MICHAŁ MICHAŁKIEWICZ

*Politechnika Poznańska
Instytut Inżynierii Środowiska
Berdychowo 4, 61-138 Poznań
E-mail: Michal.Michalkiewicz@put.poznan.pl*

METODY BADAŃ MIKROBIOLOGICZNEGO ZANIECZYSZCZENIA POWIETRZA NA TERENACH OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW – PRZEGLĄD LITERATUROWY

WSTĘP

Bioaerozole obecne w atmosferze występują w postaci wirusów, bakterii, zarodników grzybów, pyłków, metabolitów, toksyn, alergenów i fragmentów roślin i zwierząt. Wielkość cząstek bioaerozoli waha się od 0,005 do 100 μm . Ilość i jakość bioaerozoli zależy m.in. od źródła emisji, lokalizacji w terenie, warunków klimatycznych (temperatura, wilgotność, opady atmosferyczne, wiatr), promieniowania słonecznego i pory roku. Ze względu na dość zróżnicowany skład bioerozolu występującego w otaczającym nas środowisku oraz jego negatywne oddziaływanie na człowieka, zaleca się prowadzenie badań zarówno powietrza zewnętrznego, zwłaszcza w sąsiedztwie potencjalnych emitatorów zanieczyszczeń, jak i wewnętrznego. Zagrożenie dla zdrowia ludzi wynika z obecności czynników chorobotwórczych, które przenoszone są drogą powietrzną do naszych dróg oddechowych i na powłoki ciała, powodując infekcje, podrażnienia, reakcje alergiczne i toksyczne (BRANDI i współaut. 2000, FRACCHIA i współaut. 2006, CYPROWSKI i współaut. 2008, KORZENIEWSKA 2011, GUO i współaut. 2014, ADAMUS-BIAŁEK i współaut. 2015, TOMASI i LUPI 2017).

Znanych jest kilka metod pobierania i badania próbek powietrza atmosferycznego pod kątem obecnych w nim zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Niestety, do tej pory nie doczekaliśmy się ani jednej referencyjnej, światowej, zalecanej i bardzo dokładnie opisaney metody takich badań. Ze względu na to, że każda ze stosowanych metod poboru próbek powietrza jest inna, niekiedy

bardzo trudno jest porównać wyniki pomiarów prowadzonych przez różnych autorów. Oczyszczalnie ścieków są jednym z antropogennych źródeł emisji bioaerozoli, dlatego w tym artykule zostanie zwrócona uwaga na metody badań stosowane na terenie tych obiektów komunalnych. Należy jednocześnie mieć świadomość, że ze względu na lokalizację oczyszczalni ścieków w pobliżu skupisk ludzkich, obiekty te nie tylko mogą stanowić potencjalne zagrożenie mikrobiologiczne dla mieszkających tam ludzi, ale powodują również dyskomfort w odbiorze środowiska, m.in. ze względu na emisję odorów.

Oprócz problemów dotyczących poboru powietrza do badań pojawia się także druga trudność, związana ze stosowaniem różnych pożywek (podłoży) do hodowli mikroorganizmów i warunków ich inkubacji. Zagadnienia te są bardzo ważne, gdyż skład bioaerozolu emitowanego m.in. wokół oczyszczalni ścieków jest zróżnicowany i zależy zarówno od charakteru i rodzaju ścieków, jak i metod ich oczyszczania. Najczęściej w badaniach mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza badane są różne grupy bakterii, grzyby mikroskopowe oraz ich metabolity, a także prowadzona jest szczegółowa identyfikacja niektórych drobnoustrojów na pożywkach wybiórczych lub różnicujących. Aby ocenić stopień skażenia powietrza należy pobrać z niego drobnoustroje i określić ich liczebność. Uzyskane wyniki przeliczane są na wspólną jednostkę 1 m^3 powietrza. W Polsce od 1989 r. obowiązywały Polskie Normy dotyczące metod poboru i badań mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza

Słowa kluczowe: badania bioaerozolu, bioaerozol, oczyszczalnie ścieków, pobór próbek powietrza, pożywki

(PN-89/Z-04111/01, PN-89/Z-04111/02, PN-89/Z-04111/03, PN-89/Z-04008/08), w których podawano graniczne wartości trzech stopni zanieczyszczenia powietrza wybranymi bakteriami i grzybami mikroskopowymi. W innych państwach najczęściej nie było takich przepisów, lub były całkowicie odmienne.

W celu stwierdzenia koncentracji oraz składu bakterii i grzybów mikroskopowych występujących w powietrzu, stosuje się najczęściej trzy podstawowe grupy metod badawczych: mikroskopowe, hodowlane i metaboliczne (KRZYSZTOFIK 1992, BARTLETT i współaut. 2002, DUTKIEWICZ i GÓRNY 2002, KROGULSKI 2006, PN-89/Z-04111/01, PN-89/Z-04111/02, PN-89/Z-04111/03, PN-89/Z-04008/08).

METODY BADAŃ BIOAEROLU

METODA MIKROSKOPOWA

Badania prowadzone tą metodą polegają na poborze próbki powietrza atmosferycznego na filtr membranowy, a następnie policzeniu pod mikroskopem liczby komórek drobnoustrojów (bakterii i grzybów) i przeliczeniu uzyskanych wyników na 1 m³ powietrza atmosferycznego. W metodzie tej można również stosować szkiełka, na których znajduje się lepka substancja (np. żelatyna z gliceryną), do której przyklejają się opadające drobnoustroje (AIZENBERG i współaut. 2000, MARTINEZ i współaut. 2004, PATENTALAKIS i współaut. 2008).

METODY HODOWLANE

Metody te polegają na poborze próbki powietrza atmosferycznego na przygotowane podłoża stałe (agarowe) lub płynne o odpowiednim składzie (w zależności od badanych mikroorganizmów), a następnie po okresie hodowli (inkubacji w optymalnych warunkach dla danej grupy mikroorganizmów) obliczeniu liczby zdolnych do rozwoju drobnoustrojów w określonej objętości powietrza. Wynik ostateczny podawany jest jako jtk/1 m³ lub CFU/1 m³ (jednostki tworzące kolonie; ang. colony forming units). Są to najczęściej stosowane metody badawcze, gdyż z uzyskanych w hodowli mikroorganizmów można przeprowadzić dalszą ich identyfikację (np. do rodzaju lub gatunku). Znanych jest kilka sposobów poboru próbek powietrza, które wykorzystane są w metodach hodowlanych.

