



INSTYTUT MEDYCYNY PRACY I ZDROWIA ŚRODOWISKOWEGO

ul. Kościelna 13, 41-200 Sosnowiec
NIP 644 001 18 44 • tel. 32 266 08 85 • fax 32 266 11 24
e-mail: sekretariat@imp.sosnowiec.pl • www.imp.sosnowiec.pl

ZAKŁAD SZKODLIWOŚCI BIOLOGICZNYCH I IMMUNOALERGOLOGII

Sprawozdanie nr ZSBiI/05/2015

Badanie mikrobiologicznej czystości powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu

Zleceniodawca:

Mostostal Warszawa S.A.
Ul. Konstruktorska 11A
02-673 Warszawa

Zlecenie Nr 428/PG/S00288/15 z dnia 19.08.2015 r.

Kierownik Zespołu realizującego Zlecenie:

dr Agnieszka Wlazło

Zatwierdził:

Wykonawcy:

dr Agnieszka Wlazło
dr Anna Niesler
mgr Ewa Krakowiak
st. tech. Beata Łudzeń-Izbińska
st. tech. Gabriela Ścigała

Zastępca Kierownika
Zakładu Szkodliwości Biologicznych i Immunologicznych
Kierownik Pracowni Mikrobiologicznej
Agnieszka Wlazło
dr n. tech. Agnieszka Wlazło

Rozdzielnik:

Zleceniodawca - 2 egz.
DPZN - 1 egz.
ZSBiI - 1 egz.

Sosnowiec, październik 2015 r.

Sprawozdanie zawiera 15 stron.

Dokument może być kopiowany jedynie w całości, inna forma wykorzystania wyników jest dopuszczalna po uzyskaniu pisemnej zgody Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu.

Przedstawione wyniki badań odnoszą się wyłącznie do wymienionych w dokumencie obiektów badań i określonych warunków badań.

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunologicznych	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 2 z 15

Spis treści

1. Charakterystyka jednostki wykonującej badania.....	3
2. Cel badań	3
3. Materiał i metodyka badań.....	3
4. Wyniki badań	10
5. Interpretacja uzyskanych wyników.....	11
6. Wnioski.....	14
7. Piśmiennictwo.....	15

Spis tabel

1. Zastosowane podłoża i warunki inkubacji dla wyznaczenia stężenia badanych grup mikroorganizmów.....	6
2. Warunki atmosferyczne na badanych stanowiskach pomiarowych w dniu pobrania próbek powietrza.....	7
3. Wartości stężenia [jtk/m ³] badanych grup mikroorganizmów zarejestrowane na poszczególnych stanowiskach pomiarowych.....	10
4. Ocena stopnia zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego bakteriami według Polskiej Normy PN-89/Z-04111/02.....	11
5. Ocena stopnia zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego grzybami według Polskiej Normy PN-89/Z-04111/03.....	12
6. Propozycje dopuszczalnych stężeń drobnoustrojów w powietrzu przemysłowego środowiska pracy według Zespołu Ekspertów ds. Czynników Biologicznych.....	12
7. Propozycje oceny stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza atmosferycznego (Górny, 2010).....	13

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 3 z 15

CHARAKTERYSTYKA JEDNOSTKI WYKONUJĄCEJ BADANIA

Badania zlecone przez Mostostal Warszawa S.A. zostały wykonane przez Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu. Instytut jest placówką prowadzącą badania naukowe, prace rozwojowe i działalność szkoleniową oraz działalność diagnostyczną, orzeczniczą i leczniczą w zakresie medycyny pracy i zdrowia środowiskowego. Działalność badawczo-rozwojowa Instytutu koncentruje się na ocenie narażenia na szkodliwe czynniki fizyczne, chemiczne i biologiczne obecne w środowisku, w tym na stanowiskach pracy. W zakresie prowadzonych badań naukowych i prac rozwojowych Instytut wykonuje pomiary i analizy oraz opracowuje ekspertyzy i opinie.

CEL BADAŃ

Celem podjętej pracy było dokonanie oceny mikrobiologicznej czystości powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu. Oceny tej dokonano w oparciu o ilościowe oznaczenia: ogólnej liczby bakterii mezofilnych (w tym m.in. bakterii wskaźnikowych tj. promieniowców, gronkowców hemolizujących i *Pseudomonas fluorescens*), bakterii Gram-ujemnych, promieniowców termofilnych oraz grzybów (pleśniowych i drożdżakopodobnych).

