

Określenie narażenia osób biegających w wybranych punktach Krakowa na aerozol mikrobiologiczny

Evaluation of runners' exposure to microbial aerosol in selected sites in Cracow

Katarzyna Wolny-Koładka ^(a, b, c, d, e), Magdalena Szatan ^(b, c, d)

Katedra Mikrobiologii, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Kierownik Katedry: dr hab. inż. M. J. Chmiel, Rektor: prof. dr hab. inż. W. Sady

^(a) koncepcja pracy i zaplanowanie badań

^(b) pobór próbek i analizy mikrobiologiczne

^(c) analiza i opracowanie wyników

^(d) przygotowanie publikacji

^(e) korekta publikacji przed złożeniem do druku

STRESZCZENIE

Wstęp. Celem pracy była ocena jakości mikrobiologicznej powietrza w wybranych punktach zlokalizowanych na terenie Krakowa. Określono także wpływ warunków meteorologicznych: temperatury, wilgotności oraz zapylenia na liczebność drobnoustrojów.

Materiał i metody. Powietrze do badań pobierano wiosną, latem, jesienią i zimą 2014 r., metodą uderzeniową przy użyciu impaktora typu MAS-100 (Merck). Analizę wykonano w trzech powtórzeniach, wyniki porównano z wytycznymi zawartymi w Polskich Normach.

Wyniki. Stwierdzono zależność między porą roku a liczebnością badanych drobnoustrojów stanowiących bioaerozol. Ich liczebność różniła się również w zależności od punktu poboru. Lato i jesień okazały się być porami roku, w czasie których wszystkie badane grupy mikroorganizmów występowały w powietrzu w największym stężeniu. Natomiast zima okazała się być najmniej sprzyjającą porą roku dla drobnoustrojów. W badanych próbkach stwierdzono występowanie typowej mikroflory powietrza. Zidentyfikowano grzyby należące do rodzajów: *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichothecium* i *Fusarium*. Wśród bakterii zidentyfikowano *Micrococcus* spp., *Diplococcus* spp., *Tetracoccus* spp., *Streptobacillus* spp., *Staphylococcus* spp. oraz promieniowce.

Wnioski. Stwierdzono, duże zróżnicowanie w występowaniu drobnoustrojów w zależności od pory roku i punktu poboru powietrza. Przeprowadzone badania wykazały, że powietrze w badanych lokalizacjach nie stanowiło zagrożenia mikrobiologicznego dla osób biegających.

Słowa kluczowe: bioaerozol, powietrze, bieganie, Kraków, mikroorganizmy

ABSTRACT

Introduction. The purpose of this study was to evaluate the microbiological quality of the air at the selected places which are located in Cracow and also to determine the influence of weather conditions, such as temperature, humidity and pollution on the number of microorganisms.

Material and methods. Samples of air were taken during spring, summer, autumn and winter. The analyses were carried out by using a single-stage MAS-100 impactor (Merck) and repeated three times. Results were compared to guidelines which are included in Polish Standards.

Results. The results of the study suggest that there is correlation between seasons and number of microorganisms. Moreover the number of microbes depends on location. The highest concentration of all groups of microorganisms occurred in summer and autumn. Conversely the lowest number of microbes occurred in winter. The results indicated that the composition of bioaerozol is typical and consists of fungi: *Cladosporium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Trichothecium* spp., *Fusarium* spp., bacteria: *Micrococcus* spp., *Diplococcus* spp., *Tetracoccus* spp., *Streptobacillus* spp., *Staphylococcus* spp. and actinomycetes.

Conclusions. The results revealed that there is a big difference in the occurrence of microorganisms and it depends on season and location as well. However our study indicates that air does not pose a microbiological threat to runners.

Key words: bioaerosol, air, running, Cracow, microorganisms

WSTĘP

Zainteresowanie bieganiem wśród Polaków w ostatnich latach znacząco wzrosło. Według badań, tylko jogging w tak szybkim tempie zyskuje tak wielu nowych miłośników. Na koniec 2013 roku biegało 36% Polaków i ta liczba ciągle rośnie [1]. Jest to sposób nie tylko na prowadzenie zdrowego trybu życia, ale również doskonała forma spędzania wolnego czasu i rozrywka, która może przerodzić się w pasję. Kraków jest miastem posiadającym wiele bardzo atrakcyjnych miejsc dla biegaczy. Duża liczba parków i innych terenów zielonych sprzyja rozwijaniu mody na bieganie. Coraz większą popularnością cieszą się biegi i zawody organizowane dla większych grup biegaczy. Wydarzenia te sprawiają, że obecnie widok osób biegających w różnych częściach miasta, nawet zimą, nikogo już nie dziwi. Bardzo ważną rzeczą, którą trzeba wziąć pod uwagę decydując się na uprawianie sportu w Krakowie jest jakość powietrza. Badania przeprowadzone przez Europejską Agencję Środowiska (EEA) pokazują, że Kraków znalazł się wśród miast o najgorszej jakości powietrza. Główny problem stanowi utrzymująca się na wysokim poziomie koncentracja pyłu zawieszonego PM10 i PM2,5. Przekracza ona w ciągu roku dopuszczalne normy nie tylko w okresie grzewczym, gdy dym, sadza, cząstki popiołu oraz różnych związków nieorganicznych (np. azbest) dostają się do atmosfery, ale również w czasie spalania paliw kopalnych przez różne sektory gospodarki. Należy zwrócić uwagę przede wszystkim na transport – ruch samochodowy, który generuje duże ilości spalin będących źródłem pyłu zawieszonego, a także na przemysł, gdzie w trakcie różnych procesów produkcyjnych do atmosfery są emitowane zanieczyszczenia pyłowe [2]. Niewątpliwie, przyczyną kumulowania się zanieczyszczeń w mieście jest jego niekorzystne położenie w kotlinie otoczonej wzniesieniami oraz duża liczba dni bezwietrznych. W ostatnim czasie obserwuje się niekorzystne zmiany związane z przepływem powietrza w Krakowie spowodowane blokowaniem kanałów przewietrzania przez ciągle powstające wysokie budynki. Nieprzemysłane inwestycje forsowane przez deweloperów utrudniają przewietrzanie miasta. Problemem są nie tylko bariery architektoniczne, ale także budowanie dróg, które pokrywają się z trasami odprowadzania powietrza.