METODY MOLEKULARNE I METABOLICZNE

Metody te najczęściej stosowane są do oznaczenia DNA lub produktów metabolizmu drobnoustrojów, np. metody łańcuchowej re-

akcji polimerazy (ang. polymerase chain reaction, PCR), a także stosuje się różne testy diagnostyczne, np. bioluminescencji ATP, test LAL (do oznaczania endotoksyny) lub testy biochemiczne API do dokładnego oznaczenia wybranych gatunków mikroorganizmów. Używając różnych testów API można zidentyfikować m.in. Gram-ujemne pałeczki z rodziny Enterobacteriaceae (API 20E, Rapid 20E), Gram-ujemne bakterie niefermentujące glukozy (API 20NE), gronkowce i inne bakterie z rodziny Micrococcaceae (API Staph), paciorkowce (API STREP), beztlenowce (API 20A), drożdżaki (API Candida, API 20C AUX), *Lactobacillus* (API 50CHL), czy *Bacillus* (API 50CHB). Metody te stosowane były m.in. w licznych badaniach powietrza na terenach oczyszczalni ścieków (KARL 1980; ALVAREZ i współaut. 1995; MACNEIL i współaut. 1995; MROWIEC i SUSCHKA 1995; STEWART i współaut. 1997; RANALLI i współaut. 2000; WILLIAMS i współaut. 2001; ORSINI i współaut. 2002; THORN i współaut. 2002; SCHAFER i współaut. 2003; ZENG i współaut. 2004; CYPROWSKI i współaut. 2006, 2018; MICHAŁKIEWICZ 2006; FILIPKOWSKA i współaut. 2008; KORZENIEWSKA i współaut. 2008; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; KIM i współaut. 2011, VANTARAKIS i współaut. 2016; KOWALSKI i współaut. 2017).

METODY POBIERANIA POWIETRZA DO BADAŃ BIOAEROLU

Badania bioaerolu oparte są na pobraniu (zbadaniu) określonej objętości powietrza i wykryciu w nim obecnych mikroorganizmów. Objętość pobieranego powietrza uzależniona jest od stopnia jego zanieczyszczenia, a także prawdopodobnej liczebności analizowanych drobnoustrojów. W wielu przypadkach dla wyhodowania i określenia ogólnej liczebności bakterii i grzybów mikroskopowych pobiera się mniejszą objętość powietrza, natomiast dla wykrycia np. wybranych drobnoustrojów wskaźnikowych, których liczebność w atmosferze może być mniejsza, pobieramy do badań większą objętość powietrza. Podczas badań należy kierować się zasadą, że w efekcie końcowym musimy określić liczbę wszystkich mikroorganizmów, dlatego objętość badanego powietrza powinna być taka, aby nie popełnić błędów podczas liczenia wyrosłych kolonii. Zalecane jest pobieranie kilku próbek o różnej objętości powietrza.

METODA SEDYMENTACYJNA KOCHA

Jest to jedna z najstarszych i najprostszych metod mikrobiologicznego badania powietrza. Polega na swobodnym opadaniu (sedymentacji) cząstek wraz z drobnoustroja-

mi na zestaloną pożywkę na płytce Petriego. Chcąc określić liczebność różnych drobnoustrojów należy przygotować płytki Petriego z odpowiednimi pożywkami. Czas ekspozycji płytek może być zróżnicowany, w zależności od spodziewanego stopnia zanieczyszczenia powietrza i wynosi zwykle od 10 do 30 minut. W metodzie tej nie zawsze wszystkie drobnoustroje zostają wychwycone, gdyż bardzo drobne składniki bioaerozolu mają długi czas sedimentacji i nie opadną na ekspozowane płytki Petriego. Badania powietrza tą metodą prowadziło wielu badaczy (FILIPKOWSKA i współaut. 2000, 2008; KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; KROGULSKI 2006; KORZENIEWSKA i współaut. 2007, 2008; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008, 2013; GRISOLI i współaut. 2009; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011; KOŁWZAN i współaut. 2012a, b; SEETHA i współaut. 2013; ADAMUS-BIAŁEK i współaut. 2015).

METODY OBJĘTOŚCIOWE (WOLUMETRYCZNE)

Oparte są one na dokładnym poborze (badaniu) określonej objętości powietrza, przy użyciu specjalistycznych przyrządów (urządzenia wolumetryczne: aspiratory, impaktory, aeroskopy). Urządzenia te różnią się konstrukcją, wielkością, sposobem poboru i przepływu powietrza, liczbą i wielkością dysz, ale ze względu na łatwość obsługi i stosunkowo dostępne ceny są one najczęściej wykorzystywane w monitoringu powietrza.

METODA ZDERZENIOWA

W metodzie tej strumień powietrza uderza o lepkie podłoże (najczęściej pożywkę agarową) powodując, że cząstki w nim zawieszone przylepiają się do pożywki. W ten sposób drobnoustroje zostają wychwycone z badanej objętości powietrza. Metoda ta nazywana jest również impakcyjną, a urządzenia, którymi pobiera się odmierzony strumień powietrza – impaktorami. Znanych jest wiele urządzeń działających na zasadzie metody zderzeniowej m.in.:

– Kaskadowy impaktor Andersena (ACI) firmy Tisch Environmental, Inc., USA

Dostępne są sześć- lub ośmiostopniowe urządzenia, w których każdy stopień ma 400 otworów o malejącej średnicy. Na każdym poziomie można zainstalować płytkę Petriego z pożywką agarową. ACI pracują przy natężeniu przepływu powietrza 28,3, 60 lub 90 dm³/min. Podczas badań istnieje możliwość analizowania cząstek pod względem wielkości. Końcowa liczebność wyhodowanych mikroorganizmów poprawiana jest przez współczynnik korekcyjny załączony do instrukcji urządzenia. Impaktor ten stosowany był w licznych badaniach mikrobiolo-

gicznego zanieczyszczenia obiektów komunalnych (ANDERSEN 1958, GOFF i współaut. 1973, FANNIN i współaut. 1985, THORNE i współaut. 1992, SAWYER i współaut. 1993, MARCHAND i współaut. 1995, BRANDI i współaut. 2000, BELLIN i SCHILLINGER 2001, WLAZŁO i współaut. 2002, HEINONEN-TANSKI i współaut. 2009, HUNG i współaut. 2010, BRAGOSZEWSKA i współaut. 2013, LI i współaut. 2013, MALAKOOTIAN i współaut. 2013, PASTUSZKA i współaut. 2013, GUO i współaut. 2014, DING i współaut. 2015, SHRAVANTHI i współaut. 2016, FATHI i współaut. 2017, KOWALSKI i współaut. 2017, UHRBRAND i współaut. 2017, CYPROWSKI i współaut. 2018, WANG i współaut. 2018).

– Próbniki serii MAS-100 firmy MERCK, Niemcy

MAS-100 Eco® przystosowany jest do pracy ze standardowymi płytkami Petriego o średnicy 90 mm i idealnie nadaje się do monitoringu powietrza w przemyśle spożywczym oraz powietrza zewnętrznego. Natężenie przepływu powietrza wynosi 100 dm³/min. W głowicy próbnika znajduje się 400 otworów. Automatyzacja urządzenia daje możliwość poboru próbki powietrza w zakresie od 1 do 1000 dm³. Używanie próbnika zatwierdzone jest przez liczne normy (np. EN 50082-1, 1997, ISO 14698-1/2, 2003).

