

Łukasz Kubera¹Joanna Studzińska¹Wioletta Dokładna²Marta Małecka-Adamowicz¹Wojciech Donderski¹

MIKROBIOLOGICZNA JAKOŚĆ POWIETRZA W WYBRANYCH PRZEDSZKOLACH ORAZ ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ BAKTERII Z RODZAJU *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

MICROBIOLOGICAL AIR QUALITY IN SOME KINDERGARTENS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE
OF BACTERIA OF THE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. GENUS

¹ Uniwersytet Kazimierza Wielkiego / Kazimierz Wielki University, Bydgoszcz, Poland
Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii / Faculty of Natural Science,
Institute of Experimental Biology, Department of Microbiology

² Uniwersytet Kazimierza Wielkiego / Kazimierz Wielki University, Bydgoszcz, Poland
Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Immunobiologii / Faculty of Natural Science,
Institute of Experimental Biology, Department of Immunobiology

STRESZCZENIE

Wstęp: Mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza i nabywanie przez chorobotwórcze bakterie oporności na antybiotyki to coraz częściej obserwowane zjawiska, które wpływają na jakość naszego zdrowia. Dotyczą one przede wszystkim miejsc użyteczności publicznej, w których spędzamy znaczną część naszego życia. Celem niniejszej pracy była mikrobiologiczna analiza powietrza w wybranych przedszkolach i ocena antybiotykooporności szczepów z rodzaju *Staphylococcus*. Dokonano również identyfikacji wyizolowanych grzybów pleśniowych. **Materiał i metody:** Próbkę powietrza pobierano w salach dydaktycznych w cyklu sezonowym, w godzinach porannych i popołudniowych z wykorzystaniem 2 metod – sedymentacyjnej i zderzeniowej. Próbkę pobieraną na zewnątrz przedszkoli były próbkami kontrolnymi. Jakość powietrza oceniano w oparciu o grupy mikroorganizmów wskaźnikowych, zgodnie z Polskimi Normami. Lekowrażliwość wyizolowanych gronkowców oceniano metodą dyfuzyjno-krażkową z użyciem antybiotyków 8 różnych klas, zgodnie z rekomendacjami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST). **Wyniki:** Z przeprowadzonych analiz wynika, że niezależnie od zastosowanej metody ogólna liczba bakterii heterotroficznych i gronkowców w powietrzu analizowanych przedszkoli przekraczała dopuszczalne normy. Nie odnotowano nadmiernego zanieczyszczenia powietrza grzybami pleśniowymi. Na podstawie antybiogramów stwierdzono, że szczepy *Staphylococcus* spp. największą wrażliwość wykazywały wobec chloramfenikolu, a najmniejszą wobec penicyliny i gentaminy. Wśród grzybów dominowały pleśnie z rodzaju *Cladosporium*. **Wnioski:** Niniejsze analizy wskazują na konieczność systematycznych kontroli sanitarnych powietrza oraz prowadzenia dalszych badań, które umożliwią rozpoznanie czynników biologicznych mogących znacząco wpłynąć na jakość zdrowia osób przebywających w pomieszczeniach użyteczności publicznej. Med. Pr. 2015;66(1):49–56

Słowa kluczowe: antybiotykooporność, *Staphylococcus* spp., grzyby pleśniowe, jakość powietrza wewnętrznego, przedszkola, zdrowie publiczne

ABSTRACT

Background: Microbiological contamination of the air and the acquisition of the antibiotic resistance by pathogenic bacteria is a growing phenomenon that has a substantial impact on the quality of our health. This problem applies mainly to public areas where we spend a large part of our lives. This study was focused on the microbiological analysis of the air in some kindergartens and antibiotic resistance of bacteria of the *Staphylococcus* spp. genus. The identification of the isolated mould fungi has been also made. **Material and Methods:** Air samples were collected from classrooms in the seasonal cycle in the mornings and afternoons using 2 methods, sedimentation and impact. Air samples collected outside the kindergartens served as controls. Air quality assessments were based on the groups of indicator microorganisms, according to Polish standards. The susceptibility of isolated staphylococci was assessed with the disc-diffusion method, using 8 different classes of antibiotics, in line with the recommendations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). **Results:** The analyses show that, regardless of the method, the total number of heterotrophic bacteria and staphylococci in the air of the analyzed kindergartens exceeded the allowable limits. There was no air pollution with the fungal infection. Based on the antibiogram, it was found that *Staphylococcus* spp. strains showed the highest sensitivity to chloramphenicol and the lowest to penicillin and gentamicin. Among the fungi

moulds of the genus *Cladosporium* predominated. **Conclusions:** The results of the analyses highlight the need for regular health checks and further research to help identify biological factors that may significantly affect the quality of health of people living in public spaces. *Med Pr* 2015;66(1):49–56