Na problem czystości powietrza można spojrzeć także od strony mikrobiologicznej. Powietrze jest środowiskiem okresowego bytowania mikroorganizmów, a także ułatwia ich przemieszczanie się. Drobnoustroje dostają się do atmosfery z gleby, wody,

powierzchni roślin, zwierząt czy w procesie napowietrzania ścieków. Człowiek również jest przyczyną pojawiania się mikroorganizmów w powietrzu. Są one aktywnie wyrzucane podczas kichania, kaszlu lub mówienia i razem z kropelkami śliny dostają się do otoczenia [3]. Źródłem bioaerozolu są również składowiska i wysypiska odpadów komunalnych, oczyszczalnie ścieków, kompostownie czy punkty zlewcze ścieków [4]. Drobnoustroje, które pochodzą ze składowisk odpadów utrzymują się w powietrzu bardzo długi czas, nie tracąc swoich właściwości patogennych. Sektory składowisk odpadów poddawane eksploatacji charakteryzują się najwyższym stężeniem mikroorganizmów [5].

Wszystkie mikroorganizmy obecne w powietrzu występują w postaci bioaerozolu. Zgodnie z definicją, terminem „bioaerozol” określa się wszystkie zebrane cząstki biologiczne rozproszone w powietrzu lub innej fazie gazowej [6]. Jest to układ zawierający fazę rozpraszającą (powietrze) i fazę rozproszoną w postaci drobnych cząsteczek wody, substancji organicznych pochodzących od człowieka i zwierząt oraz cząstek stałych – nasion, pyłków roślin, kurzu, komórek wegetatywnych i przetrwalników bakterii, fragmentów strzępek grzybów i zarodników, komórek drożdży i wirusów. W powietrzu znajdują się również endotoksyny oraz produkty metabolizmu grzybów – mikotoksyny, które mogą być związane z zarodnikami lub z innymi stałymi elementami, np. ziarnami zbóż lub warzywami [7]. Czas przeżycia w powietrzu bakterii, grzybów i wirusów, stanowiących aerozol mikrobiologiczny jest uzależniony od oporności na wysuszenie oraz działania promieni UV, a także od liczby innych mikroorganizmów obecnych w bioaerozolu oraz temperatury powietrza. Najdłuższą przeżywalność wykazują te formy, które są odporne na niekorzystne warunki panujące w powietrzu atmosferycznym. Duży wpływ na obniżenie długości przetrwania mikroorganizmów wywiera promieniowanie ultrafioletowe, które ma działanie mutagenne i niszczy większość drobnoustrojów znajdujących się w powietrzu. Wilgotność jest kluczowym, a jednocześnie najbardziej zmiennym parametrem mającym wpływ na przeżywalność drobnoustrojów stanowiących bioaerozol. W warunkach obniżonej wilgotności wiele mikroorganizmów ginie. Jednak niektóre drobnoustroje, dzięki zdolności do wytwarzania przetrwalników mogą przetrwać w stanie wysuszenia nawet kilka lat [7]. Czynnikiem, który działa limitująco na mikroorganizmy jest również temperatura, wraz z jej obniżaniem rozmnażanie drobnoustrojów ulega zahamowaniu. Od temperatury zależy szybkość reakcji chemicznych, czyli metabolizm oraz stan fizykoche-

miczny cząsteczek białkowych oraz kwasów nukleinowych. W związku z tym aktywność życiowa mikroorganizmów może przebiegać prawidłowo tylko w określonych granicach temperatur, które różnią się w zależności od gatunku drobnoustrojów [8]. Wśród mikroorganizmów izolowanych z powietrza najczęściej występują bakterie z rodzaju *Micrococcus*, *Achromobacter* i *Bacillus*. Niewątpliwie prawidłowe funkcjonowanie oraz dłuższą aktywność życiową zachowują te bakterie, które wytwarzają otoczki śluzowe lub barwniki karotenoidowe chroniące przed promieniowaniem UV (np. *Micrococcus* spp.) [7]. Mikroorganizmy, które są pozbawione tych barwników nie przeżywają, co jest spowodowane procesem fotooksydacji. Ponadto, wiele gatunków bakterii gram-dodatnich posiada zdolność tworzenia form przetrwalnych, np. laseczki tlenowe – *Bacillus* spp. lub beztlenowe *Clostridium* spp. Dzięki endosporom bakterie są w stanie przetrwać w warunkach panujących w powietrzu praktycznie przez nieograniczony czas [3]. Do bakterii tworzących bioaerozol należy zaliczyć także rodzaj *Staphylococcus*, który zasługuje na szczególną uwagę. Gronkowce, które powszechnie kolonizują organizm człowieka i stanowią jego florę fizjologiczną, mogą także stać się przyczyną infekcji, a w konsekwencji doprowadzić do zakażenia ogólnoustrojowego. Aby przeżyć w zmieniających się warunkach środowiska wytwarzają wielocukrowe otoczki, a także białka, które mogą być związane z komórką lub wydzielane do środowiska [9]. Kolejną grupą mikroorganizmów stanowiących aerozol mikrobiologiczny są promieniowce, zaliczane do gram-dodatnich bakterii. Stanowią one około 5% bakterii, które są izolowane z powietrza. Spory promieniowców zwykle nie są ciepłooporne, ale wykazują oporność na wysychanie [10]. Promieniowce są silnymi alergenami, które wywołują reakcje uczuleniowe. Największe znaczenie mają termofilne promieniowce, np. *Thermoactinomyces vulgaris*, *Thermoactinomyces thalophilus* czy też *Saccharomonospora viridis*. Mogą powodować wiele chorób, tj. alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych oraz wiele innych dolegliwości ze strony układu oddechowego [11]. Niezwykle istotnym składnikiem bioaerozolu są grzyby strzępkowe, określane jako grzyby pleśniowe, które stanowią około 70% wszystkich mikroorganizmów występujących w powietrzu. Reprezentowane są głównie przez grzyby z rodzaju: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Trichoderma* i *Geotrichum* [7]. Zarodniki grzybów są największą grupą cząstek biologicznych występujących w powietrzu. Są bardzo odporne na niekorzystne warunki panujące w powietrzu atmosferycznym i mogą być przenoszone na duże odległości.