Liczebność wyrosłych kolonii jest korygowana przy użyciu tablicy poprawek statystycznych według Feller'a. Z tablicy tej dla każdego zliczenia kolonii (r), można odczytać jego poprawioną prawdopodobną wartość (Pr). Próbniki MAS-100 NT® i MAS-100 NT® Ex - zalecane są do mikrobiologicznego monitoringu powietrza. Posiadają automatyczną kalibrację i przystosowane są do pracy z płytkami Petriego o średnicy 90 mm lub kompaktowymi o średnicy 60 mm. Zasada działania urządzeń wzorowana jest na próbniku Andersena. Głowica posiada 300 otworów o średnicy 0,6 mm, co zwiększa skuteczność poboru mikroorganizmów z powietrza, przy natężeniu przepływu powietrza 100 dm³/min. Próbniki przeznaczone są głównie dla przemysłu spożywczego i ochrony środowiska.

Próbniki serii MAS-100 używane były w licznych badaniach powietrza na terenach oczyszczalni ścieków (PASCUAL i współaut. 2003; KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; BRANDL i współaut. 2005; BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007a, b; KARRA i KATSIVELA 2007; KORZENIEWSKA i współaut. 2007; FILIPKOWSKA i współaut. 2008; GREGOVÁ i współaut. 2008; PATENTALAKIS i współaut. 2008; HAAS i współaut. 2010; MAŁECKA-ADAMOWICZ i współaut. 2011, 2016; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011, 2018; VÍTEZOVÁ i współaut. 2012; TEIXEIRA i współaut. 2013; AZEVE-

DO i współaut. 2014; PAŚMIONKA i współaut. 2015; BREZA-BORUTA 2016; SZYŁAK-SZYDŁOWSKI i współaut. 2016).

– Air IDEAL® 3P™ firmy bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francja

Jest to urządzenie przeznaczone głównie do mikrobiologicznego monitorowania zanieczyszczenia powietrza w pomieszczeniach placówek szpitalnych, farmaceutycznych i przemysłowych. Aparat przystosowano do płytek Petriego o średnicy 90 i 65 mm. Natężenie przepływu powietrza wynosi 100 dm³/min. Praca urządzenia jest zgodna z obowiązującymi normami. Próbnik ten używany był m.in. w badaniach powietrza na terenach oczyszczalni (ÖZDEMİR i współaut. 2010, MEHEUST i współaut. 2013, PASTUSZKA i współaut. 2013).

– Próbniki serii SAS firmy PBI International, Włochy

DUO SAS Super 360 ma pojedynczy korpus z dwiema głowicami zasysającymi (487 otworów) i pracuje przy natężeniu przepływu powietrza 180 lub 360 dm³/min. Można w nim stosować płytki Rodac 55 mm lub Petriego o średnicy 90 mm.

SAS Super ISO 100/180 ma pojedynczy korpus z jedną głowicą zasysającą, jest w nim możliwość stosowania płytek Rodac 55 mm lub Petriego o średnicy 90 mm i pracuje przy natężeniu przepływu powietrza 100 lub 180 dm³/min.

SAS Super IAQ ma dającą się programować objętość zasysanego powietrza od 1 do 1999 dm³ przy natężeniu przepływu powietrza 100 dm³/min. Przygotowany jest do pracy ze standardowymi płytkami kontaktowymi Rodac 55 mm i płytkami Petriego o średnicy 90 mm. Próbniki serii SAS stosowane były podczas badań powietrza na terenach obiektów komunalnych (MROWIEC i SUSCHKA 1995, BRANDI i współaut. 2000, RANALLI i współaut. 2000, BELLIN i SCHILLINGER 2001, ORSINI i współaut. 2002, FRACCHIA i współaut. 2006, BUDZIŃSKA i współaut. 2011, VANTARAKIS i współaut. 2016).

– Selektywny aerobioskop

Próbnik ten został skonstruowany i opatentowany w Polsce przez Instytut Medycyny Wsi w Lublinie i powinien trafić do seryjnej produkcji. Umożliwia pobór bioaerozolu w celu określenia ogólnej liczby mikroorganizmów oraz najdrobniejszej frakcji wnikaającej do dróg oddechowych. Powietrze uderza przez dysze na dwie obracające się płytki Petriego z pożywką (DUTKIEWICZ i GÓRNY 2002).

– Inne próbniiki

Próbnik do pobierania stałych cząstek zawieszonych TH-150C został wykorzystany w badaniach HAN i współaut. (2018), polegających na filtracji powietrza przez jałowy filtr

kwarcowy Whatman QM-A, który po homogenizacji w jałowej wodzie był podstawą do posiewów na płytki z pożywką agarową.

Próbnik Burkard Aerosol Sampler, opisany w pracy CYPROWSKI i współaut. (2008), działa na zasadzie metody zderzeniowej z wykorzystaniem płytek Petriego o średnicy 90 mm.

METODA FILTRACYJNA

Sposób pobierania powietrza w tej metodzie polega na absorpcji bioaerozolu w płynie absorpcyjnym, który znajduje się w płucce, lub na specjalny filtr membranowy. Drobnoustroje zawarte w płynie lub wypłukane z filtra posiewa się na odpowiednie pożywki. Na tej metodzie oparte są m.in. następujące urządzenia:

– Impinger AGI 30 firmy Ace Glass Incorporated, USA

Uważany jest za jedno z najbardziej skutecznych urządzeń do przechwytywania cząstek bioaerozolu o wielkości od 0,8 µm do 15,0 µm, przy natężeniu przepływu powietrza 12,5 dm³/min. Strumień powietrza za pomocą kapilarnej rurki kierowany jest w pobliże dna szklanego naczynia wypełnionego od 2 do 20 ml płynu absorpcyjnego. AGI 30 używano m.in. do badania powietrza na terenie obiektów komunalnych (MAY i HARPER 1957, THORNE i współaut. 1992, LIN i LI 1999, BRANDI i współaut. 2000, DING i WANG 2001).

– SKC BioSampler firmy SKC Ltd., Wielka Brytania

Urządzenie to wzorowane jest na impingerze AGI. Przepływ powietrza odbywa się przez trzy dysze, w każdej 4,2 dm³/min (łączny przepływ ok. 12,5 dm³/min). Układ dysz powoduje jednocześnie wprowadzenie cieczy absorpcyjnej w ruch wirowy, co zwiększa skuteczność pochłaniania mikroorganizmów. Próbnik ten stosowany jest przez badaczy powietrza (PATENTALAKIS i współaut. 2008, HAAS i współaut. 2010, GANGAMMA i współaut. 2011, AHMED i współaut. 2013, LI i współaut. 2016).