Key words: antibiotic resistance, *Staphylococcus* spp., moulds, indoor air quality, kindergartens, public health

Autor do korespondencji / Corresponding author: Łukasz Kubera, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii, ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz, e-mail: kubera@ukw.edu.pl
Nadesłano: 18 listopada 2014, zatwierdzono: 10 lutego 2015

WSTĘP

Jednym z podstawowych czynników, które istotnie wpływają na stan zdrowia ludzi, jest jakość powietrza [1]. Występujące w nim bakterie i grzyby mogą stanowić poważny problem ochrony zdrowia [2]. Z licznych badań wynika, że mikroorganizmy te mogą być przyczyną infekcji, chorób immunotoksycznych i alergii [3–5]. Nie dziwi więc, że ostatnio wzrosło zainteresowanie badaniami nad występowaniem biologicznych czynników zakaźnych w powietrzu pomieszczeń użyteczności publicznej, w tym miejsc pracy [6–7].

W pomieszczeniach zamkniętych o dużym zagęszczeniu ludzi liczba drobnoustrojów jest wielokrotnie większa niż w miejscach otwartych. Powietrze wewnątrz jest szczególnie bogate w mikroorganizmy chorobotwórcze wydzielane przez ludzi wraz ze śliną podczas kichania i kasłania [8]. Szczególne zagrożenie w zakresie przenoszenia czynników zakaźnych stanowią ośrodki opieki nad dziećmi. Małe dzieci wykazują bowiem wysoką podatność na wirusowe i bakteryjne infekcje [9].

Dominującą mikroflorą powietrza atmosferycznego są grzyby strzępkowe, reprezentowane głównie przez *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium* i *Rhizopus*. Mikroflora bakteryjna występująca w powietrzu pomieszczeń zamkniętych reprezentowana jest głównie przez bakterie saprofityczne z rodzaju *Micrococcus* i *Staphylococcus* [10]. Gronkowce stanowią wskaźniki sanitarnego zanieczyszczenia powietrza, a ich obecność może świadczyć o występowaniu bakterii chorobotwórczych. Szczególnie istotne są szczepy antybiotykooporne, które pojawiają się w następstwie nieracjonalnego leczenia antybiotykami – m.in. kiedy pacjentowi przepisuje się antybiotyk bez zlecenia wykonania antybiogramu lub kiedy czynnikiem etiologicznym zakażenia mogą być wirusy (np. przeziębienie) [11].

Szczepy te znacząco wpływają na zdrowie publiczne, a ich obecność w środowisku jest coraz częściej obserwowana [12,13]. Z tego powodu istnieje konieczność regularnej kontroli mikrobiologicznej jakości powietrza.

Zwłaszcza w placówkach zwiększonego ryzyka – takich jak przedszkola, szkoły i szpitale – należy prowadzić systematyczne badania w celu poznania kierunku rozwoju antybiotykooporności u mikroorganizmów potencjalnie chorobotwórczych.

Celem niniejszych badań była mikrobiologiczna analiza powietrza w wybranych przedszkolach i ich okolicy w oparciu o normy PN-Z-04111-01:1989, PN-Z-04111-02:1989 oraz PN-Z-04111-03:1989 [14–16]. Powyższe dokumenty dotyczą badań mikrobiologicznych z zakresu ochrony czystości powietrza i są jedynymi obowiązującymi w Polsce oficjalnymi rekomendacjami odnośnie do sposobu interpretacji uzyskanych wyników. W ramach niniejszych badań oceniono także lekowrażliwość wyizolowanych szczepów z rodzaju *Staphylococcus* na antybiotyki z 8 różnych klas, zgodnie z rekomendacjami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości [17]. W badanym powietrzu określono również rodzaj grzybów pleśniowych.

MATERIAŁ I METODY

Stanowiska badawcze

Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone na terenie 2 przedszkoli – publicznego i niepublicznego, zlokalizowanych w Bydgoszczy. Przedszkole publiczne położone jest w centrum miasta, w dzielnicy Barto-dzieje, przy ulicy o dużym natężeniu ruchu drogowego. Przedszkole niepubliczne usytuowane jest w północno-wschodniej części miasta, w dzielnicy Fordon, przy ulicy mało uczęszczanej, otoczonej lasem.