Grzyby pleśniowe z rodzaju *Alternaria*, *Cladosporium* oraz *Penicillium* i *Aspergillus* często są przyczyną alergii, która jest spowodowana wdychaniem zarodników grzybów z powietrza [12]. Organizmy znajdujące się w powietrzu są także producentami wielu substancji, często o toksycznym charakterze (endotoksyny, enterotoksyny, enzymy i mikotoksyny) [13]. Błona śluzowa układu oddechowego jest miejscem, przez które mogą wnikać do organizmu człowieka drobnoustroje chorobotwórcze. Podatność na infekcje może być zwiększona obecnością zanieczyszczeń pyłowych i gazowych [3]. Choroby układu oddechowego, których przyczyną jest wdychanie pyłów organicznych określa się wspólną nazwą alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych. Głównymi czynnikami wpływającym na rozwój choroby są antygeny drobnoustrojów zlokalizowane na cząsteczkach pyłu, które dostając się do układu oddechowego powodują reakcję zapalną i uczulenie [14]. Badania przeprowadzone przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) sugerują, że ekspozycja na zanieczyszczenia powietrza, w szczególności na pył zawieszony (PM_{2,5} oraz PM₁₀) jest czynnikiem powodującym raka płuc. Został on zaliczony do I grupy czynników rakotwórczych [15]. Istnieje kilka potencjalnych mechanizmów, poprzez które pył zawieszony może oddziaływać na płuca, tj. cytotoksyczność spowodowana stresem oksydacyjnym, generowanie wolnych rodników tlenowych czy stymulowanie czynników zapalnych. Wszystkie te procesy mogą prowadzić do raka płuc [16].

Na emisję pyłów ma wpływ przede wszystkim spalanie węgla w starych i źle wyregulowanych kotłach oraz piecach domowych, a także nielegalne spalanie odpadów, które niestety jest praktykowane przez dużą część mieszkańców Krakowa. Wśród przyczyn zwiększających emisję pyłów można wymienić również przemysł energetyczny, chemiczny, metalurgiczny i wydobywczy, a także komunikację miejską (spalanie paliw w silnikach) [17]. Zanieczyszczenia pyłowe mają przede wszystkim negatywny wpływ na ludzkie zdrowie. Szczególnie narażone na niebezpieczeństwo są osoby cierpiące na choroby dróg oddechowych, układu krwionośnego, dzieci oraz osoby starsze [18].

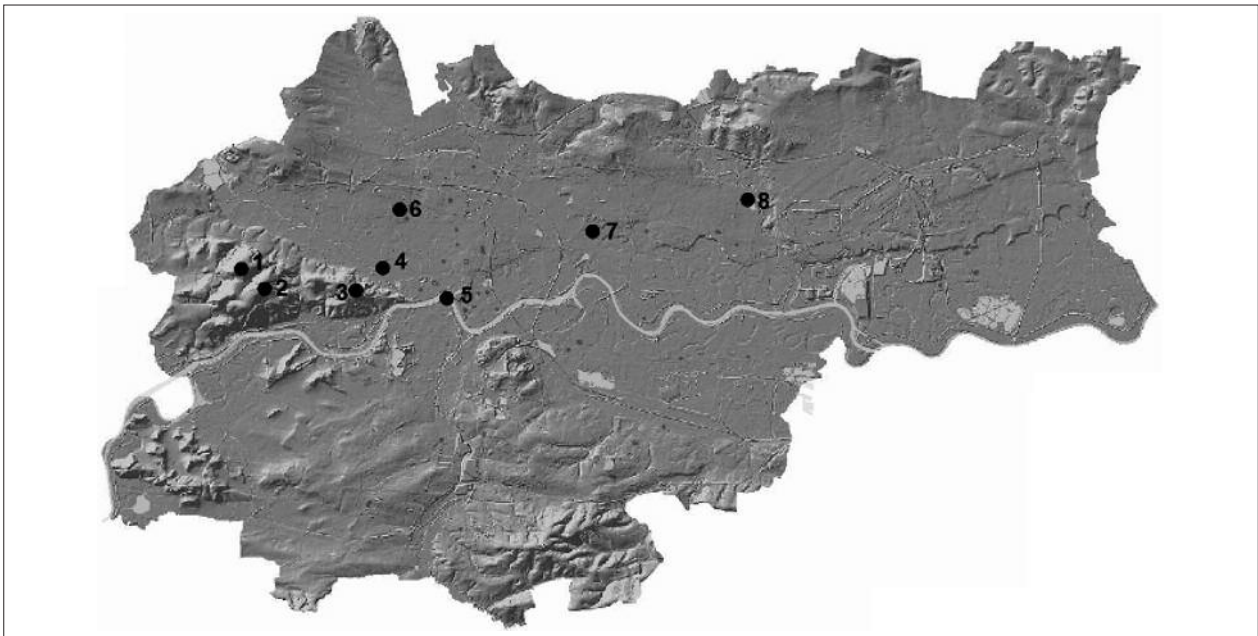
Celem przedstawionej pracy było określenie liczebności oraz bioróżnorodności mikroorganizmów wchodzących w skład bioaerozolu w wybranych miejscach Krakowa, które są popularne wśród biegaczy. Ponadto, celem analiz wykonywanych cztery razy w roku było określenie wpływu zmienności sezonowej, w tym temperatury, wilgotności oraz kon-

