text{m}$ ), pyłki kwiatów (9–90  $\mu\text{m}$ ) oraz drobne nasiona i owoce (9–900  $\mu\text{m}$ ). Ponadto obecne są toksyny, mikotoksyny, enzymy i fragmenty tkanek roślinnych i zwierzęcych [3]. Do powietrza atmosferycznego mikroorganizmy dostają się z gleby, wód płynących i stojących, wydaliny ludzi lub zwierząt [11]. Zanieczyszczenia powietrza wewnętrznego mogą pochodzić zarówno ze źródeł zewnętrznych, jak i wewnętrznych. Jednym z głównych źródeł bioaerozoli w pomieszczeniach jest człowiek – kropelki potu, śliny i naskórka. Człowiek stanowi główne źródło bakterii, gdyż budują one naturalną florę jego skóry. Wytwarzanie biologicznego aerozolu może odbywać się przez kichanie, kaszel, a także wysiłek fizyczny (np. chodzenie). Do znaczących wewnętrznych źródeł bioaerozoli zaliczymy również zwierzęta domowe [10].

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* są szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym. Występują one zarówno w powietrzu zewnętrznym, jak i wewnątrz pomieszczeń. Zanieczyszczenie powietrza zewnętrznego tymi bakteriami zależy w dużej mierze od lokalizacji, pory roku, urbanizacji oraz panujących warunków pogodowych [14]. Ponadto, większe zanieczyszczenie powietrza może występować na obszarach wiejskich, prawdopodobnie ze względu na zwierzęta inwentarskie wytwarzające w dużych ilościach endotoksyny. Dodatkowo na przeżywalność tych mikroorganizmów w powietrzu wywierają wpływ takie czynniki jak: wilgotność względna, temperatura powietrza, stężenie tlenu, natężenie promieniowania widzialnego i ultrafioletowego oraz występowanie innych zanieczyszczeń do których mogą się one przyłączać [12, 18].

Wielu autorów podaje ważność prowadzenia badań jakości powietrza, w szczególności w pomieszczeniach zamkniętych ze względu, na przebywających w nich ludzi. Ja sugerują Kaiser i Wolski [13] oraz Torfs [19], ludzie w zamkniętych budynkach przebywają średnio 87% swojego czasu, przez co są bardziej narażeni na mikroorganizmy chorobotwórcze występujące w powietrzu [19, 13]. Ponadto, jakość powietrza wewnętrznego jest zmienna, w zależności od czynników takich jak: właściwości fizyczne i chemiczne zanieczyszczeń gazowych i cząstek stałych (reaktywność, depozycja, wielkości cząstek stałych); wewnętrzne źródła zanieczyszczeń, takie jak kuchenki gazowe, piece, kominki, materiały budowlane i wyposażenie; charakterystyka budynku w tym nadmierna infiltracja lub wentylacja [15, 16].

W literaturze dużo można znaleźć informacji na temat wstępowania bakterii z rodzaju *Pseudomonas* w szpitalach, na oczyszczalniach ścieków czy na wysypiskach, natomiast mało jest doniesień odnośnie czystości powietrza w zakładach produkcyjnych. Występowanie *Pseudomonas* w powietrzu w środowisku wewnętrznym uważa się za istotny i aktualny problem ale zaniedbany, gdyż w polskich normach z 1989 r., Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* są uważane za wskaźnikowe bakterie jakości powietrza w pomieszczeniach zamkniętych i na dzień dzisiejszy brak jest aktualnych norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziły do tej grupy mikroorganizmów [18].

Celem pracy było określenie występowania *Pseudomonas fluorescens* w powietrzu wewnętrznym w wybranych trzech piekarniach na terenie województwa podlaskiego.

## 2. MATERIAŁY I METODY

Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone jesienią 2014 roku w województwie podlaskim na terenie trzech zakładów piekarniczych. W każdym z zakładów piekarniczych pobierane były próby w następujących pomieszczeniach: hala produkcyjna (temp. ok. 26 °C); pomieszczenie, w którym stygnie pieczywo (temp. ok. 24 °C); magazyn wyrobów gotowych (temp. 16-20°C); magazyn mąki i dodatków (temp. 12–18 °C); korytarz, łączący halę produkcyjną z magazynem mąk (temp. ok. 20 °C). We wszystkich pomieszczeniach była wentylacja grawitacyjna.