Badania realizowano w cyklu sezonowym, tj. wiosną, latem, jesienią i zimą, od kwietnia 2012 r. do lutego 2013 r. Powietrze wewnątrz przedszkoli pobierano z sal dydaktycznych 2-krotnie w ciągu dnia – w godzinach porannych i popołudniowych. Powietrze na zewnątrz przedszkoli, stanowiące próbę kontrolną, pobierano w godzinach południowych w odległości około 25 m od budynku. Szczegółowy opis analizowanych stanowisk zawarto w tabeli 1.

Tabela 1. Specyfikacja stanowisk badawczych
Table 1. Specification of sampling sites

Lokalizacja Location	Stanowisko poboru prób Sampling site			
	rodzaj powietrza type of air	godzina poboru hour of sampling	dzieci w pokoju (maks.) children in classroom (max) [n]	powierzchnia sali dydaktycznej usable area of classroom [m ²]
Przedszkole publiczne / / Public kindergarten	powietrze wewnętrzne / indoor air	7:00 i 15:00 / 7:00 a.m. and 3:00 p.m.	25	63,4
	powietrze zewnętrzne / outdoor air	południe / midday		
Przedszkole niepubliczne / / Nonpublic kindergarten	powietrze wewnętrzne / indoor air	7:00 i 15:00 / 7:00 a.m. and 3:00 p.m.	35	67,3
	powietrze zewnętrzne / outdoor air	południe / midday		

Maks. – wartość maksymalna / max – maximal value.

Pobór próbek

Próby powietrza pobierano 2 metodami – sedymentacyjną i zderzeniową z użyciem próbnika powietrza MAS-100 (prod. Merck, Niemcy). W metodzie sedymentacyjnej otwarte płytki Petriego, zawierające pożywki testowe, eksponowano na badanych stanowiskach na wysokości 150 cm, odpowiednio przez 10 min dla bakterii heterotroficznych i grzybów pleśniowych oraz 30 min dla gronkowców.

W metodzie zderzeniowej, w zależności od spodziewanego zanieczyszczenia, pobierano 50 l lub 100 l powietrza, które przechodziło przez komorę próbnika zawierającą szalki Petriego z odpowiednimi pożywkami testowymi. Zgodnie z ww. metodami poboru prób dokonywano w 3 równoległych powtórzeniach. Płytki z pobranym materiałem inkubowano w termostatach o określonej temperaturze przez odpowiednio 48 i 120 godz. Po inkubacji wyniki otrzymane jako jednostki tworzące kolonie przeliczano na metr sześcienny powietrza (jtk×m⁻³).

W metodzie sedymentacyjnej wyniki obliczono z wykorzystaniem wzoru Omeliańskiego:

$$A = \frac{a \times 10^4}{\pi r^2 \times t \frac{1}{5}} \quad (1)$$

gdzie:

A – całkowita liczba mikroorganizmów w 1 m³ powietrza,

a – średnia liczba mikroorganizmów na płycie,

10⁴ – współczynnik przeliczeniowy na 1 m³ powietrza,

r – promień płytki Petriego (cm),

πr² – powierzchnia płytki Petriego (cm²),

t – czas ekspozycji płytki (min).

W metodzie zderzeniowej do obliczeń wykorzystano tabelę pomiarową Fellera, dołączoną do instrukcji obsługi próbnika powietrza MAS-100 [18].

Badania mikrobiologiczne

Mikrobiologiczne badania powietrza przeprowadzone na terenie 2 bydgoskich przedszkoli obejmowały oznaczenie ogólnej liczby bakterii heterotroficznych, grzybów pleśniowych i gronkowców mannitolododatnich w oparciu o wytyczne obowiązujących w Polsce norm.

W celu określenia ogólnej liczby bakterii heterotroficznych użyto pożywki agar bakteriologiczny (prod. Biorocp, Polska). Płytki inkubowano w temperaturze 37°C przez 48 godz. Po tym czasie zliczano wyrosłe kolonie, a wynik podano jako jednostki tworzące kolonie w 1 m³ (jtk×m⁻³).

Obecność gronkowców mannitolododatnich oznaczono, używając pożywki Mannitol Salt LAB-AGAR™ (prod. Biocorp, Polska) do izolacji i identyfikacji gronkowców. Hodowle inkubowano w temperaturze 37°C przez 48 godz. Za wynik dodatni przyjmowano pojawienie się żółtego zabarwienia wokół wyrosłej kolonii i potwierdzano go barwieniem Grama.