centracji pyłu zawieszonego na liczebność wybranych grup drobnoustrojów. Na podstawie wykonanych analiz określono, czy aerozol mikrobiologiczny może stanowić zagrożenie dla zdrowia osób biegających.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło powietrze pobrane w 4 turach (wiosennej, letniej, jesiennej i zimowej) w roku 2014 z 8 miejsc zlokalizowanych na terenie Krakowa. W każdym punkcie przeprowadzono analizę powietrza metodą uderzeniową przy użyciu impektora typu MAS-100 (Merck). Próbkę powietrza o objętości 100 litrów pobierano z wysokości 1,5 m

nad podłożem przez 1 minutę (w strefie respiracyjnej człowieka). Badanie wykonano w trzech powtórzeniach, wszystkie analizy wykonano zgodnie z zaleceniami Polskiej Normy [19]. Dokonano również pomiaru temperatury powietrza (termometr elektroniczny, Biowin) oraz dzięki danym udostępnionym przez Inspektorat Ochrony Środowiska w Krakowie (PIOŚ) określono następujące parametry: prędkość wiatru, ciśnienie atmosferyczne, wilgotność, zawartość pyłu zawieszonego (PM10 i PM2,5) [20]. Po poborze powietrza w każdym z 8 wybranych punktów (ryc. 1, tab. I) szalki przetransportowano do laboratorium, gdzie po inkubacji (bakterie, w tym gronkowce 37°C, 24–48 h, grzyby oraz promieniowce 28°C, 7 dni) dokonano oceny stopnia zanieczyszczenia badanego powietrza.



Ryc. 1. Lokalizacja punktów poboru powietrza. Źródło: <http://krakow.pl/plan>

Fig. 1. Air sampling sites. Source: <http://krakow.pl/plan>

Tabela I. Charakterystyka punktów badawczych

Table I. Description of the sampling sites

Lp.	Punkt poboru	Współrzędne geograficzne
1.	Kopiec Piłsudskiego	50°03'36"N 19°50'50"E
2.	Las Wolski	50°03'21,73"N 19°50'51,27"E
3.	Kopiec Kościuszki	50°03'17,72"N 19°53'36,09"E
4.	Krakowskie Błonia	50°03'34,20"N 19°54'36,50"E
5.	Bulwary Wiślane	50°03'07,48"N 19°56'00,38"E
6.	Młynówka Królewska	50°04'34,0"N 19°54'41,2"E
7.	Park Lotników Polskich	50°03'36"N 19°50'50"E
8.	Park koło Zalewu Nowa Huta	50°04'44"N 20°03'08"E

Uzyskane wyniki zostały porównane z wartościami zawartymi w Polskich Normach [21, 22] dotyczącymi obecności wybranych mikroorganizmów w powietrzu. Identyfikacji mikroorganizmów dokonano przy pomocy kluczy diagnostycznych [23–26] w oparciu o obserwacje mikro- i makroskopowe kolonii, które wyrosły na szalkach. Przeprowadzono również analizę statystyczną, mającą na celu obliczenie średniej liczebności mikroorganizmów w badanym powietrzu. Wykonano także analizę wariancji (ANOVA) w celu sprawdzenia istotności czasowego i przestrzennego zróżnicowania stężeń bioaerozolu. Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu programu Statistica v. 10 (StatSoft).

WYNIKI

Wyniki badań dotyczące liczebności aerozolu mikrobiologicznego w wybranych miejscach zlokalizowanych na terenie Krakowa, popularnych wśród biegaczy, które zostały wykonane w okresie od marca do grudnia 2014 roku przedstawiono w tabelach II–V i na rycinach 2–6.

Tabela II. Liczebność drobnoustrojów [jtk·m⁻³] stanowiących aerozol mikrobiologiczny w poszczególnych punktach poboru – wiosna, 28.03.2014 r.

Table II. Number of microorganisms [cfu·m⁻³] contained in bioaerosol in every sampling localization – spring, 28.03.2014

Miejsce poboru \ Drobnoustroje	Bakterie	Grzyby	Gronkowce	Promieniowce
1.	50	260	0	30*
2.	40	210	0	60*
3.	30	250	0	40*
4.	40	190	30	30*
5.	40	80	70	40*
6.	30	290	10	70*
7.	80	190	20	50*
8.	10	150	50	50*

* przekroczone wartości graniczne określone w Polskich Normach [15, 16]

* exceeded limit values according to Polish Standards [15,16]

Tabela III. Liczebność drobnoustrojów [jtk·m⁻³] stanowiących aerozol mikrobiologiczny w poszczególnych punktach poboru – lato, 26.06.2014 r.

Table III. Number of microorganisms [cfu·m⁻³] contained in bioaerosol in every sampling localization – summer, 26.06.2014

Miejsce poboru \ Drobnoustroje	Bakterie	Grzyby	Gronkowce	Promieniowce
1.	30	740	20	30*
2.	40	660	30	20*
3.	90	800	10	70*
4.	60	760	10	50*
5.	130	1000	20	40*
6.	120	640	50	30*
7.	50	640	10	50*
8.	80	1270	10	30*

* przekroczone wartości graniczne określone w Polskich Normach [15, 16]

* exceeded limit values according to Polish Standards [15,16]

Tabela IV. Liczebność drobnoustrojów [jtk·m⁻³] stanowiących aerozol mikrobiologiczny w poszczególnych punktach poboru – jesień, 16.10.2014 r.