– Płuczka Zajcewa

Jest zalecana przez Polskie Normy PN-89/Z-04111/02 i PN-89/Z-04111/03 do mikrobiologicznego badania powietrza. Zasada działania polega na zasysaniu powietrza przez szklaną rurkę, która zanurzona jest w płynie absorpcyjnym.

METODA ELEKTROPRECYPITACJI

Metoda wykorzystuje zjawisko posiadania ładunku elektrycznego przez drobnoustroje, które zostają przyciągnięte do podłączonych do prądu płytek Petriego, pełniących rolę elektrod. Odbywa się to w urządzeniach zwanych precypitatorami.

W samplerych pobierane próbki powietrza zawierające cząstki aerozoli o różnej wielkości uderzają w lepkie podłoże (pożywki stałe lub płynne) powodując, że część frakcji zostaje zatrzymana na podłożu, a część ulega odbiciu lub przelatuje wraz ze strumieniem powietrza. Prędkość przepływu powietrza i zdolność osadzania cząstek zależą od kształtu, wielkości, ilości dysz i odległości uderzenia powietrza o lepkie podłoże, a także średnicy cząstek, ich gęstości i lepkości podłoża. Na podstawie tych danych można określić tzw. wydajność impaktora i wielkość odcięcia (d_{50}), czyli wartość wskazującą, że 50% cząstek o różnej średnicy zostaje zatrzymanych na pożywce, a 50% przechodzi przez impaktor. Zwykle przyjmuje się, że d_{50} jest to średnica cząstki, powyżej której wszystkie większe cząstki zostają w całości zebrane. Wartość średnicy odcięcia jest ważną cechą każdego impaktora, jednak znana jest ona tylko dla kilku samplery. W różnych samplerych natężenie przepływu powietrza jest zróżnicowane i waha się od 10 do 180 dm³/min. Mogą one posiadać jedną lub kilka dysz. Graniczne wartości d_{50} mogą być zróżnicowane i wahają się od mniej niż 0,4 µm (AGI-30) do ponad 6 µm (ACI-I). Dlatego przy porównywaniu wyników badań powinno się wykorzystywać urządzenia o podobnej średnicy odcięcia. Na wartość końcową obliczeń (jtk/m³) ma także wpływ czas poboru próbki oraz powierzchnia zasysania powietrza, liczba i wielkość otworów w głowicy, a

także przeżywalność i żywotność pobranych mikroorganizmów. Ponieważ można przyjąć, że np. w jeden otwór głowicy (w przypadku próbnika Andersena, MAS-100 Eco jest 400 otworów) wpadają dwa drobnoustroje, które tworzą po okresie hodowli jedną widoczną kolonię, a w inny otwór nie wpadnie żaden mikroorganizm, dlatego do obliczeń końcowych przyjmuje się korektę wyników według tabeli statystycznych obliczeń Fellera wyrażonych wzorem:

$$P_r = N[1/N + 1/(N-1) + 1/(N-2) + \dots + 1/(N-r + 1)]$$

w którym:

- P_r – wynik końcowy po korekcie (jtk/m³)
- N_r – liczba otworów w głowicy impaktora
- r – liczba kolonii na płycie (jtk/m³)

Aby mieć pewność, że badania wykonywane są zgodnie z założeniami producenta samplera, należy również przeprowadzać (samodzielnie lub w serwisie) okresową kalibrację przyrządu przy zastosowaniu danej prędkości przepływu powietrza (NEVALAINEN i współaut. 1992, YAO i MAINELIS 2006, PA-STUSZKA i współaut. 2013).

Ryc. 1–7 przedstawiają przykładowe samplery wykorzystywane w badaniach mikrobiologicznych powietrza.

Obecnie do badań mikrobiologicznych na terenach oczyszczalni ścieków najczęściej wykorzystuje się metody wolumetryczne, a wśród urządzeń dominują próbki serii

Ryc. 1–7. Samplery do mikrobiologicznych badań powietrza (1 – MAS-100 Eco; 2 – ACI Andersen; 3 – Air IDEAL; 4 – AGI 30; 5 – SKC BioSampler; 6 – SAS Super IAQ; 7 – SAS Super ISO).

Tabela 1. Podłoża i warunki hodowli bakterii stosowane w badaniach mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza.

Grupa bakterii	Podłoże	Warunki hodowli	Autor
Całkowita liczba bakterii	Agar odżywczy	30°C, 48h	GUO i współaut. 2014; HAN i współaut. 2018
Całkowita liczba bakterii	Agar drożdżowy z tryptonem i glukozą	37°C	BRANDI i współaut. 2000
Bakterie heterotroficzne	Agar bulionowy	26°C, 72h	FILIPKOWSKA i współaut. 2000; KORZENIEWSKA i współaut. 2009
Bakterie mezofilne	Agar wzbogacony	37°C, 24-48h	HAAS i współaut. 2010; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2013; LI i współaut. 2013; ADAMUS-BIAŁEK i współaut. 2015; PAŚMIONKA i współaut. 2015
Bakterie mezofilne	Agar odżywczy	37°C, 24-72h	BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b; BREZA-BORUTA 2016; KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; KARRA i KATSIVELA 2007; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; BUDZIŃSKA i współaut. 2011; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011; KOŁWZAN 2012b; VÍTEŽOVÁ i współaut. 2012; SZYŁAK-SZYDŁOWSKI i współaut. 2016
Bakterie mezofilne	Agar TSA	30-37°C, 1-7 dni	BAUER i współaut. 2002; GRISOLI i współaut. 2009; BAUER i współaut. 2002; GANGAMMA i współaut. 2011; TEIXEIRA i współaut. 2013; NIAZI i współaut. 2015; LI i współaut. 2016; MAŁECKA-ADAMOWICZ i współaut. 2016; KRISTANTO i ROSANA 2017
Bakterie mezofilne	Agar bulionowy	37°C, 24h	FILIPKOWSKA i współaut. 2000; KORZENIEWSKA i współaut. 2009
Bakterie mezofilne	R2A Agar	37°C, 48-120h	MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2018
Bakterie mezofilne Gram-dodatnie	Agar z krwią	37°C, 24h; 22°C, 48h; 4°C, 72h	WLAZŁO i współaut. 2002
Bakterie Gram-dodatnie	Agar z manni-tolem	37°C, 48h	TEIXEIRA i współaut. 2013
Bakterie mezofilne Gram-ujemne	Agar EMB (z eozyną i błękitem metylenowym)	37°C, 24h; 22°C, 48h; 4°C, 72h	WLAZŁO i współaut. 2002
Bakterie Gram-ujemne	Agar Mac Con-key	37°C, 24-48h	FRACCHIA i współaut. 2006; NOWOJEWSKI i MNISZEK 2006; TEIXEIRA i współaut. 2013
Bakterie psychrofilne	Agar odżywczy	20-22°C, 72h	KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011; VÍTEŽOVÁ i współaut. 2012
Bakterie psychrofilne	R2A Agar	20-22°C, 72-120h	HEINONEN-TANSKI i współaut. 2009; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2018
Bakterie psychrofilne	Agar PCA z cykloheksamidem	22°C, 72h	KOŁWZAN i współaut. 2012a
Bakterie psychrofilne	Agar TSA	20-22°C, 3-7 dni	KOWALSKI i współaut. 2017; WLAZŁO i współaut. 2002
Bakterie psychrofilne	Agar z ekstraktem drożdżowym	22°C, 72h	NOWOJEWSKI i MNISZEK 2006
<i>Pseudomonas fluorescens</i> i <i>Pseudomonas</i> sp.	King B	26-30°C, 2-7 dni	BREZA-BORUTA 2016; BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b; BUDZIŃSKA i współaut. 2011; FILIPKOWSKA i współaut. 2000; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2013; KOŁWZAN i współaut. 2012b; KORZENIEWSKA i współaut. 2009; KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	King B z cykloheksamidem	4 i 26°C, 3-7 dni	KOŁWZAN i współaut. 2012a
<i>Pseudomonas</i> sp.	King A	37°C, 48h	FILIPKOWSKA i współaut. 2000