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Rozmieszczenie stanowisk pomiarowych

Na podstawie przeprowadzonej wizji lokalnej Zakładu i terenu w jego otoczeniu oraz informacji o badanym obiekcie, wyznaczono 7 stanowisk pomiarowych (stanowiska 1-5 zamieszczono w Załączniku 1 do Sprawozdania), na których pobrano próbki powietrza:

- Stanowisko I – Kompostownia na terenie Zakładu (stanowisko między pryzmami) – źródło emisji mikroorganizmów,
- Stanowisko II – Sortownia na terenie Zakładu – źródło emisji mikroorganizmów,
- Stanowisko III – 10 m od siatki ogrodzeniowej - granicy obiektu, przed bramą wjazdową na teren C składowiska,
- Stanowisko IV – 200 m od Sortowni, stanowisko przy siatce ogrodzeniowej od strony parkingu zakładowego;
- Stanowisko V – 400 m od ogrodzenia obiektu, w odległości 50 m od bramy wjazdowej na teren A składowiska,

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBil/05/15	Strona 4 z 15

- Stanowisko VI – 800 m od ogrodzenia obiektu, przy domkach jednorodzinnych przy ul Grenadierów w Sosnowcu,
- Stanowisko VII – zlokalizowane w odległości ok. 3 km od Zakładu, na parkingu obok budynku Centrum Pediatrii. Stanowisko wyznaczone w celach kontrolnych dla przeprowadzenia pomiaru zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza w środowisku zewnętrznym (tło zewnętrzne zanieczyszczeń)

Metodyka badań aerozolu bakteryjnego i grzybowego

Technika poboru stacjonarnego próbek bioaerozoli

Próbki powietrza były pobierane stacjonarnie za pomocą pobornika guzikowego (Button Personal Inhalable Aerosol Sampler[®], SKC Inc., Eighty Four, PA). Pobornik guzikowy jest przyrządem pomiarowym, w którym separacja cząstek zawieszonych w powietrzu oparta jest na technice filtracji. Budowa pobornika pozwala na efektywny wychwyt cząstek niezależnie od kierunku napływu strugi powietrza niosącej badane cząstki.

Na wyznaczonym stanowisku pomiarowych pobornik guzikowy umieszczany był na metalowym statywie, na wysokości 1,0–1,5 m nad powierzchnią gruntu tak, aby kasetka z filtrem (jako powierzchnią wychwyty cząstek biologicznych) znajdowała się na wysokości strefy oddechowej człowieka. Pobornik połączony był z aspiratorem uniwersalnym (model 224-PCTX8, SKC Inc., Eighty Four, PA). Próbki powietrza były pobierane na sterylne filtry żelatynowe. Prędkość przepływu strugi powietrza na wejściu do zestawu pomiarowego wynosiła 4,0 l/min. Zastosowano 90 minutowy czas poboru próbek.

Kontrola czystości pobornika guzikowego

Przed rozpoczęciem badań, pobornik guzikowy został poddany w laboratorium IMPiZŚ dezynfekcji i czyszczeniu, które polegało na jego myciu alkoholem izopropylowym w myjce ultradźwiękowej (UM-4GC, Unitra-Unima, Olsztyn), a następnie osuszaniu strumieniem gorącego powietrza.

Zastosowane filtry

Na potrzeby niniejszej pracy, w poborniku guzikowym stosowano sterylne filtry żelatynowe (SKC Inc.) o średnicy 25 mm i wielkości porów 3,0 µm. Filtry te charakteryzują się

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 5 z 15

dużą zawartością wilgoci, która pomaga utrzymać żywotność i biologiczną aktywność mikroorganizmów podczas pobierania próbek bioaerozoli.

Kontrola jakości i sterylności filtrów

Każdorazowo przed pomiarem była sprawdzana jakość i sterylność filtrów żelatynowych, poprzez ich rozpuszczenie w sterylnej wodzie peptonowej z dodatkiem Tweenu 80 (0,01 %) i posiew tak otrzymanej zawiesiny na podłoża mikrobiologiczne: agar tryptozowo-sojowy dla bakterii i agar słodowy dla grzybów. Po posiewie, podłoża inkubowano w cieplarkach w temperaturach 22°C i 37°C (TSA) i 30°C (MEA).

Kalibracja prędkości przepływu strugi powietrza przez przyrządy pomiarowe

Kalibracja prędkości przepływu strugi, wymuszonego przez pompę aspiratora, dokonana była w laboratorium przed i po pomiarze, za pomocą cyfrowego miernika przepływu Gilian® Gilibrator-2 (Sensidyne, Inc., Clearwater, FL) z cełą o zakresie wskazań 0,02-6 l/min.

Transport badanych próbek

Z laboratorium na wyznaczone stanowiska pomiarowe oraz w drodze powrotnej, kasety z filtrami żelatynowymi, umieszczone były w torbie transportowej, która zapewniała niezmienną (4°C) temperaturę w czasie transportu i zapobiegała ewentualnym termicznym uszkodzeniom filtrów.