Table IV. Number of microorganisms [cfu·m⁻³] contained in bioaerosol in every sampling localization – autumn, 16.10.2014

Miejsce poboru \ Drobnoustroje	Bakterie	Grzyby	Gronkowce	Promieniowce
1.	1550*	460	0	0
2.	70	650	20	0
3.	10	570	10	0
4.	110	650	30	20*
5.	20	1170	50	10*
6.	50	970	20	50*
7.	70	800	20	10*
8.	60	750	50	10*

* przekroczone wartości graniczne określone w Polskich Normach [15, 16]

* exceeded limit values according to Polish Standards [15,16]

Tabela V. Liczebność drobnoustrojów [jtk·m⁻³] stanowiących aerozol mikrobiologiczny w poszczególnych punktach poboru – zima, 10.12.2014 r.

Table V. Number of microorganisms [cfu·m⁻³] contained in bioaerosol in every sampling localization – winter, 10.12.2014

Miejsce poboru \ Drobnoustroje	Bakterie	Grzyby	Gronkowce	Promieniowce
1.	0	180	0	10*
2.	0	90	0	20*
3.	40	40	0	10*
4.	0	50	10	10*
5.	20	50	0	10*
6.	30	130	20	30*
7.	0	150	10	0
8.	30	120	0	10*

* przekroczone wartości graniczne określone w Polskich Normach [15, 16]

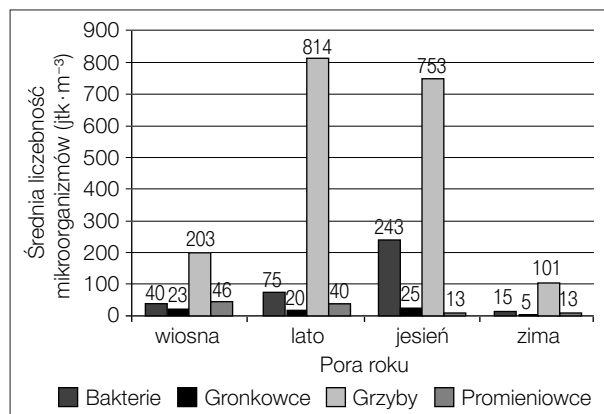
* exceeded limit values according to Polish Standards [15,16]

Z uzyskanych danych wynika, że tylko w okresie jesieni w punkcie nr 1 (Kopiec im. Józefa Piłsudskiego) liczba bakterii przekroczyła wartości określone w Polskiej Normie [21] (tab. IV). Na podstawie odnotowanej liczebności bakterii można stwierdzić, że powietrze w tym punkcie jest średnio zanieczyszczone. Natomiast w pozostałych punktach poboru liczba bakterii nie przekroczyła wartości określonych w Polskiej Normie. Na uwagę zasługują dane dotyczące li-

czelności promieniowców. Wiosną oraz latem w każdym punkcie poboru odnotowano wartości wyższe niż te, które są dopuszczone w Polskiej Normie [21] (tab. II, III). Na podstawie wyników poboru jesienno można stwierdzić, że w punkcie 4 (Krakowskie Błonia), 5 (Bulwary Wiślane), 6 (Młynówka Królewska), 7 (Park Lotników Polskich) i 8 (Park koło Zalewu w Nowej Hucie) stężenie promieniowców przekracza dopuszczalną normę (tab. IV). Natomiast w okresie zimy wartości liczebności tych drobnoustrojów zostały przekroczone w punkcie 1 (Kopiec im. Józefa Piłsudskiego), 2 (Las Wolski), 3 (Kopiec Kościuszki), 4 (Młynówka Królewska), 5 (Bulwary Wiślane), 6 (Młynówka Królewska) i 8 (Park koło Zalewu w Nowej Hucie) (tab. V). Na podstawie danych dotyczących stężenia promieniowców powietrze zaklasyfikowano jako średnio zanieczyszczone (wiosna, lato – punkty: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8; jesień – punkty: 4, 5, 6, 7, 8; zima – punkty: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8). W przypadku grzybów nie odnotowano przekroczenia dopuszczalnych wartości określonych w Polskiej Normie [22]. W wyniku analizy liczebności wszystkich drobnoustrojów w okresie poboru jesienno w punkcie 2 i 3 (tab. IV) oraz zimą w punkcie 7 (tab. V) powietrze zaklasyfikowano, jako niezanieczyszczone.

Z analizy danych sezonowej zmiany średniej liczebności mikroorganizmów można wnioskować o zależności pomiędzy porą roku a ilością mikroorganizmów obecnych w powietrzu. W okresie letnim nastąpił wzrost liczebności bakterii oraz grzybów, które o tej porze roku osiągnęły najwyższe stężenie. Średnie stężenie gronkowców w okresie wiosennym, letnim i jesiennym kształtowało się na niskim poziomie i nie stwarzało powodów do niepokoju. Pobór jesienny okazał się być okresem, w którym bakterie osiągnęły najwyższe stężenie w porównaniu do innych pór roku. Liczebność grzybów oraz promieniowców zmniejszyła się w porównaniu do war-

tości z poboru letniego. Na podstawie zmian liczebności mikroorganizmów w trakcie sezonu badawczego można stwierdzić, że zima jest najmniej sprzyjającą porą roku dla drobnoustrojów bytujących w powietrzu (ryc. 2).



Ryc. 2. Sezonowe zmiany stężenia bioaerozolu – wartości średnie ze wszystkich badanych lokalizacji

Fig. 2. Seasonal concentration changes of bioaerosol – average values from all locations

W tabeli VI zamieszczono parametry charakteryzujące stan powietrza atmosferycznego, tj. prędkość wiatru, ciśnienie atmosferyczne, wilgotność, stężenie pyłów zawieszonych oraz temperaturę powietrza odnotowane podczas pobierania próbek do badań. Stwierdzono stosunkowo dużą wilgotność podczas poboru powietrza (77–85%). Wartości średniej temperatury w zależności od pory roku i punktu poboru mieszczą się w zakresie 2,4–24,7°C. Stężenie pyłu zawieszonego PM_{2,5} i PM₁₀ wiosną, jesienią i zimą przekroczyło wartości określone w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 24 sierpnia 2012 r. w sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu [27] (tab. VI).