Próbki powietrza pobierano, metodą zderzeniową z użyciem próbnika powietrza MAS-100 (Merck, Niemcy), przy szybkości przepływu 100 l/min. w 3 równoległych powtórzeniach. Urządzenie do poboru powietrza ustawiono w części centralnej pomieszczenia na wysokości 110–120 cm nad podłogą. Pomiary wykonywano w godzinach przedpołudniowych w czasie aktywnej pracy załogi.

W celu określenia bakterie z gatunku *Pseudomonas fluorescens*na użyto podłoża King B. Hodowlę bakterii prowadzono przez pierwsze 7 dni w temperaturze 4°C, a następnie przez 5 dni w temp. 26°C. Po tym czasie zliczano wyrosłe kolonie, a wy-

nik podano jako jednostki tworzące kolonie przeliczano na metr sześcienny powietrza ( $\text{jtk} \times \text{m}^3$ ), stosując wzór:

$$L = (\text{Pr} \cdot 1000) / V \quad (1)$$

gdzie:

$L$  – ogólna liczba jednostek tworzących kolonie (jtk) drobnoustrojów w 1  $\text{m}^3$  powietrza,

$\text{Pr}$  – liczba kolonii wyrosłych na zastosowanym podłożu,

$V$  – objętość pobranego powietrza ( $\text{dm}^3$ ),

1000 – przelicznik na 1  $\text{m}^3$  powietrza.

Do obliczeń wykorzystano tabelę pomiarową Fellera, dołączoną do instrukcji obsługi próbnika powietrza MAS-100 [5].

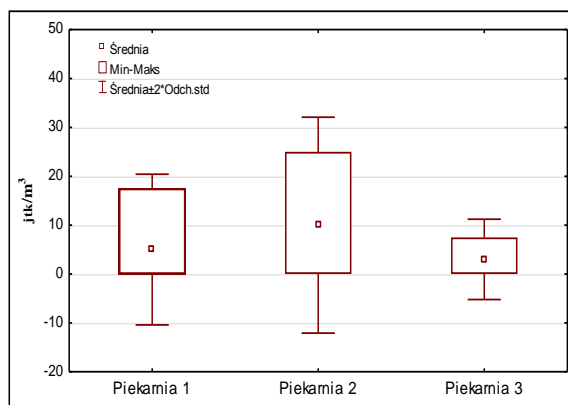
Otrzymane wyniki poddano podstawowej analizie statystycznej, określając maksimum i minimum, średnią i odchylenie standardowe.

### 3. WYNIKI I DYSKUSJA

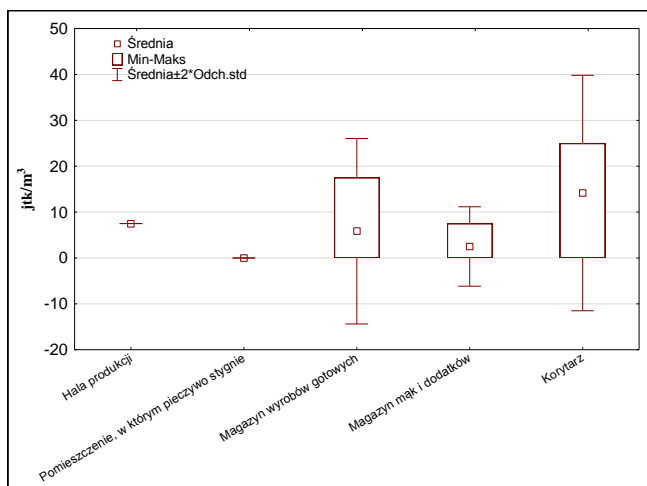
Należy zwrócić uwagę na fakt, że w dalszym ciągu brak jest ogólnie ustalonych wytycznych dotyczących oceny ekspozycji na bioaerozole. Nie ogranicza się to tylko wyłącznie do polskiej sfery unormowań prawnych. Wartości graniczne narażenia zawodowego lub zalecane wartości progowe dla mikroflory powietrza i substancji pochodzenia drobnoustrojowego również w skali światowej nie są nadal wypracowane lub nie mają statusu prawnych regulacji [9].

Pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*, należą do tych mikroorganizmów, które pomiędzy poszczególnymi gatunkami skrajnie różnią się pod względem fizjologicznym. Niektóre z nich, wchodzą w skład fizjologicznej mikroflory zdrowego człowieka inne natomiast mogą powodować różne zakażenia dróg oddechowych i moczowych, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, kości, szpiku, stawów, oka czy ucha [1, 18]. Ze względu na małe wymagania, spotyka się je bardzo często w różnych środowiskach zarówno w glebie, w wodzie jak i w powietrzu [20]. Jak zauważa Sadowiec i in. [18], poprzez swoją powszechność bakterie *Pseudomonas fluorescens* są poważnym zagrożeniem, w szczególności na stanowiskach pracy, gdzie jako składnik bioaerozolu, przenosi się drogą powietrzno-kropelkową lub powietrzno-pyłową wnikając do organizmu m.in. przez skórę czy drogi oddechowe powodując poważne schorzenia. Według Górnego [9] w środowisku zawodowym jak i poza nim, narażenie na czynniki biologiczne jest powszechne i prowadzi do wystąpienia wielu niekorzystnych skutków zdrowotnych, poczynając od prostych podrażnień i dolegliwości, przez reakcje alergiczne, aż do wystąpienia infekcji i reakcji toksycznych. Do interpretacji wyników

nadal wielu naukowców wykorzystuje normę PN-89/Z-04111/02 [17], która co prawda, została uchylona ale nie zastąpiona przez inną normę. Na podstawie tej normy stwierdzono, że jakość sanitarna powietrza we wszystkich badanych piekarniach pod względem ilości *Pseudomonas fluorescens*, świadczy o średnim zanieczyszczeniu, a ich średnia ilość wynosiła w piekarni 1–20 jtk/m<sup>3</sup>, w piekarni 2–30 jtk/m<sup>3</sup>, natomiast w piekarni 3–5 jtk/m<sup>3</sup> (rys. 1). Jak wskazują Czerwińska i Piotrowski [4] duża liczba drobnoustrojów występujących w powietrzu jest często wynikiem złego stanu sanitarnego urządzeń, sprzętów i kanałów wentylacyjnych, a niejednokrotnie niewystarczającej higieny pracującego w danym zakładzie personelu.



Rys. 1. Minimalna, maksymalna oraz średnia liczba *Pseudomonas fluorescens* w wybranych piekarniach



Rys. 2. Minimalna, maksymalna oraz średnia liczba *Pseudomonas fluorescens* w zależności od pomieszczenia, w którym zostały pobrane próbki