Antybiotykooporność szczepów *Staphylococcus* spp. określono w oparciu o metodę dyfuzyjno-krażkową. Na posianą wybranymi losowo szczepami gronkowców mannitolododatnich pożywkę testową wykładano krążki bibułowe nasączone antybiotykami. W celu uzyskania pełnego spektrum oporności szczepów gronkowców wykorzystano 8 antybiotyków z różnych grup – penicylinę, cefoksytynę, gentamycynę, erytromycynę, tetracyklinę, lewofloksacynę, chloramfenikol i rifampycynę.

Po 18 godz. inkubacji w temperaturze 36°C mierzono strefy zahamowanego wzrostu, które powstały wokół krążków. Odczytane wartości odniesiono do rekomendacji Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST) i na ich podstawie dokonano podziału badanych szczepów na wrażliwe, średnio wrażliwe i odporne.

Ogólną liczbę grzybów pleśniowych oznaczono, wykorzystując podłoże Sabouraud z chloramfenikolem firmy Biocorp. Materiał inkubowano w temperaturze 26°C przez 5 dni. Identyfikację grzybów pleśniowych określono na podstawie cech makro- i mikroskopowych w oparciu o klucz do oznaczania grzybów [19].

Badania statystyczne

Ocenie statystycznej poddano wyniki ogólnej liczby mikroorganizmów, oznaczając średnią i odchylenie standardowe dla wartości uzyskanych z 4 sezonów badawczych dla każdej z zastosowanych metod.

WYNIKI

Wyniki badań powietrza pod kątem występowania różnych grup mikroorganizmów przedstawiono w tabeli 2. Analizując przedstawione dane, można zauważyć kilka zależności. W przypadku obu zastosowanych metod (sedymentacyjnej i zderzeniowej) średnia liczba bakterii heterotroficznych i gronkowców na zewnątrz

Tabela 2. Mikroorganizmy w badanym powietrzu
Table 2. Microorganisms in the sampled air

Grupa mikroorganizmów Group of microbes	Powietrze w przedszkolu publicznym (M±SD, zakres) [jtk×m ⁻³] Air in public kindergarten (M±SD, range) [cfu×m ⁻³] (N = 3)			Powietrze w przedszkolu niepublicznym (M±SD, zakres) [jtk×m ⁻³] Air in nonpublic kindergarten (M±SD, range) [cfu×m ⁻³] (N = 3)		
	powietrze zewnętrzne outdoor background	wewnętrzne powietrze poranne morning indoor air	wewnętrzne powietrze popołudniowe afternoon indoor air	powietrze zewnętrzne outdoor background	wewnętrzne powietrze poranne morning indoor air	wewnętrzne powietrze popołudniowe afternoon indoor air
	Bakterie heterotroficzne / Heterotrophic bacteria					
A	596,0±465,4 (183–1 206)	1 238,5±437,1 (944–1 887)	2 123,0±1 861,2 (157–3 853)	91,75±81,7 (26–210)	1 657,8±626,4 (760–2 202)	2 361,5±1 111,0 (1 398–3 932)
B	137,5±43,5 (100–180)	3 697,5±2 783,3 (1 520–7 780)	9 037,5±4 543,4 (4 560–15 260)	152,5±208,1 (20–460)	5 940,0±4 114,9 (680–10 520)	10 180,0±10 503,3 (3 120–25 520)
Grzyby pleśniowe / Mould fungi						
A	1 835,0±2 187,6 (105–4 797)	334,0±391,2 (79–917)	308,0±323,8 (0–682)	1 854,5±2 523,3 (79–5 530)	334,3±430,5 (26–970)	196,5±107,8 (79–288)
B	940,0±927,6 (80–2 160)	632,5±526,6 (240–1 360)	660,0–407,6 (100–1 040)	997,5±973,5 (310–2 380)	615,0±476,5 (160–1 280)	370,0±386,6 (20–900)
Gronkowce / Staphylococci						
A	61,0±53,9 (0–131)	139,8±50,0 (87–201)	205,3±121,0 (90–820)	11,0±10,9 (0–26)	146,5±110,7 (26–245)	168,3±64,6 (30–500)
B	15,0±5,8 (10–20)	110,0±86,8 (10–220)	382,5±313,2 (90–820)	2,5±5,0 (0–10)	282,5±255,9 (70–600)	292,5±234,3 (30–500)

A – metoda sedymentacyjna / sedimentation method, B – metoda zderzeniowa / impact method.

M – średnia / mean, SD – odchylenie standardowe / standard deviation.

N – liczba prób / samples number.

przedszkoli była mniejsza niż wewnątrz, gdzie większą liczebność odnotowano w godzinach popołudniowych. Odwrotne zjawisko odnotowano natomiast w przypadku grzybów pleśniowych. Ich najmniejszą liczbę zaobserwowano w środku budynku w godzinach porannych, natomiast największą na zewnątrz przedszkola.