Tabela VI. Warunki meteorologiczne panujące podczas przeprowadzania badań

Table VI. Meteorological conditions prevailing during air sampling

Parametr \ Czas poboru	Wiosna 28.03.2014 r.	Lato 26.06.2014 r.	Jesień 16.10.2014 r.	Zima 10.12.2014 r.
Prędkość wiatru [km/h]	7	13	18	11
Ciśnienie atmosferyczne [hPa]	996	989	985	999
Wilgotność [%]	77	78	79	85
Pył zawieszony PM _{2,5} [$\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]	50*	14	44*	101*
Pył zawieszony PM ₁₀ [$\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]	72*	23	55*	120*
Temperatura [°C]	13,1 zakres (12,0–14,0)	24,7 zakres (22–26,5)	13,5 zakres (13,0–14,0)	2,4 zakres (0,8–4,2)

* wartość przekracza normę określoną w Rozporządzeniu Ministra Środowiska [21]

* the value exceeds the standard defined in the edict of Minister of Health [21]

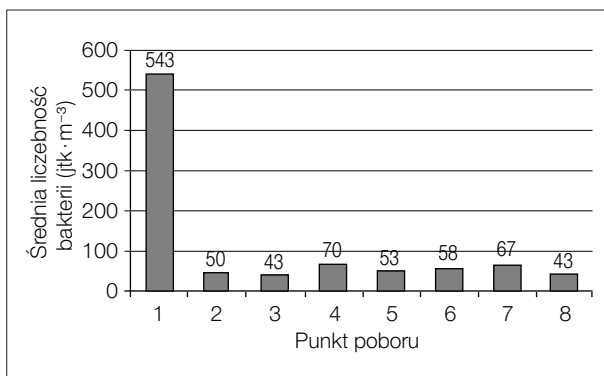
Na podstawie analizy statystycznej uzyskanych wyników stwierdzono, że różnice w liczebności badanych drobnoustrojów na przestrzeni roku są istotne statycznie. Natomiast, różnice w stężeniu bioaerozolu pomiędzy badanymi punktami poboru powietrza są istotne statystycznie w przypadku bakterii i gronkowców (tab. VII).

Tabela VII. Wyniki analizy wariancji dotyczącej czasowego i przestrzennego zróżnicowania stężeń bioaerozolu
Table VII. Results of the analysis of variance concerning the spatial and temporal variations in the bioaerosol concentration

Mikroorganizm	Wartość współczynnika F (punkt poboru)	Wartość współczynnika F (pora roku)
Bakterie	2,707390*	3,12715*
Gronkowce	3,870990*	3,97542*
Grzyby	0,427678	75,22630*
Promieniowce	0,550975	13,73989*

* wartości są istotne przy $p < 0,05$
* the values are significant at $p < 0,05$

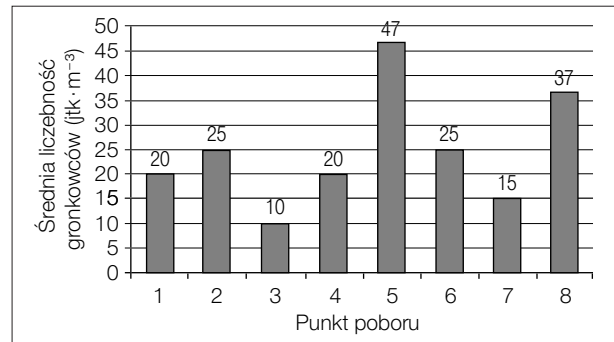
Średnia roczna liczebność drobnoustrojów kształtowała się różnie w zależności od punktu poboru. Największe średnie stężenie bakterii odnotowano w punkcie nr 1 (Kopiec im. Józefa Piłsudskiego), a najmniejsze w punkcie nr 3 (Kopiec Kościuszki) (ryc. 3).



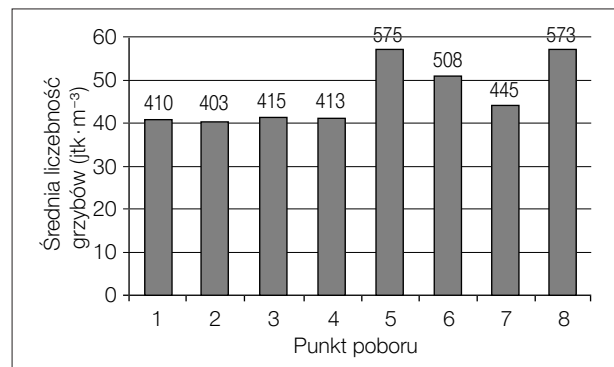
Ryc. 3. Średnia roczna liczebność bakterii [jtk·m⁻³] w każdym z badanych punktów poboru
Fig. 3. Mean annual number of bacteria [cfu·m⁻³] for each sampling site

W przypadku gronkowców największa ich liczebność została stwierdzona w punkcie nr 5 (Bulwary Wiślane), natomiast najmniejsza w punkcie nr 3 (Kopiec Kościuszki) (ryc. 4). Średnie stężenie grzybów w każdym miejscu poboru powietrza kształtowało się na dosyć wysokim poziomie, jednak naj-

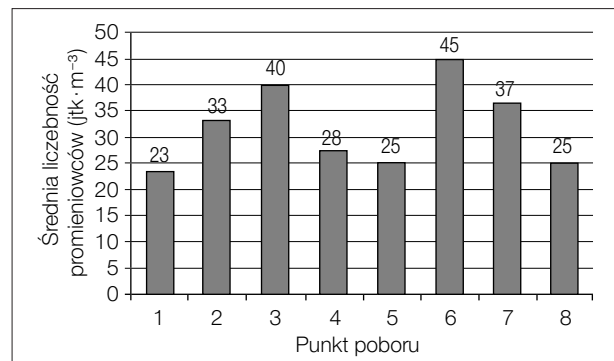
wyższe zanotowano w punkcie nr 5 (Bulwary Wiślane), a najniższe w punkcie nr 2 (Las Wolski) (ryc. 5). Średnie stężenie promieniowców było najniższe w punkcie nr 1 (Kopiec im. Józefa Piłsudskiego), a najwyższe w punkcie nr 6 (Młynówka Królewska) (ryc. 6).