Analizując liczbę bakterii w zależności od pomieszczenia w jakim pobrano próbki powietrza w poszczególnych piekarniach, zaobserwowano, iż bakterie z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* były w największej ilości wykryte w powietrzu w próbkach pobranych w magazynie wyrobów gotowych oraz w korytarzu, odpowiednio 20 i 30 jtk/m<sup>3</sup> w piekarni 2. Średnio najwięcej bakterii *Pseudomonas fluoerscens* odnotowano w piekarni 1 w hali produkcji i w korytarzu odpowiednio 10 i 20 jtk/m<sup>3</sup>. Z kolei w piekarni 3 zanieczyszczenie powietrza bakteriami z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* było najniższe ze wszystkich badanych piekarń i było na poziomie 10 jtk/m<sup>3</sup> w hali produkcyjnej i w magazynie mąki i dodatków (rys. 2). We wszystkich piekarniach jedynym pomieszczeniem w którym nie zaobserwowano bakterii z rodzaju *Pseudomonas fluorescens* było pomieszczenie wykorzystywane do ostygnięcia pieczywa. Jak zauważył Cabral [2] drobnoustroje bardzo łatwo mogą przenosić się z prądami powietrza i konwekcyjnymi oraz wraz z ruchem ludzi i zwierząt. Ponadto, obecność drobnoustrojów przenoszonych z powietrzem jak wskazuje Czerwińska i Piotrowski [4] może mieć wpływ na długość okresu przydatności do spożycia przetworów niesterylizowanych oraz na aseptyczne pakowanie produktów sterylizowanych. Jest to związane z tym, że drobnoustroje w powietrzu wewnętrznym są mniej narażone na czynniki meteorologiczne takie jak temperatura, opady atmosferyczne czy też promieniowanie UV. Okres ich przeżywalność może być wówczas znacznie dłuższy, a liczebność nie podlega tak dużym wahaniom sezonowym (zima/lato) jak w powietrzu zewnętrznym [7], a co za tym idzie stabilniejszy jest zwykle także skład gatunkowy [6] i o wiele częściej może dochodzić do różnych infekcji zdrowotnych ludzi tam pracujących. Jak sugeruje Czerwińska i Piotrowski [4] zakłady produkujące żywność powinny być świadome ryzyka zagrożenia zdrowotnego i na wszystkich etapach produkcji powinny zadbać o bezpieczeństwo. Zaczynając od sprawdzenia higieny i zdrowotności pracowników, jak również od wnikliwej analizy jakości surowca przeznaczonego do produkcji, poprzez cały proces technologiczny, aż do momentu pakowania i magazynowania produktu gotowego.

#### 4. WNIOSKI

1. Występowanie w powietrzu wewnętrznym *Pseudomonas fluorescens* w badanych piekarniach różniło się w zależności od miejsca wykonywanych pomiarów.
2. Najwyższą liczbę *Pseudomonas fluorescens* w powietrzu, zaobserwowano w magazynie wyrobów gotowych i w korytarzu badanych piekarń.
3. W piekarni 2 zaobserwowano największą ilość *Pseudomonas fluorescens* z pośród wszystkich analizowanych piekarń.

4. Otrzymane wyniki badań wskazują na konieczność systematycznej kontroli powietrza wewnątrz piekarni oraz potrzebę uaktualnienia norm, które by bardziej restrykcyjnie podchodziłyby do tej grupy mikroorganizmów.

*Praca została sfinansowana z pracy statutowej S/WBiIŚ/3/2015 oraz z pracy własnej MB/WBiIŚ/14/2014.*