Analiza laboratoryjna próbek bioaerozoli

Przywiezione do laboratorium filtry, były przekładane z kaset za pomocą pincety, do sterylnych plastikowych probówek typu FALCON o pojemności 50 ml. Próbkę opracowywano poprzez rozpuszczenie filtrów żelatynowych w 10 ml sterylnej wody peptonowej z dodatkiem Tweenu 80 (0,01 %) do momentu uzyskania homogennej zawiesiny, a następnie jej posiew metodą powierzchniową. Wysiewano (w trzech powtórzeniach) po 0,5 ml zawiesiny badanej próbki na płytki Petriego wypełnione odpowiednim podłożem agarowym. Płytki z posianym materiałem biologicznym inkubowano w komorach cieplnych.

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 6 z 15

Rodzaje podłoży mikrobiologicznych i warunki inkubacji

Do hodowli mikroorganizmów zostały zastosowane podłoża mikrobiologiczne zgodnie z zaleceniami przedstawionymi w Polskich Normach: PN-89/Z-04111/02 [1], PN-89/Z-04111/03 [2] i PN-EN 13098:2002 [3]. Taki dobór podłoży pozwolił na podział badanych mikroorganizmów na bakterie mezofile (w tym na bakterie wskaźnikowe z grup: promieniowców, gronkowców hemolizujących i *Pseudomonas fluorescens*), bakterie Gram-ujemne, termofilne promieniowce i grzyby oraz na wyznaczenie stężeń mikroorganizmów z tych grup. Podłoża zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami podanymi przez ich producentów. Warunki inkubacji mikrobiologicznej próbek zostały przedstawione w poniższej tabeli.

Tabela 1. Zastosowane podłoża i warunki inkubacji dla wyznaczenia stężenia badanych grup mikroorganizmów.

Rodzaj oznaczanych mikroorganizmów	Zastosowane podłoża mikrobiologiczne	Warunki inkubacji
Ogólna liczba bakterii	Agar sojowy (Trypticase Soy Agar - TSA)	1 dzień (37°C) + 3 dni (22°C) + 3 dni (4°C)
Promieniowce mezofilne	Podłoże Pochona	6 – 14 dni (26°C)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Agar Kinga B	5-7 dni (30°C)
Gronkowce hemolizujące typu α i β	Agar sojowy (Trypticase Soy Agar) z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej	Gronkowce hemolizujące typu α : 2 dni (37°C) typu β : 1 godz. (37°C) i 1 dzień (10°C)
Grzyby (grzyby pleśniowe i drożdżakopodobne)	Agar z ekstraktem słodowym (Malt Extract Agar - MEA)	4 dni (30°C) + 4 dni (22°C)
Bakterie Gram-ujemne	Podłoże EMB – Eosin Methylene Blue agar	1 dzień (37°C) + 3 dni (22°C) + 3 dni (4°C)
Termofilne promieniowce	50% Agar sojowy (TSA)	6 – 14 dni (55°C)

Kontrola jakości podłoży mikrobiologicznych

Sterylność i jakość przygotowanych podłoży mikrobiologicznych do hodowli bakterii kontrolowano poprzez odpowiednio: inkubację w cieplarkach w temperaturach 22°C i 37°C wypełnionych pożywką płytek Petriego oraz poprzez posiew i inkubację w temperaturze 37°C szczepów wzorcowych pochodzących z kolekcji ATCC – American Type Culture Collection (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Jakość podłoża stosowanego do oznaczania grzybów sprawdzana była poprzez inkubację w cieplarkach w temperaturach 22°C i 37°C wypełnionych pożywką

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 7 z 15

płytek Petriego oraz posiew na podłożu szczepów wzorcowych pochodzących z kolekcji ATCC (*Aspergillus niger* ATCC 16404, *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, *Candida albicans* ATCC 10231), a następnie jego inkubację w temperaturze 30°C.

Wyznaczanie stężenia mikroorganizmów żywych

Po okresie inkubacji wyznaczano liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) na podłożu mikrobiologicznym dla badanych grup mikroorganizmów. Wartość stężenia bioaerozolu wyznaczoną pobornikiem guzikowym C_B , w 1 m^3 powietrza, obliczano według wzoru:

$$C_B = [(jtk/10^n) \times (V_1/V_2)] / Q \times t$$

gdzie:

C_B – stężenie [jtk/ m^3],

jtk - średnia liczba jednostek tworzących kolonie na płycie,

n – współczynnik rozcieńczenia,

V_1 – objętość roztworu ekstrahującego zastosowanego do rozpuszczenia filtru [10 ml],

V_2 – objętość posianej próbki z danego rozcieńczenia [0,5 ml],

t – czas pobierania próbki bioaerozolu [90 min],

Q – prędkość przepływu strugi powietrza przez pobornik guzikowy [$4\text{ m}^3/\text{min}$].

Pomiary wilgotności względnej i temperatury powietrza

Na każdym stanowisku pomiarowym podczas pobierania próbek powietrza przeprowadzano równoległe pomiary wilgotności względnej i temperatury powietrza. W celu wyznaczenia wartości obu tych parametrów posługiwano się przenośnym miernikiem wielofunkcyjnym Omniport 20 wyposażonym w sondy pomiarowe temperatury i wilgotności (E+E Elektronik Ges.m.b.H., Engerwitzdorf, Austria).