Zaobserwowano również, że w przedszkolu publicznym zlokalizowanym w centrum miasta liczba bakterii była mniejsza niż na zewnątrz. Odwrotną sytuację odnotowano w przypadku przedszkola niepublicznego zlokalizowanego w dzielnicy odległej od centrum miasta. Zauważono również wyraźne różnice w wynikach w zależności od zastosowanej metody poboru próby.

W powietrzu zewnętrznym większą liczebność analizowanych grup mikroorganizmów stwierdzono, stosując metodę sedymentacyjną (średnio: od 11 jtk×m⁻³ dla gronkowców do 1854,5 jtk×m⁻³ dla grzybów, podczas gdy w metodzie zderzeniowej wyniki wahały się średnio od 2,5 jtk×m⁻³ dla gronkowców do 997,5 jtk×m⁻³ dla grzybów).

Z kolei w powietrzu wewnętrznym większe średnie wartości w odniesieniu do mikroorganizmów odnotowano w przypadku zastosowania metody zderzeniowej (od 110 jtk×m⁻³ dla gronkowców do 10180 jtk×m⁻³ dla ogólnej liczby bakterii heterotroficznych). W metodzie sedymentacyjnej wyniki wahały się średnio

od 139,8 jtk×m⁻³ dla gronkowców do 2361,5 jtk×m⁻³ dla ogólnej liczby bakterii heterotroficznych.

Interpretację wyników dotyczących zanieczyszczenia badanego powietrza przedstawiono w tabeli 3. Niezależnie od zastosowanej metody w obydwu badanych przedszkolach stwierdzono silne zanieczyszczenie powietrza gronkowcami mannitolododatnimi, których liczba znacznie przekraczała normy obowiązujące w Polsce. Nie odnotowano natomiast nadmiernego zanieczyszczenia powietrza grzybami pleśniowymi.

Wyniki antybiogramów wykonanych metodą dyfuzyjno-krażkową na losowo izolowanych szczepach gronkowców mannitolododatnich przedstawiono w tabeli 4. Z danych tych wynika, że wszystkie badane szczepy wykazywały oporność na penicylinę i gentamycynę. Największą wrażliwość analizowane gronkowce wykazywały wobec chloramfenikolu (80%) i lewofloksacyny (76%). Podczas analiz odnotowano również 1 szczep gronkowca, który okazał się odporny wobec wszystkich analizowanych antybiotyków.

Wyniki dotyczące identyfikacji grzybów pleśniowych przedstawiono w tabeli 5. Zarówno wewnątrz przedszkoli, jak i w ich otoczeniu dominującą grupę grzybów stanowiły pleśnie z rodzaju *Cladosporium*. Najmniej liczne były natomiast pleśnie z rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus*, *Dematiaceae* i *Aureobasidium*. Trzech ostatnich rodzajów nie odnotowano wewnątrz przedszkoli.

Tabela 3. Ocena mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza wewnątrz i na zewnątrz przedszkoli w oparciu o Polskie Normy [14–16]

Table 3. Evaluation of microbiological air contamination inside and outside kindergartens according to Polish Norm recommendations [14–16]

Stanowisko Sites	Bakterie heterotroficzne ^a Heterotrophic bacteria ^a		Grzyby pleśniowe ^b Mould fungi ^b		Gronkowce ^c Staphylococci ^c	
	A	B	A	B	A	B
Przedszkole publiczne / Public kindergarten						
powietrze wokół przedszkola / outdoor background	*	*	*	*	***	**
wewnętrzne powietrze poranne / morning indoor air	**	***	*	*	***	***
wewnętrzne powietrze popołudniowe / afternoon indoor air	**	***	*	*	***	***
Przedszkole niepubliczne / Nonpublic kindergarten						
powietrze wokół przedszkola / outdoor background	*	*	*	*	**	**
wewnętrzne powietrze poranne / morning indoor air	**	**	*	*	***	***
wewnętrzne powietrze popołudniowe / afternoon indoor air	**	**	*	*	***	***

Wartości graniczne [jtk/m³] / Limit values [cfu/m³]:

* brak zanieczyszczenia / no pollution: a) < 1 000, b) 3 000–5 000, c) 0

** średnie zanieczyszczenie / medium pollution: a) 1 000–3 000, b) 5 000–10 000, c) < 25

*** mocne zanieczyszczenie / heavy pollution: a) > 3 000, b) > 10 000, c) > 25

Inne skróty jak w tabeli 2 / Other abbreviations as in Table 2.