<i>Pseudomonas</i> sp.	Agar z cetrymidem	37°C, 24-48h	AZEVEDO i współaut. 2014; NOWOJEWSKI i MNISZEK 2006
Gronkowce mannitolu-dodatnie i mannitolu-ujemne	Agar z mannito-lem (Chapman)	37°C, 24-48h	ADAMUS-BIAŁEK i współaut. 2015; BRANDI i współaut. 2000; BREZA-BORUTA 2016; BUDZIŃSKA i współaut. 2011; FILIPKOWSKA i współaut. 2000; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2013; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; KOŁWZAN i współaut. 2012b; KORZENIEWSKA i współaut. 2009; KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; MAŁECKA-ADAMOWICZ i współaut. 2016; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011; PASMIONKA i współaut. 2015; SZYŁAK-SZYDŁOWSKI i współaut. 2016
Gronkowce hemolizujące	Agar wzbogacony z krwią	37°C, 48h	BUDZIŃSKA i współaut. 2011; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008
Gronkowce hemolizujące	Agar z krwią	22°C, 72h	KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004
Gronkowce hemolizujące	Agar Columbia z krwią owcy	10°C, 2-7 dni	KOŁWZAN i współaut. 2012a
Bakterie hemolityczne	Agar bulionowy z krwią	37°C, 24h	FILIPKOWSKA i współaut. 2000
<i>Escherichia coli</i>	Agar VRBL	45°C	BRANDI i współaut. 2000
<i>Escherichia coli</i>	Agar Endo	44°C, 48h	HAAS i współaut. 2010
<i>Escherichia coli</i>	Agar Endo-LES	37°C, 24h	NOWOJEWSKI i MNISZEK 2006
<i>Escherichia coli</i> , bakterie grupy coli	Agar m-FC	44-44,5°C, 24-48h	HEINONEN-TANSKI i współaut. 2009; VÍTEZOVÁ i współaut. 2012
Bakterie grupy coli i Enterobacteriaceae	Agar Endo	37°C, 24-48h	BREZA-BORUTA 2016; BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b; GOFF i współaut. 1973; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; HAAS i współaut. 2010; KOŁWZAN i współaut. 2012b; KORZENIEWSKA i współaut. 2009; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011
Bakterie grupy coli	Agar VRBL	37°C	BRANDI i współaut. 2000
Bakterie grupy coli	Agar CCA	37°C, 24-48h	KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004
Enterobacteriaceae	Agar Mac Conkey'a	37°C, 24h	BUDZIŃSKA i współaut. 2011; GRISOLI i współaut. 2009; SZYŁAK-SZYDŁOWSKI i współaut. 2016
Enterococci	Agar m-Enterococcus	37°C	BRANDI i współaut. 2000
Enterococci	Agar KAA	37°C, 24h	BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b
<i>Enterococcus faecalis</i>	Slanetz-Bartley	37°C, 48-72h	FRACCHIA i współaut. 2006; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; KARRA i KATSIVELA 2007; KORZENIEWSKA i współaut. 2009
<i>Clostridium</i> sp.	Agar SPS	37°C, 48h	GRISOLI i współaut. 2009
<i>Salmonella</i> sp.	Agar SS (<i>Salmonella</i> – <i>Shigella</i>)	37°C	BRANDI i współaut. 2000
<i>Salmonella</i> sp.	Agar BPL	37°C, 24h	BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b
<i>Shigella</i> sp.	Agar SS	37°C	BRANDI i współaut. 2000
<i>Aeromonas</i> sp.	m-Aeromonas agar	37°C	BRANDI i współaut. 2000
Actinomycetes (Actinobacteria)	Pochon	26-28°C, 3-14 dni	BREZA-BORUTA 2016; BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b; BUDZIŃSKA i współaut. 2011; FILIPKOWSKA i współaut. 2000; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2013; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2008; KOŁWZAN i współaut. 2012a; KOŁWZAN i współaut. 2012b; KORZENIEWSKA i współaut. 2009; PASMIONKA i współaut. 2015
Actinomycetes (Actinobacteria)	Syntetyczny agar Gause'a	28°C, 5 dni	LI i współaut. 2013
Actinomycetes (Actinobacteria)	Agar izolinowy dla Actinomycetes	26°C, 7 dni	VÍTEZOVÁ i współaut. 2012
Termofilne promieniowce	Agar ze skrobią kazeinową	28°C i 48°C, 5-10 dni	FRACCHIA i współaut. 2006

Tabela 2. Podłoża i warunki hodowli grzybów mikroskopowych stosowane w badaniach mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza.