Tabela 2. Warunki atmosferyczne na badanych stanowiskach pomiarowych w dniu pobrania próbek powietrza.

	Stanowisko pomiarowe						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Temperatura (°C)	17,7	18,4	16,7	17,8	16,4	16,8	17,6
Wilgotność względna (%)	75,0	73,3	84,1	77,9	80,0	78,6	72,7
Kierunek wiatru	W→E	W→E	W→E	W→E	W→E	W→E	W→E
Prędkość wiatru (m/s)	0,7	0,2	1,9	0,4	1,3	1,5	0,5

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 8 z 15

Identyfikacja mikroorganizmów

Analiza makroskopowa bakterii

Analiza makroskopowa była pierwszym etapem badania mikrobiologicznego po dokonaniu pobrania próbek i ich inkubacji. Obejmowała ona określenie cech morfologicznych kolonii (wielkość, kształt, wzniesienie (profil), przejrzystość, barwa samej kolonii i jej otoczenia) oraz cech hodowlanych szczepów izolowanych na agarze z krwią.

Podstawowa analiza mikroskopowa bakterii

Mikroskopowa charakterystyka kolonii bakterii opierała się na obserwacji preparatów barwionych metodą Grama. Barwienie wykonywane było po 24-godzinnej inkubacji czystego szczepu wyosobnionego na podłożu agarowe z krwią. Analiza mikroskopowa dostarczyła danych na temat: wielkości komórek, ich kształtu, układu względem siebie oraz występowania przetrwalników.

Analiza cech fizjologicznych bakterii

Analizie poddawano następujące cechy fizjologiczne izolowanych mikroorganizmów: stosunek do tlenu, zdolność do wytwarzania przetrwalników, zdolność do wytwarzania barwników, zdolność do ruchu (ruchliwość, którą badano pod mikroskopem w kropli wiszącej), zdolność do wzrostu w różnych warunkach temperaturowych i osmotycznych.

Analiza cech biochemicznych bakterii

Przy identyfikacji bakterii wykorzystano ich zdolności enzymatycznego rozkładu organicznych substratów, wykrywając za pomocą odpowiednich odczynników metabolity, uzyskiwane w wyniku tych reakcji. Wyniki testów biochemicznych (przy jednoczesnym uwzględnieniu rezultatów analizy makro- i mikroskopowej oraz analizy cech fizjologicznych) decydowały ostatecznie o zaliczeniu badanego drobnoustroju do danego rodzaju lub gatunku.

Testy biochemiczne API

Mikrotesty API (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francja) stanowią zminiaturyzowaną wersję szeregu biochemicznego. Zbudowane są z paska tworzywa, na którym znajduje się rząd mikroprobówek zawierających odwodnione substraty. Przeprowadzenie analizy polega na wypełnieniu probówek paska zawiesiną czystej hodowli badanego mikroorganizmu, a następnie jego inkubacji w wilgotnym środowisku przez określony (zależnie od testu) czas. Po inkubacji i dodaniu do niektórych probówek niezbędnych (dołączonych do danego testu) odczynników

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoałergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 9 z 15

dokonywany jest odczyt wyniku reakcji w każdej z mikropróbówek. W niniejszej pracy wykorzystano testy API 20 E (20-probówkowy test) – do identyfikacji bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i ID 32 STAPH (26-probówkowy test) - do identyfikacji bakterii z rodzaju *Staphylococcus*.

Komputerowy system analizy APIweb

Komputerowy system analizy APIweb umożliwia szybką interpretację testu API poprzez podanie nazwy systematycznej badanego mikroorganizmu. Komputerowej obróbce poddać można zarówno profil biochemiczny przedstawiony jako szereg dodatnich (+), ujemnych (-) lub wątpliwych (?) wyników reakcji, jak i profil numeryczny otrzymany poprzez przypisanie każdej z reakcji na pasku API odpowiedniej wartości liczbowej (0, 1, 2 lub 4), a następnie kolejne zsumowanie tych wartości, w grupach po trzy. Identyfikacja badanego szczepu następuje bezpośrednio po wprowadzeniu jego biochemicznego lub numerycznego profilu i jest podawana w postaci procentu identyfikacji, który określa na ile profil otrzymany empirycznie odpowiada oznaczonemu taksonowi, w porównaniu z innymi taksonami zamieszczonymi w bazie danych programu APIweb.

Wyniki reakcji biochemicznych testów API skojarzone z wynikami analizy makro- i mikroskopowej oraz analizy cech fizjologicznych posłużyły do ostatecznej identyfikacji badanych szczepów. Jako podstawę oceny przynależności gatunkowej i/lub rodzajowej przyjęto interpretację wyników testów biochemicznych uznając za wiarygodny procent identyfikacyjny o wartości powyżej 80.