Tabela 4. Antybiotykooporne szczepy z rodzaju *Staphylococcus* wyizolowane z powietrza sal dydaktycznych badanych przedszkoli
Table 4. Antibiotic-resistant strains of the *Staphylococcus* genus isolated from classrooms' air of evaluated kindergartens

Nazwa antybiotyku Name of antibiotic	Symbol krążka Symbol of disc	Stężenie antybiotyku Concentration of antibiotic [µg]	Szczepy z rodzaju <i>Staphylococcus</i> Strains of the <i>Staphylococcus</i> genus (N = 25) [%]		
			oporne resistant	średniooporne intermediate	wrażliwe susceptible
Benzylopenicylina / Benzylpenicillin	P1	1 unit	100,0	–	–
Cefoksytyna / Cefoxitin	FOX	30	48,0	–	52,0
Lewofloksacyna / Levofloxacin	LEV5	5	16,0	8,0	76,0
Gentamycyna / Gentamicin	CN10	10	100,0	–	–
Erytromycyna / Erythromycin	E15	15	48,0	12,0	40,0
Tetracyklina / Tetracycline	TE30	30	20,0	20,0	60,0
Chloramfenikol / Chloramphenicol	C30	30	20,0	–	80,0
Rifampicyna / Rifampicin	RA5	5	60,0	16,0	24,0

Tabela 5. Rodzaje pleśni zidentyfikowane w badanym powietrzu
Table 5. Types of identified moulds in the analyzed air

Rodzaj pleśni Genus of mould	Pleśń Mould [%]	
	powietrze zewnętrzne outdoor air (N = 5)	powietrze wewnętrzne indoor air (N = 5)
<i>Alternaria</i>	7,69	7,5
<i>Cladosporium</i>	73,85	67,5
<i>Aspergillus</i>	1,54	–
<i>Penicillium</i>	1,54	7,5
<i>Acremonium</i>	6,15	10,0
<i>Aureobasidium</i>	1,54	–
<i>Fusarium</i>	7,69	5,0
Niezidentyfikowane / Unidentified	–	2,5
Ogółem / Total	100,0	100,0

N – liczba prób / samples number.

OMÓWIENIE

Na występowanie mikroorganizmów w powietrzu wpływa wiele czynników, które w różny sposób mogą determinować ich liczbę. W niniejszych badaniach znaczące różnice zaobserwowano zarówno w przypadku rodzaju badanego powietrza, jak i lokalizacji przedszkola. Wewnątrz przedszkoli dominowała grupa bakterii heterotroficznych i gronkowców. Z kolei wokół

budynków odnotowano większą liczbę grzybów pleśniowych.

Podobne zależności odnotowała Kalwasińska i wsp., badając mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza w pomieszczeniach Biblioteki Uniwersyteckiej w Toruniu, będącej główną biblioteką Mikołaja Kopernika w Toruniu [20]. Także Frankel i wsp., badając powietrze w domach mieszkalnych i ich okolicy, uzyskali większą liczebność grzybów w środowisku zewnętrznym [21]. Ich liczba była nieznacznie mniejsza od wyników uzyskanych w niniejszej pracy i wynosiła 26–235 jtk/m³.

Większa liczba mikroorganizmów w budynku przedszkola niepublicznego badanego w niniejszej pracy może wynikać z tego, że w takich placówkach grupy dzieci liczą 35 osób. Z kolei zgodnie z przepisami [22] w przedszkolach publicznych grupy mogą liczyć maksymalnie 25 dzieci. Istotny wpływ na wybór metody badawczej ma rodzaj badanego powietrza. Wewnątrz budynków wyższe wyniki uzyskiwano metodą zderzeniową, natomiast w środowisku zewnętrznym – metodą sedymentacyjną.

Kruczalak i Olańczuk-Neyman, badając mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza przy oczyszczalni ścieków, również uzyskali wyniki o jeden rząd wielkości większe w metodzie sedymentacyjnej niż zderzeniowej [23]. Metoda sedymentacyjna nie jest metodą wolumetryczną, więc wysokie wyniki nią uzyskiwane są prawdopodobnie związane z rodzajem badanego bioaerozolu. W powietrzu zewnętrznym cząstki pyłu są znacznie większe i cięższe niż w powietrzu wewnętrznym, co wpływa na szybkość ich opadania.

Błąd pomiarowy metody sedimentacyjnej oddają wyniki odchylenia standardowego, którego zakres jest dużo większy niż w metodzie zderzeniowej. W tej metodzie znana i stała objętość powietrza w pewnym stopniu redukuje błąd pomiarowy.