Ryc. 4. Średnia roczna liczebność gronkowców [jtk·m⁻³] w każdym z badanych punktów poboru
Fig. 4. Mean annual number of staphylococci [cfu·m⁻³] for each sampling site



Ryc. 5. Średnia roczna liczebność grzybów [jtk·m⁻³] w każdym z badanych punktów poboru
Fig. 5. Mean annual number of fungi [cfu·m⁻³] for each sampling site



Ryc. 6. Średnia roczna liczebność promieniowców [jtk·m⁻³] w każdym z badanych punktów poboru
Fig. 6. Mean annual number of actinomycetes [cfu·m⁻³] for each sampling site

W pobranym na przestrzeni roku powietrzu atmosferycznym stwierdzono występowanie promieniowców, a także grzybów należących do rodzajów: *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichothecium* i *Fusarium*. Stwierdzono również występowanie bakterii z rodzaju: *Micrococcus*, *Diplococcus*, *Tetracoccus*, *Streptobacillus* i *Staphylococcus*.

DYSKUSJA

Uzyskane wyniki pokazują, że niezależnie od pory roku i miejsca poboru najliczniejszą grupą mikroorganizmów występujących w powietrzu były grzyby oraz bakterie. Natomiast średnie stężenia promieniowców oraz gronkowców stanowiły niewielki odsetek oznaczanych drobnoustrojów. Podobne wyniki uzyskali Chmiel i in. [28], w ich badaniach, niezależnie od pory roku czy miejsca poboru największą liczebnością charakteryzowały się bakterie oraz grzyby. Natomiast gronkowce i promieniowce były obecne w powietrzu w niewielkim stężeniu. Grudzień okazał się być miesiącem, w którym nastąpił gwałtowny spadek średniej liczebności drobnoustrojów. Może to być związane z faktem, że zimą mikroorganizmy nie przedostają się do powietrza z gleby, tylko pozostają pod jej zamrożoną pokrywą, często przysypaną śniegiem [29]. Najwyższe średnie stężenia grzybów przypadają na okres poboru letniego i jesiennego. Podobne wyniki uzyskali Sabariego i in. [30], którzy również odnotowali wzrost stężenia zarodników grzybów w okresie jesieni. Natomiast Frączek i Grzyb [31] zaobserwowali wyraźny wzrost stężenia grzybów na większości stanowisk poboru w okresie zimy. Dane dotyczące stężenia bakterii, których najwyższe stężenie odnotowano w badaniach własnych jesienią, różnią się od wyników uzyskanych przez Nowak i in. [32]. Zanotowali oni wyraźny wzrost liczebności bakterii w okresie zimy. Liczebność promieniowców występujących w powietrzu jest znacznie mniejsza niż innych badanych grup mikroorganizmów. Najwyższa liczebność tych drobnoustrojów występowała wiosną, natomiast jesienią i zimą była najniższa. Z kolei Grzyb i Frączek [33] stwierdzili, że najwyższe stężenie promieniowców w powietrzu na terenie Krakowa występuje latem, a najniższe zimą. Należy jednak zauważyć, że Grzyb i Frączek [33] użyli impaktora kaskadowego typu Andersen, a badania prowadzili w 16 stanowiskach pomiarowych o zróżnicowanym ukształtowaniu terenu, charakterze zabudowy i obecności zieleni (Rynek Główny, skrzyżowania ulic, Błonia). Badania własne prowadzone były na terenach zielonych, odznaczających się dużym

przepływem powietrza, stąd różnice w liczebności promieniowców pomiędzy analizowanymi pracami wydają się być uzasadnione.

Niektóre z analizowanych parametrów charakteryzujących stan powietrza atmosferycznego są bardzo istotne i mają duży wpływ na liczebność mikroorganizmów stanowiących bioaerozol. Analiza wpływu temperatury na liczebność drobnoustrojów wykazała, że wraz z jej wzrostem zwiększa się liczebność badanych grup mikroorganizmów. Taką samą zależność stwierdzono w badaniach Chmiel i in. [28], którzy wykazali, że stężenia prawie wszystkich drobnoustrojów stanowiących bioaerozol są zależne od temperatury powietrza. Wilgotność utrzymywała się na podobnym poziomie w przeciągu całego roku, dlatego można wnioskować, że nie miała ona dużego wpływu na liczebność drobnoustrojów w badanym powietrzu. Wyniki uzyskane przez Chmiel i in. [28] wskazują, że wraz ze wzrostem wilgotności liczba mikroorganizmów się zmienia, jednak zwracają także uwagę na odstępstwa od tej reguły, które mogą być spowodowane wahaniami temperatury, porywistym wiatrem i wystąpieniem opadów atmosferycznych bezpośrednio przed pomiarem.

Stężenie pyłu zawieszonego w powietrzu przekroczyło dopuszczalne normy w okresie wiosny, jesieni i zimy. Zauważono, że w październiku liczebność drobnoustrojów była wysoka podobnie jak stężenie pyłów. Jednak w marcu i grudniu nie zauważono takiej zależności. Frączek i Grzyb [31] na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzili istnienie korelacji pomiędzy liczebnością drobnoustrojów a wszystkimi frakcjami pyłów.

Wyizolowane drobnoustroje stanowią typową mikroflorę powietrza. Jednakże obecność grzybów toksynotwórczych (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp.) w powietrzu może stanowić zagrożenie dla zdrowia osób biegających [34]. Ponadto, należy również zwrócić uwagę na obecność w badanym powietrzu gronkowców. Pomimo niewielkiej liczebności, mogą wśród nich znajdować się szczepy chorobotwórcze, tj. *Staphylococcus aureus*, często odporne na antybiotyki [9].