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
	Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBil/05/15

Strona 10 z 15

WYNIKI BADAŃ

Analiza ilościowa bakterii i grzybów w badanych próbkach powietrza

Wartości stężeń poszczególnych grup mikroorganizmów uzyskane na wyznaczonych stanowiskach pomiarowych przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Wartości stężenia [jtk/m³] badanych grup mikroorganizmów zarejestrowane na poszczególnych stanowiskach pomiarowych.

	Stanowisko pomiarowe						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
	Kompostownia	Sortownia	10 m	200 m	400 m	800 m	Tło zewnętrzne
Ogólna liczba bakterii	3280	3086	1533	1820	644	862	1722
Promieniowce mezofilne	266	305	58	87	85	57	51
Gronkowce hemolizujące typu α	NS	18	NS	NS	NS	NS	NS
Gronkowce hemolizujące typu β	8	18	NS	NS	NS	NS	NS
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	34	17	14	NS	NS	NS	NS
Grzyby	1265	1266	1099	1305	317	1440	340
Bakterie Gram-ujemne	127	74	45	17	21	19	23
Termofilne promieniowce	51	36	21	34	NS	NS	NS

NS – nie stwierdzono

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badane mikroorganizmy występowały w największej liczbie w najbliższym otoczeniu czynnego składowiska odpadów komunalnych (kompostownia, sortownia). W miarę oddalania się od tego miejsca ich liczba zmniejszała się. W badaniach zwrócono również uwagę na liczebność tzw. mikroorganizmów wskaźnikowych, które bardziej jednoznacznie wyznaczają zasięg oddziaływania badanego obiektu. Jedną z grup drobnoustrojów wskazujących na mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza są promieniowce, które jako typowe mikroorganizmy glebowe występują zawsze tam, gdzie znajduje się w dużej ilości materia organiczna. Największą liczbę promieniowców stwierdzono w strefie czynnej składowiska. Podobne relacje stężeń zarejestrowane zostały również w odniesieniu do pozostałych drobnoustrojów wskaźnikowych, czyli gronkowców hemolizujących typu α i β oraz bakterii *Pseudomonas fluorescens*.

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 11 z 15

Najwyższe stężenie grzybów zarejestrowano na stanowisku zlokalizowanym 800 m od badanego obiektu. Mikroorganizmy grzybowe rozwijają się w przyrodzie, głównie w glebie czy w wodzie, aktywnie uczestnicząc w przemianach i krążeniu materii organicznej. Składowisko odpadów jest również miejscem ich naturalnego nagromadzenia. Niniejsze pomiary wskazują jednak, że zanieczyszczenie powietrza na tym stanowisku pomiarowym nie jest wyłącznie spowodowane oddziaływaniem na ten obszar zanieczyszczonych mas powietrza tworzących się nad składowiskiem odpadów, a wskazuje na istnienie dodatkowych źródeł ich emisji poza obiektem składowiska. Najprawdopodobniej przyczyną jest przemieszczanie się w ten obszar mas powietrza, które uległy zanieczyszczeniu w innych rejonach niż składowisko (np. położony w pobliżu zbiornik wodny, gospodarstwa położone są w pobliżu asfaltowej drogi szybkiego ruchu od strony północnej).

INTERPRETACJA UZYSKANYCH WYNIKÓW w oparciu o Polskie Normy i propozycje zalecanych stężeń drobnoustrojów w powietrzu opracowane przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych

Oceny uzyskanych wyników badań dokonano w oparciu o obowiązujące w naszym kraju Polskie Normy PN-89/Z-04111/02 (Tabela 4) [1] i PN-89/Z-04111/03 (Tabela 5) [2]. Należy jednak zaznaczyć, że oba przedstawione powyżej akty prawne nie uwzględniają nowoczesnego, zgodnego z obecnym stanem wiedzy, podejścia do zagadnienia czystości mikrobiologicznej powietrza. Dopuszczają bowiem między innymi przeprowadzenie pomiarów metodą sedymentacyjną, która to metoda nie daje rzeczywistego obrazu stopnia zanieczyszczenia powietrza. Zaproponowane w tychże Polskich Normach kryteria oceny stopnia zanieczyszczenia należy więc traktować jedynie jako wartości orientacyjne.

Tabela 4. Ocena stopnia zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego bakteriami według Polskiej Normy PN-89/Z-04111/02.

Ogólna liczba bakterii	Liczba				Stopień zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego
	Promieniowców	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Gronkowców hemolizujących		
			Hemoliza typu		
			α	β	
poniżej 1000	poniżej 10	brak	brak	brak	niezanieczyszczone
od 1000 do 3000	od 10 do 100	50 i poniżej	25 i poniżej	50 i poniżej	średnio zanieczyszczone
powyżej 3000	powyżej 100	powyżej 50	powyżej 25	powyżej 50	silnie zanieczyszczone

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBil/05/15	Strona 12 z 15

Tabela 5. Ocena stopnia zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego grzybami według Polskiej Normy PN-89/Z-04111/03.