Grzyby mikroskopowe	Podłoże	Warunki hodowli	Autor
Grzyby	Sabouraud	20-28°C, 1-7 dni	BRANDI i współaut. 2000; KRUCZALAK i OLAŃCZUK-NEYMAN 2004; LI i współaut. 2013; MAŁECKA-ADAMOWICZ i współaut. 2017; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2018; NIAZI i współaut. 2015
Grzyby	Sabouraud	37°C, 24-48h	AZEVEDO i współaut. 2014
Grzyby	Agar brzeczkowy z kwasem cytrynowym	26°C, 72h	BREZA-BORUTA i PALUSZAK 2007b
Grzyby	Agar RBC	26-30°C, 3-7 dni	BUDZIŃSKA i współaut. 2011; GUO i współaut. 2014; KORZENIEWSKA i współaut. 2009
Grzyby	Malt Extract Agar	25-30°C, 3-5 dni	CYPROWSKI i współaut. 2008; KARRA i KATSIVELA 2007; KRISTANTO i ROSANA 2017; LI i współaut. 2016
Grzyby	Agar z brzeczką	25°C, 3-7 dni	BREZA-BORUTA 2016; CYPROWSKI i współaut. 2008
Grzyby	Agar Czapka	25°C; 5°C lub 37°C; 7 dni	CYPROWSKI i współaut. 2008; GOTKOWSKA-PLACHTA i współaut. 2013
Grzyby	Agar Czapek-Doxa	25-26°C, 2-7 dni	KOŁWZAN i współaut. 2012b; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011; VÍTEŽOVÁ i współaut. 2012
Grzyby	Waksman	26°C, 7 dni	KOŁWZAN i współaut. 2012b; MICHAŁKIEWICZ i współaut. 2011
Grzyby	Agar PDA (ziemniaczano-dekstrozowy)	25°C, 4 dni	BREZA-BORUTA 2016
Termotolerancyjne grzyby	Agar DG-18	37°C, 7 dni	BAUER i współaut. 2002
Grzyby drożdżopodobne	Sabouraud z TTC	26°C, 3-5 dni	KOŁWZAN i współaut. 2012a
Grzyby pleśniowe	Sabouraud z chloramfenikolem	26°C, 3-5 dni	KOŁWZAN i współaut. 2012a
Drożdże i pleśnie	Sabouraud	30°C, 5 dni	FILIPKOWSKA i współaut. 2000
Mezofilne pleśnie	Agar DG-18 z chloramfenikolem	25°C, 5-7 dni	BAUER i współaut. 2002; TEIXEIRA i współaut. 2013

MAS-100 i kaskadowy impaktor Andersena. Decydującą rolę w badaniach bioaerozoli odgrywa zarówno dokładna znajomość pobranego powietrza, jak i możliwość porównywania wyników badań przy stosowaniu urządzeń o podobnej średnicy głowic przepuszczających powietrze na standardowe płytki Petriego o średnicy 90 mm z gotowymi pożywkami, a także zbliżone wartości średnicy odcięcia (d_{50}).

W cytowanych powyżej pracach, omawiających sposób poboru powietrza do badań mikrobiologicznych na terenach oczyszczalni ścieków, autorzy zwracają uwagę na liczebność wykrytych mikroorganizmów na różnych etapach oczyszczania ścieków, a także ich zróżnicowanie i negatywne oddziaływanie na pracowników i mieszkańców okolicznych terenów. Często zdiagnozowane drobnoustroje zaliczane są do chorobotwórczych lub potencjalnie patogennych mikroorganizmów.

PODŁOŻA HODOWLANE

W pobranych próbkach powietrza do badań mikrobiologicznych należy oznaczyć liczebność i skład drobnoustrojów. Niezależnie od metody poboru próbek bioaerozoli oraz warunków ich hodowli i identyfikacji, obliczenia liczebności mikroorganizmów zawartych w powietrzu zwykle przeliczane są na wspólną jednostkę 1 m³ powietrza. Do hodowli drobnoustrojów wykorzystuje się pożywki (podłoża) oraz stosuje się różne warunki ich inkubacji (czas i temperatura). Zwykle w badaniach mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza hodowane są grupy bakterii oraz grzyby mikroskopowe, które rosną na różnych pożywkach. Ponadto stosowane są różne podłoża do hodowli tych samych drobnoustrojów. W Tabelach 1–2 zestawiono badane grupy mikroorganizmów, wykorzystywane pożywki, temperaturę i czas

hodowli oraz autorów prac, którzy omawiają te metody hodowlane.

Analizując rodzaj stosowanych pożywek do badań mikrobiologicznych można zauważyć, że dla oceny ogólnej liczebności bakterii najczęściej wykorzystuje się agar odżywczy lub wzbogacony, dla bakterii *Pseudomonas fluorescens* podłoże King B, dla gronkowców agar z mannitolem, dla bakterii grupy coli podłoże Endo, dla promieniowców (*Actinobacteria*) pożywkę Pochona, natomiast dla grzybów mikroskopowych podłoże Sabouraud. W przypadku innych drobnoustrojów pożywki są dość zróżnicowane. Jednak porównując warunki hodowli (temperatura, czas) można stwierdzić, że występują tu niekiedy znaczne różnice. Najczęściej w hodowli bakterii związanych z człowiekiem stosuje się temperaturę 37°C, dla bakterii psychrofilnych żyjących w środowisku zewnętrznym 20 do 22°C, natomiast dla grzybów 25°C. Taka sytuacja powoduje, że końcowa ocena stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza przy stosowaniu różnych metod poboru bioaerozoli, różnych pożywek i warunków inkubacji, nie zawsze jest porównywalna. Przyczyną tego jest najczęściej brak znormalizowanych przepisów (wytycznych, norm, dyrektyw, itp.) obowiązujących w poszczególnych państwach, we wszystkich krajach lub np. na terenie Unii Europejskiej, czy w państwach Ameryki Północnej i Południowej, według których można jednakoowo ocenić stopień mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza.

PODSUMOWANIE

Obiekty komunalne, w tym oczyszczalnie ścieków są antropogennym źródłem emisji bioaerozoli. W licznych publikacjach omawiających mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza na terenach oczyszczalni ścieków przedstawiane są różne metody poboru próbek powietrza do badań. Ze względu na wymagania dokładność pomiarów, obecnie najczęściej stosuje się metody wolumetryczne, które gwarantują dokładne określenie objętości badanego powietrza.

W metodach hodowlanych do zidentyfikowania i obliczenia składników bioaerozoli wykorzystuje się różne podłoża (pożywki). Warunki inkubacji (czas i temperatura) są bardzo zróżnicowane, mimo że dotyczą hodowli tych samych bakterii i grzybów mikroskopowych.

Ze względu na zróżnicowanie metod poboru powietrza i warunków hodowli drobnoustrojów, bardzo trudno jest niekiedy porównać wyniki badań uzyskane przez różnych autorów.

Brakuje ujednoliconych przepisów dotyczących badania bioaerozoli, które obowiązywałyby np. w UE lub na całym świecie.

Streszczenie

W artykule przedstawiono podstawowe metody poboru i badań bioaerozolu emitowanego do atmosfery w otoczeniu oczyszczalni ścieków. Dokonano przeglądu literatury (ponad 100 pozycji), w której cytowane są liczne prace dotyczące mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza na terenie i w sąsiedztwie oczyszczalni ścieków. Z tego względu, że każda z metod poboru próbek powietrza jest inna, bardzo trudno jest niekiedy porównać wyniki badań prowadzonych przez różnych autorów, badających powietrze różnymi metodami. Obecnie najbardziej powszechne są wolumetryczne sposoby poboru powietrza. W tym celu wykorzystuje się liczne urządzenia o różnych zasadach działania. W dostępnej literaturze stwierdza się także stosowanie bardzo różnych podłoży do hodowli tych samych drobnoustrojów. W załączonych tabelach zestawiono najczęściej badane grupy mikroorganizmów, wykorzystywane pożywki, temperaturę i czas hodowli oraz autorów prac, którzy omawiają te metody hodowlane. Przyczyną takiej sytuacji jest najczęściej brak znormalizowanych przepisów obowiązujących w poszczególnych państwach, we wszystkich krajach lub np. na terenie Unii Europejskiej, według których można jednakoowo ocenić stopień mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza.