WNIOSKI

1. Stwierdzono istnienie zależności pomiędzy liczebnością badanych grup mikroorganizmów stanowiących bioaerozol a wahaniami temperatury warunkowanej porą roku.
2. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy stężeniem pyłu zawieszonego i wilgotnością a ilością mikroorganizmów stanowiących bioaerozol.

3. Średnie stężenia wszystkich badanych mikroorganizmów były największe w czerwcu i październiku.
4. Liczebność drobnoustrojów różniła się w zależności od punktu poboru.
5. Najbardziej zanieczyszczone pod względem mikrobiologicznym powietrze stwierdzono w punkcie 5 (Bulwary Wiślane).
6. W badanych próbkach stwierdzono występowanie typowej mikroflory powietrza.
7. Powietrze w Krakowie z mikrobiologicznego punktu widzenia nie stanowi zagrożenia dla osób biegających.

Źródło finansowania: praca została sfinansowana ze środków przeznaczonych na działalność statutową Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

PIŚMIENNICTWO

1. http://www.arc.com.pl/do_biegu_gotowi_start!-40999477-pl.html
2. Pietras B.: Czynniki meteorologiczne wpływające na koncentrację aerozoli w Krakowie oraz analiza cząstek aerozoli, Prace studenckiego koła naukowego geografów Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie Darmowe dane i open source w badaniach środowiska, Kraków 2013; 2: 85-94.
3. Kołwzan B., Adamiak W., Grabas K., Pawełczyk A.: Podstawy mikrobiologii w ochronie środowiska. Oficyna wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2005.
4. Barabasz W., Barabasz J., Albińska D., Smyk E.: Obiekty komunalne jako źródła bioaerozolu i mikroorganizmów szkodliwych dla zdrowia. Mat. XI Konferencji Naukowo-Technicznej pt. „Gospodarka Odpadami Komunalnymi”, 2005.
5. Michałkiewicz M., Piskorek J.: Składowiska odpadów jako źródło skażenia mikrobiologicznego. Rynek Instalacyjny 2008; 10.
6. Baron P.A., Willeke K.: Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications. John Wiley and Sons, Inc., New York 2001.
7. Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z.: Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy i środowiska ich występowania. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007.
8. Kunicki-Goldfinger W.: Życie bakterii. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1994.
9. Irving W., Boswell T., Ala'Aldeen D.: Mikrobiologia medyczna – krótkie wykłady. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008.
10. Schlegel H.: Mikrobiologia ogólna. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2003.
11. <http://archiwum.ciop.pl/14283.html>
12. Grinn-Gofroń A.: Rodzaje Aspergillus i Penicillium jako źródło potencjalnych alergenów grzybowych. Alergoprofil 2010; 6: 2-5.
13. Gołofit-Szymczak M., Skowroń J.: Zagrożenie mikrobiologiczne w pomieszczeniach biurowych. Bezpieczeństwo Pracy 2005.
14. Milanowski J.: Alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych i inne choroby wywołane pyłami organicznymi. Postępy Nauk Medycznych 2007; 11: 482-491.
15. Hamra G., Guha N., Cohen A., Laden F.: Outdoor Particulate Matter Exposure and Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Environ Health Perspect 2014; 122(9): 906-911.
16. Ge Li Y., Gao X.: Epidemiologic studies of particulate matter and lung cancer. Chin J Cancer 2014; 33.
17. <http://www.malopolska.pl/Obywatel/EKOprognizaMalopolski/Malopolska/Strony/Zanieczyszczenia-powietrza.aspx>
18. <http://dlaklimatu.pl/stan-powietrza-w-krakowie>
19. PN-Z-04008-08. 1989. Ochrona czystości powietrza. Pobieranie próbek. Pobieranie próbek powietrza atmosferycznego (imisja) do badań mikrobiologicznych metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
20. <http://www.krakow.pios.gov.pl>
21. PN-Z-04111/02. 1998. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
22. PN-Z-04111/03. 1998. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby grzybów mikroskopowych w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
23. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H.: Compendium of Soil Fungi. London 1980.
24. Gilman J.C.: Manual of Soil Fungi. USA 1957.
25. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A. et al.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Wyd. 9. Williams & Wilkins, Baltimore 1994.
26. Macura A.B.: Diagnostyka grzybów. Część II. Diagnostyka grzybów pleśniowych. Diagnosta Laboratoryjny 2008; 3(18): 4-5.
27. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 sierpnia 2012 r. w sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu (Dz. U. z 2012 r., poz. 1031).
28. Chmiel M., Tandyrak A., Barabasz W.: Przemiany środowiska naturalnego a rozwój zrównoważony. TBPŚ Geosfera 2008; 12: 151-161.
29. Zmysłowska I.: Mikrobiologia ogólna i środowiskowa. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. Olsztyn 2003.
30. Sabariego S., Díaz de la Guardia C., Alba F.: The effect of meteorological factors on the daily variation of airborne fungal spores in Granada (southern Spain). Int J Biometeorol 2000; 44: 1-5.
31. Frączek K., Grzyb J.: Badania nad rozprzestrzenianiem się aerozolu grzybowego na terenie Krakowa. Nauka Przyr Technol 2010; 4: 75.
32. Nowak A., Przybulewska K., Tarnowska A.: Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza na terenie Szczecina w różnych porach roku. Drobnoustroje w środowisku. Występowanie, aktywność i znaczenie. Akademia Rolnicza, Kraków 1997; 527-549.
33. Grzyb J., Frączek K.: Bioaerosol-forming Actinomycetes at the selected sites of Krakow. Ecol Chem Eng A 2013; 20: 443-436.
34. Chełkowski J.: Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze, mikrotoksykozy. IGR PAN, Poznań 2010.

Adres do korespondencji:

Katarzyna Wolny-Koładka
Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków
tel. 12 662 40 96, e-mail: k.wolny@ur.krakow.pl