Ogólna liczba grzybów w 1 m ³ powietrza atmosferycznego	Stopień zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego
do 3000	powietrze niezanieczyszczone
od 3000 do 5000	przeciętnie czyste powietrze atmosferyczne, zwłaszcza w okresie wczesnojesiennym i późnojesiennym
od 5000 do 10000	zanieczyszczenie mogące negatywnie oddziaływać na środowiska naturalne człowieka
powyżej 10000	zanieczyszczenie zagrażające środowisku naturalnemu człowieka

Najwłaściwsze z punktu widzenia dzisiejszego stanu wiedzy w dziedzinie badań bioaerozoli jest dokonanie oceny otrzymanych wyników stężeń w oparciu o propozycje norm zaproponowane przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy, które zostały wypracowane w oparciu o metody wolumetryczne. W ocenie higienicznej badanego środowiska pracy zanieczyszczonego pyłami organicznymi (stanowiska zlokalizowane na terenie Zakładu - kompostownia i sortownia) można zatem posłużyć się klasyfikacją dopuszczalnych stężeń mikroorganizmów zaproponowaną i przyjętą w 2004 r. przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych – Tabela 6 [3].

Tabela 6. Propozycje dopuszczalnych stężeń drobnoustrojów w powietrzu przemysłowego środowiska pracy według Zespołu Ekspertów ds. Czynników Biologicznych.

Czynnik mikrobiologiczny	Dopuszczalne stężenie
	Pomieszczenia robocze zanieczyszczone pyłem organicznym
Bakterie mezofilne	100×10^3 CFU/m ³
Bakterie Gram-ujemne	20×10^3 CFU/m ³
Termofilne promieniowce	20×10^3 CFU/m ³
Grzyby	50×10^3 CFU/m ³

W odniesieniu do powietrza atmosferycznego w ocenie ilościowej czynników mikrobiologicznych Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych przyjął w 2010 r. założenie, że stężenie poszczególnych składników bioaerozoli w powietrzu atmosferycznym nie powinno przekraczać wartości dopuszczalnych stężeń dla powietrza w pomieszczeniach mieszkalnych, tj. w środowisku, w którym człowiek spędza większość czasu w ciągu życia. Proponowane wartości stężeń szkodliwych czynników biologicznych dla powietrza atmosferycznego przedstawiono w tabeli 7 [4].

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
	Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBil/05/15

Strona 13 z 15

Tabela 7. Propozycje oceny stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza atmosferycznego (Górny, 2010).

Składnik bioaerozolu	Stopień zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego	
	Akceptowalny	Nieakceptowany
Bakterie mezofilne	$\leq 5,0 \times 10^3$ jtk/m ³	$> 5,0 \times 10^3$ jtk/m ³
Bakterie Gram-ujemne	$\leq 2,0 \times 10^2$ jtk/m ³	$> 2,0 \times 10^2$ jtk/m ³
Termofilne promieniowce	$\leq 2,0 \times 10^2$ jtk/m ³	$> 2,0 \times 10^2$ jtk/m ³
Grzyby	$\leq 5,0 \times 10^3$ jtk/m ³	$> 5,0 \times 10^3$ jtk/m ³

Porównanie wartości stężeń badanych mikroorganizmów, uzyskanych w wyniku pomiarów przeprowadzonych na terenie i w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu z wartościami powyższych norm lub ich propozycji przedstawia się następująco:

	Stanowisko pomiarowe						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
	Kompostownia	Sortownia	10 m	200 m	400 m	800 m	Tło zewnętrzne
PN-89/Z-04111/02:							
Ogólna liczba bakterii	SZ	SZ	ŚrZ	ŚrZ	NZ	NZ	NZ
Promieniowce mezofilne	SZ	SZ	ŚrZ	ŚrZ	ŚrZ	ŚrZ	ŚrZ
Gronkowce hemolizujące typu α	NZ	ŚrZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Gronkowce hemolizujące typu β	ŚrZ	ŚrZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ŚrZ	ŚrZ	ŚrN	NZ	NZ	NZ	NZ
PN-89/Z-04111/03:							
Grzyby	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Propozycje Zespołu Ekspertów ds. Czynnikiw Biologicznych:							
Bakterie mezofilne	PDS	PDS	SZA	SZA	SZA	SZA	SZA
Bakterie Gram-ujemne	PDS	PDS	SZA	SZA	SZA	SZA	SZA
Termofilne promieniowce	PDS	PDS	SZA	SZA	SZA	SZA	SZA
Grzyby	PDS	PDS	SZA	SZA	SZA	SZA	SZA

Objaśnienie symboli:

NZ – niezanieczyszczone, ŚrZ – średnio zanieczyszczone, SZ – silnie zanieczyszczone, PDS – poniżej dopuszczalnego stężenia, SZA – stopień zanieczyszczenia akceptowalny