Odnotowana liczba gronkowców mannitolododatnich w obu badanych przedszkolach – według PN-Z-04111-02:1989 [15] przekraczająca normy dopuszczalne w Polsce – świadczy o zwiększonym ryzyku występowania potencjalnie szkodliwych czynników biologicznych w miejscach użyteczności publicznej. Dotyczy to zwłaszcza pracowników oświaty, którzy mają kontakt z dużą grupą podopiecznych. Pozytywnym wynikiem niniejszych badań jest brak zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi, wśród których mogą występować czynniki alergenne. Podobne wyniki uzyskał Butarewicz, analizując powietrze w budynku Wydziału Budownictwa i Inżynierii Środowiska Politechniki Białostockiej [5].

Nabywanie przez mikroorganizmy oporności na antybiotyki jest dzisiaj powszechnie dyskutowanym problemem. W niniejszych badaniach wszystkie analizowane szczepy gronkowców okazały się odporne na benzylopenicylinę i gentamycynę.

Wyniki te różnią się od wyników uzyskiwanych w innych częściach świata. Gandara i wsp., badając antybiotykooporność szczepów *Staphylococcus aureus* izolowanych z 24 domów jednorodzinnych w stanie Teksas (USA), 100-procentową oporność na penicylinę stwierdzili tylko w 3 przypadkach [24]. Biorąc pod uwagę wszystkie analizowane przez nich stanowiska na penicylinę, opornych było 60,46% szczepów. Z kolei Zhou i Wang, analizując wpływ różnych antybiotyków na szczepy gronkowców izolowanych z poczekalni na stacji metra w Szanghaju, stwierdzili oporność na penicylinę u zaledwie 28% z nich [25]. Żaden z analizowanych przez nich gronkowców nie wykazał oporności na gentamycynę, natomiast antybiotykiem najskuteczniejszym okazała się erytromycyna (30% szczepów opornych).

Uzyskane w niniejszym badaniu wyniki identyfikacji grzybów pleśniowych wskazujące na dominację pleśni z rodzaju *Cladosporium* potwierdzają, że rodzaj ten jest niezwykle rozpowszechniony w powietrzu atmosferycznym, które jednocześnie jest głównym źródłem zagrzybienia powietrza wewnątrz budynków. Wielu badaczy stwierdziło bowiem, że w powietrzu takich miejsc, jak szkoły, szpitale i mieszkania najliczniej występują pleśnie z rodzaju *Cladosporium* [26–28]. Nie wielki odsetek innych pleśni wewnątrz budynków wynika zapewne z tego, że w badanych pomieszczeniach nie było innego, dodatkowego źródła grzybów.

WNIOSKI

Wyniki badania powietrza wewnętrznego pod kątem jego zanieczyszczenia analizowanymi grupami mikroorganizmów różniły się w zależności od zastosowanej metody, jak i rodzaju badanego powietrza oraz lokalizacji przedszkola. Stężenia występujących wewnątrz przedszkoli bakterii heterotroficznych i gronkowców mannitolododatnich przekraczały wartości graniczne dla powietrza niezanieczyszczonego, określone w PN-Z-04111-02:1989 [15]. Nie odnotowano natomiast nadmiernego zanieczyszczenia powietrza grzybami pleśniowymi. Wykazano, że losowo wyizolowane z powietrza wewnętrznego szczepy gronkowców mannitolododatnich okazały się w 100% odporne na benzylopenicylinę i gentamycynę. Najwięcej szczepów wrażliwych odnotowano wobec chloramfenikolu i lewofloksacyny.

Wysoki odsetek antybiotykoopornych gronkowców dowodzi, że konieczne są systematyczne mikrobiologiczne kontrole powietrza wewnątrz budynków i dalsze badania, które pomogą rozpoznać biologiczne czynniki mogące wpływać na jakość zdrowia osób przebywających w pomieszczeniach użyteczności publicznej. Dotyczy to zwłaszcza budynków dydaktycznych, takich jak przedszkola i szkoły, w których ze względu na zagęszczenie powietrza przekraczane są dopuszczalne normy występowania mikroorganizmów, co potwierdziły niniejsze badania.