LITERATURA

- ADAMUS-BIAŁEK W., WAWSZCZAK M., ŚWIERCZ A., 2015. *Impact of sewage treatment plant on local environment*. Proc. ECOpole 9, 397-404.
- AHMED M., SCHULZ J., HARTUNG J., 2013. *Air samplings in a Campylobacter jejuni positive laying hen flock*. Ann. Agr. Env. Med. 20, 16-20.
- AIZENBERG V., REPONEN Y., GRINSHPUN S. A., WILLEKE K., 2000. *Performance of Air-O-Cell, Burkard, and Button samplers for total enumeration of airborne spores*. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 61, 855-864.
- ALVAREZ A. J., BUTTNER M. P., STETZENBACH L. D., 1995. *PCR for bioaerosol monitoring: sensitivity and environmental interference*. Appl. Environ. Microb. 61, 3639-3644.
- ANDERSEN A. A., 1958. *New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles*. J. Bacteriol. 76, 357-375.
- AZEVEDO M. L. R. S., COUTO M. A. P. G., LEITE S. G. F., AZEVEDO B. R. S., ALMEIDA P. A., PROCÓPIO A. S., SILVA S. A., 2014. *Evaluation of air samplers systems in the monitoring of bioaerosols at wastewater treatment plants*. IJET-IJENS, 14, 3, 48-55.
- BARTLETT K. H., LEE K. S., STEPHENS G., BLACK W., BRAUER M., COPES R., 2002. *Evaluating Indoor Air Quality: Test Standards for Bioaerosols*, School of Occupational and Environmental Hygiene. University of British Columbia, Vancouver, Canada.
- BAUER H., FUERHACKER M., ZIBUSCHKA F., SCHMID H., PUXBAUM H., 2002. *Bacteria and fungi in aerosols generated by two different types of wastewater treatment plants*. Water Res. 36, 3965-3970.
- BELLIN P., SCHILLINGER J., 2001. *Comparison of field performances of the Andersen N6 Single Stage and the SAS sampler for airborne fungal propagules*. Indoor Air 11, 65-68.

- BRANDI G., SISTI M., AMAGLIANI G., 2000. *Evaluation of the environmental impact of microbial aerosols generated by wastewater treatment plants utilizing different aeration systems*. J. Appl. Microbiol. 88, 845-852.
- BRANDL H., BACHOFEN R., BISCHOFF M., 2005. *Generation of bioaerosols during manual mail unpacking and sorting*. J. Appl. Microbiol. 99, 1099-1107.
- BRĄGOSZEWSKA E., KOWAL A., PASTUSZKA J. S., 2013. *Bacterial aerosol occurring in atmospheric air in Gliwice, Upper Silesia, Poland*. ACEE 4, 61-66.
- BREZA-BORUTA B., 2016. *The assessment of airborne bacterial and fungal contamination emitted by a municipal landfill site in Northern Poland*. Atmos. Pollut. Res. 7, 1043-1052.
- BREZA-BORUTA B., PALUSZAK Z., 2007a. *Występowanie gronkowców antybiotykoopornych w powietrzu atmosferycznym na terenie oczyszczalni ścieków*. Med. Weter. 63, 717-720.
- BREZA-BORUTA B., PALUSZAK Z., 2007b. *Influence of water treatment plant on microbiological composition of air bioaerosol*. Pol. J. Environ. Stud. 16, 663-670.
- BUDZIŃSKA K., JUREK A., SZEJNLIK B., MICHALSKA M., WRÓŃSKI G., 2011. *Mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza na terenie oczyszczalni ścieków komunalnych*. Rocz. Ochr. Śr. 13, 1543-1558.
- CYPROWSKI M., BUCZYŃSKA A., SZADKOWSKA-STANČZYK I., 2006. *Ocena narażenia na bioaerozole pracowników kanalizacji*. Med. Pracy 57, 525-530.
- CYPROWSKI M., SOWIAK M., SOROKA P. M., BUCZYŃSKA A., KOZAJDA A., SZADKOWSKA-STANČZYK I., 2008. *Ocena zawodowej ekspozycji na aerozole grzybowe w oczyszczalniach ścieków*. Med. Pracy 59, 365-371.
- CYPROWSKI M., STOBNIKA-KUPIEC A., ŁAWNICEK-WAŁCZYK A., BAKAL-KIJEK A., GOŁOŃ-SZYMCZAK M., GÓRNY R. L., 2018. *Anaerobic bacteria in wastewater treatment plant*. Int. Arch. Occup. Environ. Health 91, 571-579.
- DING P. H., WANG C. S., 2001. *Effect of sampling time on the total recovery of AGI-30 impingers for E. coli aerosols*. Aerosol Air Qual. Res. 1, 31-36.
- DING W., LI L., HAN Y., LIU J., 2015. *Site-related and seasonal variation of bioaerosol emission in an indoor wastewater treatment station: level, characteristics of particle size, and microbial structure*. Aerobiologia 32, 211-224.
- DUTKIEWICZ J., GÓRNY R. L., 2002. *Biologiczne czynniki szkodliwe dla zdrowia - klasyfikacja i kryteria oceny narażenia*. Med. Pracy 53, 29-39.
- EN 50082-1, 1997. *Electromagnetic compatibility - generic immunity standard - residential, commercial and light industry*.
- FATHI S., HAJIZADEH Y., NIKAEEN M., GORBANI M., 2017. *Assessment of microbial aerosol emissions in an urban wastewater treatment plant operated with activated sludge process*. Aerobiologia 33, 507-515.
- FANNIN K. F., VANA S. C., JAKUBOWSKI W., 1985. *Effect of an activated sludge wastewater treatment plant on ambient air densities of aerosols containing bacteria and viruses*. Appl. Environ. Microb. 49, 1191-1196.
- FILIPKOWSKA Z., JANCZUKOWICZ W., KRZEMIENIEWSKI M., PESTA J., 2000. *Microbiological air pollution of the surrounding of Waste Water Treatment Plant with activated-sludge aerated by horizontal rotors*. Pol. J. Environ. Stud. 9, 273-280.
- FILIPKOWSKA Z., GOTKOWSKA-PLACHTA A., KORZENIEWSKA E., 2008. *Grzyby pleśniowe oraz drożdże i grzyby drożdżoidalne w powietrzu atmosferycznym na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków z systemem stawów napowietrzanych i stabilizacyjnych*. Woda Środowisko-Obszary Wiejskie 8, 69-82.
- FRACCHIA L., PIETRONAVE S., RINALDI M., MARTINOTTI M. G., 2006. *Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants*. Water Res. 40, 1985-1994.
- GANGAMMA S., PATIL R. S., MUKHERJI S., 2011. *Characterization and proinflammatory response of airborne biological particles from wastewater treatment plants*. Environ. Sci. Technol. 45, 3282-3287.
- GOFF G. D., SPENDLOVE J. C., ADAMS A. P., NICHOLS P. S., 1973. *Emission of microbial aerosols from sewage treatment plants that use trickling filters. Effects of environmental conditions*. Health Serv. Rep. 88, 640-652.
- GOTKOWSKA-PLACHTA A., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., JANCZUKOWICZ W., 2008. *Zanieczyszczenia mikrobiologiczne powietrza atmosferycznego na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków systemem stawów napowietrzanych i stabilizacyjnych*. Woda Środowisko-Obszary Wiejskie 8, 83-98.
- GOTKOWSKA-PLACHTA A., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., JANCZUKOWICZ W., DIXON B., GOŁAŚ I., SZWALGIN D., 2013. *Airborne Microorganisms Emitted from Wastewater Treatment Plant Treating Domestic Wastewater and Meat Processing Industry Wastes*. Clean-Soil Air Water 41, 5, 429-436.
- GREGOVÁ G., VENGLOVSKÝ J., VARGOVÁ M., ONDRAŠOVIČOVÁ O., ONDRAŠOVIČ M., SASÁKOVÁ N., KUDRIKOVÁ D., LAKTIČOVÁ K., 2008. *Bioaerosols produced by wastewater treatment plant*. Folia Veterinaria 52, 59-61.
- GRISOLI P., RODOLFI M., VILLANI S., GRIGNANI E., COTTICA D., BERRI A., PICCO A. M., DACARRO C., 2009. *Assessment of airborne microorganism contamination in an industrial area characterized by an open composting facility and a wastewater treatment plant*. Environ. Res. 109, 135-142.
- GUO X., WU P., DING W., ZHANG W., LI L., 2014. *Reduction and characterization of bioaerosols in a wastewater treatment station via ventilation*. J. Environ. Sci. 26, 1575-1583.
- HAAS D., UNTEREGGER M., HABIB J., GALLER H., MARTH E., REINTHALER F. F., 2010. *Exposure to Bioaerosol from Sewage Systems*. Water Air Soil Pollut. 207, 49-56.
- HAN Y., WANG Y., LI L., XU G., LIU J., YANG K., 2018. *Bacterial population and chemicals in bioaerosols from indoor environment: Sludge dewatering houses in nine municipal wastewater treatment plants*. Sci. Total Environ. 618, 469-478.
- HEINONEN-TANSKI H., REPONEN T., KOIVUNEN J., 2009. *Airborne enteric coliphages and bacteria in sewage treatment plants*. Water Res. 43, 2558-2566.
- HUNG H. F., KUO Y. M., CHIEN C. C., CHEN C. C., 2010. *Use of floating balls for reducing bacterial aerosol emissions from aeration in wastewater treatment processes*. J. Hazard. Mater. 175, 866-871.
- ISO 14698-1/2, 2003. *Cleanrooms and associated controlled environments — Biocontamination control - Part 1: General principles and meth-*