Interpretacja uzyskanych danych pomiarowych w oparciu o Polskie Normy wykazała, że najsilniejsze zanieczyszczenie powietrza przez bakterie mezofile i wyznaczone bakterie wskaźnikowe (gronkowce hemolizujące i *Pseudomonas fluorescens*) zostało stwierdzone w rejonie czynnego oddziaływania składowiska. W miarę oddalania się od źródła zanieczyszczeń, liczebność mikroorganizmów się zmniejszała. Na stanowisku oddalonym 200 m od obiektu, stężenie bakterii mezofilnych w powietrzu wskazywało jeszcze na średni stopień zanieczyszczenia powietrza, ale nie rejestrowano już obecności gronkowców hemolizujących i

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 14 z 15

Pseudomonas fluorescens. Na stanowiskach oddalonych 400 m i dalej od obiektu, stężenia bakterii mezofilnych nie przekraczały już wartości 1000 jtk/m³ uznawanej jako wartość graniczną dla powietrza czystego.

Na stanowiskach w rejonie czynnego oddziaływania składowiska zarejestrowano również silne zanieczyszczenie powietrza przez promieniowce mezofile. Ich liczba stopniowo się zmniejszała w miarę oddalania się od obiektu i powietrze na pozostałych stanowiskach pomiarowych było średnio zanieczyszczone tymi drobnoustrojami. Mezofilne promieniowce stanowią grupę bakterii powszechnie występujących w środowisku, a gleba, woda, rośliny itp. stanowią naturalne środowisko ich bytowania, stąd ich powszechna obecność we wszystkich analizowanych próbkach powietrza.

Stężenia grzybów w powietrzu na badanych stanowiskach pomiarowych zlokalizowanych zarówno na terenie zakładu, jak i w rejonie jego oddziaływania, nie przekraczały wartości 3000 jtk/m³. Zatem pod względem liczby grzybów powietrze na badanych stanowiskach można określić jako niezanieczyszczone.

W odniesieniu do propozycji dopuszczalnych stężeń mikroorganizmów zaproponowanych przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych stwierdzono, że poziom zanieczyszczeń mikrobiologicznych w powietrzu na stanowiskach pracy zlokalizowanych na terenie badanego obiektu nie przekraczał wartości dopuszczalnych wyznaczonych dla tego typu środowiska pracy zanieczyszczonego pyłem organicznym. Natomiast na stanowiskach pomiarowych wyznaczonych poza badanym Zakładem poziom zanieczyszczeń mikrobiologicznych występujących w powietrzu można uznać za akceptowalny.

WNIOSKI

Uzyskane wyniki pomiarów mikrobiologicznej czystości powietrza na terenie i w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu pozwalają stwierdzić, że:

1. Badane składowisko odpadów komunalnych jest źródłem emisji mikroorganizmów bakteryjnych i grzybowych.
2. Stwierdzono, że najsilniej zanieczyszczone powietrze atmosferyczne pod względem występowania bakterii, w tym bakterii wskaźnikowych tj. promieniowców, gronkowców hemolizujących typu α i β , pałeczek *Pseudomonas fluorescens* jest w

Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu	Ocena czystości mikrobiologicznej powietrza w rejonie oddziaływania Zakładu Przetwarzania i Unieszkodliwiania Odpadów Komunalnych w Sosnowcu po upływie 1 roku od dnia rozpoczęcia eksploatacji Zakładu	
Zakład Szkodliwości Biologicznych i Immunoalergologii	Nr sprawozdania: ZSBiI/05/15	Strona 15 z 15

strefie czynnej składowiska (kompostownia, sortownia) i w odległości 10 m od granicy obiektu.