#### LITERATURA

- [1] BLANC P.D., EISNER M.D., KATZ P.P., YEN I.H., ARCHEA C., EARNEST G., JANSON S., MASHARANI U.B., QUINLAN P.J., HAMMOND S.K., THORNE P.S., BALMES J.R., TRUPIN L., YELIN E.H., *Impact of the home indoor environment on adult asthma and rhinitis*, Journal of Occupational and Environmental Medicine, 2005, Vol. 47, 362–372.
- [2] CABRAL J.P.S., *Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions*, Science of the Total Environment, 2010, Vol. 408, 4285–4295.
- [3] CHMIEL MJ., FRĄCZEK K., GRZYB J., *Problemy monitoringu zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza*, Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie, 2015, Vol. 49, No. 1, 17–27.
- [4] CZERWIŃSKA E., PIOTROWSKI W., *Ocena ryzyka zanieczyszczenia mikrobiologicznego w piekarni z uwzględnieniem procesu wytwarzania pieczywa żytniego*, Nauka Przyroda Technologie, 2010, Vol. 4, No. 2, 1–14.
- [5] FELLER W., *An introduction to the probability theory and its application*, John Wiley & Sons, Inc., New York 1950.
- [6] FLANNIGAN B., SAMSON R.A., MILLER J.D., *Microorganisms in home and indoor work environments. Diversity, health impacts, investigation and control*, Wyd. 2. CRC Press, Londyn 2011.
- [7] FRANKEL M., BEKÖ G., TIMM M., GUSTAVSEN S., HANSEN E.W., MADSEN A.M., *Seasonal variations of indoor microbial exposures and their relation to temperature, relative humidity, and air exchange rate*, Applied and Environmental Microbiology, 2012, Vol. 78, No. 23, 8289–8297.
- [8] GOŁOFIT-SZYMCZAK M., SKOWRON J., *Zagrożenia mikrobiologiczne w pomieszczeniach biurowych*, Bezpieczeństwo Pracy 2005, Vol. 3.
- [9] GÓRNY R.L. 2004. *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych*, Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, Vol. 41, No. 3, 17–39.
- [10] GUO H., LEE S.C., CHAN L.Y., *Indoor air quality investigation at air-conditioned and non-air-conditioned markets in Hong Kong*, Science of the Total Environment, 2004, Vol. 323, 87–98.
- [11] GUTAROWSKA B. *Mikroorganizmy w powietrzu*. [w:] Libudzisz Z., Kowal K., Żakowski Z., Mikrobiologia techniczna, Wyd. PWN, Warszawa 2007, 224–240.
- [12] HAINES A., SMITH K.R., ANDERSON D., EPSTEIN P.R., MCMICHAEL A.J., ROBERTS I., WILKINSON P., WOODCOCK J., WOODS J., *Policies for accelerating access to clean energy, improving health, advancing development, and mitigating climate change*, Lancet, 2007, Vol. 370, 1264–1281.
- [13] KAISER K., WOLSKI A., *Kontrola czystości mikrobiologicznej powietrza*, Technika Chłodnicza i Klimatyzacyjna, 2007, Vol. 4, 158–162.
- [14] KRĘGIEL D., RYGAŁA A., *Ryzyko występowania w wodzie do picia bakterii z rodzajów Pseudomonas i Aeromonas*, Przemysł Spożywczy, 2006, Vol. 60, No. 4, 46–49.

- [15] MILNER J.T., VARDOULAKIS S., CHALABI Z., WILKINSON P., *Modelling inhalation exposure to combustion-related air pollutants in residential buildings: Application to health impact assessment*, Environment International, 2011, Vol. 37, 268–279.
- [16] NAZAROFF W.W., *Exploring the consequences of climate change for indoor air quality*, Environmental Research Letters, 2013, Vol. 8, No. 20.
- [17] PN-89/Z-04111/02. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną. Warszawa. PKN.
- [18] SADOWIEC K., ZIELIŃSKA-POLIT B, RUSSEL S., *Ocena liczebności bakterii Pseudomonas fluorescens w powietrzu w wybranym budynku inwentarskim*, [w]: Interdyscyplinarne Zagadnienia w Inżynierii i Ochronie Środowiska, 2014, Vol. 4, 719–725.
- [19] TORFS R, DE BROUWERE K, SPRUYT M, GOELEN E, NICKMILDER M, BERNARD A., *Exposure and risk assessment of air fresheners*, VITO, Document No 2008/IMS/R/222, 2008.
- [20] VIRELLA G., *Microbiology and infectious diseases*, Elsevier Urban & Partner, Wrocław 1999.

#### AN ASSESSMENT OF VOLATILITY *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* IN INDOOR AIR AT THREE SELECTED BAKERIES

The presence of *Pseudomonas* in the air in the internal environment is considered to be an important and topical issue, because in the Polish Standards of 1989, *Pseudomonas fluorescens* are considered indicator bacteria. The aim of the study was an assessment of volatility *pseudomonas fluorescens* in indoor air at three selected bakeries located in the podlaskie region. The microbiological studies were conducted in autumn in 2014 at three bakeries. Microbiological air counts were measured by impaction using an air sampler MAS-100. Sampling was carried out in three parallel repetitions. The microbiological air studies, included the determination of the species *Pseudomonas fluorescens*. In Bakery 1 and 2, the air was contaminated with *Pseudomonas fluorescens* at a level of 20 and 30 cfu/m<sup>3</sup>, respectively while in Bakery 3 at 5 cfu/m<sup>3</sup>. The presence of *Pseudomonas fluorescens* in the indoor air in bakeries differed depending on the measurements location. The results of the study indicate a need of systematic microbiological controls of the air inside bakeries and the need to update the Polish Standards that would be more restrictive to this group of microorganisms.