PIŚMIENNICTWO

1. Gładysz J., Grzesiak A., Nieradko-Iwanicka B., Borzęcki A.: Wpływ zanieczyszczenia powietrza na stan zdrowia i spodziewaną długość życia ludzi. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2010;91(2):178–180
2. Karwowska E.: Microbiological air contamination in farming environment. *Pol. J. Environ. Stud.* 2005;14(4): 445–449
3. Karwowska E.: Microbiological air contamination in some education settings. *Pol. J. Environ. Stud.* 2003;12(2):181–185
4. Jung J.H., Lee J.E., Kim S.S.: Thermal effects on bacterial bioaerosols in continuous air flow. *Sci. Total Environ.* 2009;407(16):4723–4730, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.008>
5. Hospodsky D., Qian J., Nazaroff W.W., Yamamoto N., Bibby K., Rismani-Yazdi H. i wsp.: Human occupancy as a source of indoor airborne bacteria. *PLoS One* 2012;7(4): e34867, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0034867>

6. Butarewicz A.: Mikrobiologiczna jakość powietrza w budynku Wydziału Budownictwa i Inżynierii Środowiska Politechniki Białostockiej. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 2005;56(2):199–206
7. Gołofit-Szymczak M., Ławniczek-Wałczyn A., Górny R.L.: Ilościowa i jakościowa kontrola szkodliwych czynników biologicznych w środowisku pracy. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2013;2(76):5–17
8. Zmysłowska I.: Mikrobiologia ogólna i środowiskowa. Teoria i ćwiczenia. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn 2009
9. Brady M.T.: Infectious disease in pediatric out-of-home child care. *Am. J. Infect. Control* 2005;33(5):276–285, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2004.11.007>
10. Gutarowska B.: Mikroorganizmy w powietrzu. W: Li-budzisz Z., Kowal K., Żakowska Z. [red.]. *Mikrobiologia techniczna*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007, ss. 224–239
11. Rywotycki R.: Patogenność gronkowców koagulazoujemnych dla zarodków indyczych. *Med. Weter.* 2002;58(5):356–360
12. Sahoo K.C., Tamhankar A.J., Johansson E., Lundborg C.S.: Antibiotic use, resistance development and environmental factors: A qualitative study among healthcare professionals in Orissa, India. *BMC Public Health* 2010;10:629, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-10-629>
13. Fair R.J., Tor Y.: Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspect. Med. Chem.* 2014;6:25–64, <http://dx.doi.org/10.4137/PMC.S14459>
14. PN-Z-04111-01. Ochrona czystości powietrza – Badania mikrobiologiczne – Postanowienia ogólne i zakres normy. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1989
15. PN-Z-04111-02. Ochrona czystości powietrza – Badania mikrobiologiczne – Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1989
16. PN-Z-04111-03. Ochrona czystości powietrza – Badania mikrobiologiczne – Oznaczanie liczby grzybów mikroskopowych w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1989
17. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [cytowany 14 kwietnia 2014]. Adres: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_4.0.pdf
18. Feller W.: An introduction to the probability theory and its application. John Wiley & Sons, Inc., New York 1950
19. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O.: Introduction to food- and airborne fungi. 6th Edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht 2000
20. Kalwasińska A., Burkowska A., Wilk I.: Microbial air contamination in indoor environment of a university library. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2012;19(1):25–29
21. 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. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012;78(23):8289–8297, <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02069-12>
22. Rozporządzenie Ministra Edukacji Narodowej z dnia 21 maja 2001 r. w sprawie ramowych statutów publicznego przedszkola oraz publicznych szkół. DzU nr 61, poz. 624 [cytowany 14 kwietnia 2014]. Adres: <http://isap.sejm.gov.pl/DetailsServlet?id=WDU20010610624>
23. Kruczałak K., Olańczuk-Neyman K.: Microorganisms in the air over wastewater treatment plants. *Polish J. Environ. Stud.* 2004;13(5):537–542
24. Gandara A., Mota L.C., Flores C., Perez H.R., Green C.F., Gibbs S.G.: Isolation of *Staphylococcus aureus* and antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* from residential indoor bioaerosols. *Environ. Health Perspect.* 2006;114(12):1859–1864
25. Zhou F., Wang Y.: Characteristics of antibiotic resistance of airborne *Staphylococcus* isolated from metro stations. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013;10(6):2412–2426, <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph10062412>
26. Kim K.Y., Kim Y.S., Kim D.: Distribution characteristics of airborne bacteria and fungi in the general hospitals of Korea. *Ind. Health* 2010;48(2):236–243, <http://dx.doi.org/10.2486/indhealth.48.236>
27. Filipiak M., Piotraszewska-Pająk A., Stryjakowska-Sekulska M., Stach A., Silny W.: Mikroflora powietrza wokół i wewnątrz budynków dydaktycznych wyższej uczelni w Poznaniu. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2004;21(3):121–127
28. Jo W.-K., Seo Y.-J.: Indoor and outdoor bioaerosol levels at recreation facilities, elementary schools, and homes. *Chemosphere* 2005;61(11):1570–1579, <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.103>