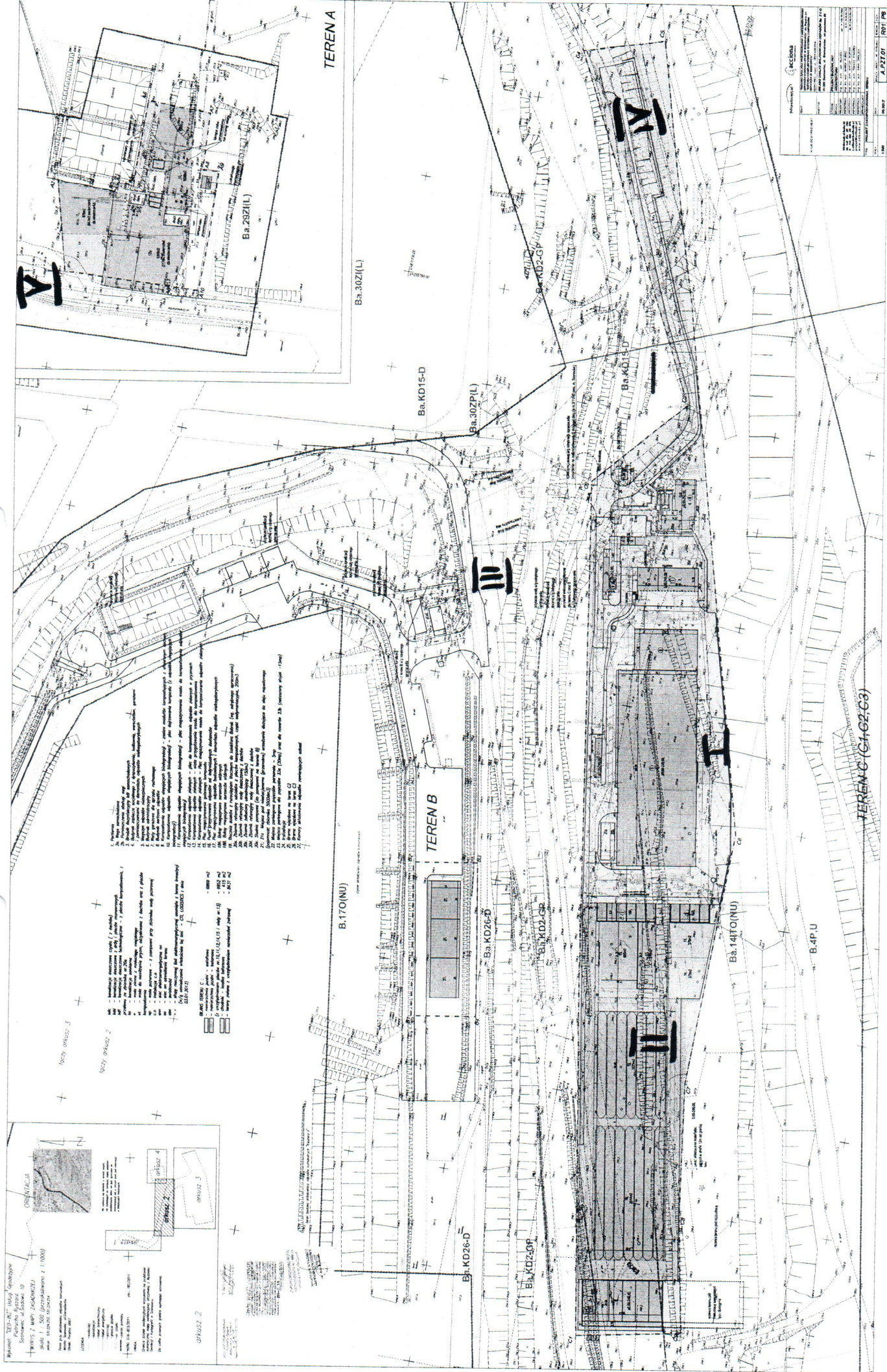
3. W odległości 200 m od obiektu, stężenie bakterii mezofilnych w powietrzu wskazywało jeszcze na średni stopień zanieczyszczenia powietrza, ale nie rejestrowano już obecności gronkowców hemolizujących i *Pseudomonas fluorescens*.
4. Powietrze na stanowiskach oddalonych 400 m i dalej od obiektu, pod względem liczby bakterii można określić jako niezanieczyszczone.
5. Pod względem liczby grzybów powietrze zarówno na terenie Zakładu jak i w rejonie jego oddziaływania można określić jako niezanieczyszczone.
6. Zanieczyszczenie powietrza bakteriami z grupy promieniowców oraz mikroorganizmami grzybowymi na stanowisku oddalonym 800 m od Zakładu, nie jest wyłącznie spowodowane oddziaływaniem na ten obszar zanieczyszczonych mas powietrza tworzących się nad składowiskiem odpadów, a wskazuje na istnienie dodatkowych źródeł ich emisji poza obiektem składowiska (np. położony w pobliżu zbiornik wodny, gospodarstwa domowe itp.)

Należy zaznaczyć, że badania mikrobiologicznej czystości powietrza przeprowadzone w obrębie Zakładu i poza nim były wykonane jednorazowo, w ciągu jednego dnia i przy kierunku wiatru wiejącym w stronę obiektu.

PIŚMIENICTWO

1. Polska Norma PN-89-Z-04111/02: Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
2. Polska Norma PN-89-Z-04111/03: Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby grzybów mikroskopowych w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
3. Augustyńska D, Pośniak M (2007): Międzyresortowa Komisja ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynniki Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy - Czynniki szkodliwe w środowisku pracy - Wartości dopuszczalne - 2007. CIOP PIB, Warszawa.
4. Górny RL, Stobnicka A (2014): Szkodliwe czynniki biologiczne – ochrona zdrowia pracowników. Bezpieczeństwo pracy 4, 6-10.
5. Górny RL (2010): Aerozole biologiczne – rola normatywów higienicznych w ochronie środowiska i zdrowia. Medycyna Środowiskowa 13, 41-51.

KONIEC SPRAWOZDANIA



Rozmieszczenie stanowisk pomiarowych I-V.

Załącznik 1