- ods. Part 2: Evaluation and interpretation of biocontamination data.
- KARL D. M., 1980. Cellular nucleotide measurements and applications in microbial ecology. *Microbiol. Rev.* 44, 739-796.
- KARRA S., KATSIVELA E., 2007. Microorganisms in bioaerosol emissions from wastewater treatment plants during summer at a Mediterranean site. *Water Res.* 41, 1355-1365.
- KIM S. Y., KIM Z. Y., LEE S., KO G. P., 2011. Comparison of molecular and total ATP-based analytical methods with culture for the analysis of bioaerosols. *Sci. Total Environ.* 409, 1732-1737.
- KOŁWZAN B., JADCZYK P., PASTERNAK G., PAWLIK M., KRAWCZYŃSKA M. K., MOLSKA J., KLEIN J., 2012a. Ocena zasięgu oddziaływania oczyszczalni ścieków komunalnych na stan sanitarny powietrza. [W:] *Ochrona powietrza atmosferycznego: wybrane zagadnienia*. MUSIALIK-PIOTROWSKA A., RUTKOWSKI J. D. (red.). PZITS, Wrocław, 141-149.
- KOŁWZAN B., JADCZYK P., PASTERNAK G., GŁUSZCZAK J., PAWLIK M., KRAWCZYŃSKA M., KLEIN J., RYBAK J., 2012b. Ocena stanu sanitarnego powietrza w otoczeniu wybranej oczyszczalni ścieków. *Ochr. Środ. Zasob. Natur.* 34, 9-14.
- KORZENIEWSKA E., 2011. Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants - a review. *Front. Biosci. (Schol. Ed.)* 1, 393-407.
- KORZENIEWSKA E., FILIPKOWSKA Z., GOTKOWSKA-PLACHTA A., 2007. Miejska oczyszczalnia ścieków z komorami osadu czynnego, napowietrzanymi aeratorami typu Celpox jako emitor bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* do powietrza. *Ochr. Środ. Zasob. Natur.* 32, 184-189.
- KORZENIEWSKA E., FILIPKOWSKA Z., GOTKOWSKA-PLACHTA A., JANCZUKOWICZ W., 2008. Bakteriologiczne zanieczyszczenie powietrza na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków z systemem filtrów grunto-roślinnych. *Woda Środowisko-Obszary Wiejskie* 8, 161-173.
- KORZENIEWSKA E., FILIPKOWSKA Z., GOTKOWSKA-PLACHTA A., JANCZUKOWICZ W., DIXON B., CZUŁOWSKA M., 2009. Determination of emitted airborne microorganisms from a BIO-PAK wastewater treatment plant. *Water Res.* 43, 2841-2851.
- KOWALSKI M., WOLANY J., PASTUSZKA J. S., PŁAZA G., WŁAZŁO A., ULFIG K., MALINA A., 2017. Characteristics of airborne bacteria and fungi in some Polish wastewater treatment plants. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 14, 2181-2192.
- KRISTANTO G. A., ROSANA F. N., 2017. Analysis of Microbial Air Quality in the Surrounding Hospital's Wastewater Treatment Plants in Jakarta, Indonesia. *MATEC Web of Conferences*, 138, 1-8.
- KROGULSKI A., 2006. Metody oznaczania ogólnej liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym i wewnątrz pomieszczeń. *Rocz. Panstw. Zakł. Hig.* 57, 1, 1-7.
- KRUCZALAK K., OLANCZUK-NEYMAN K., 2004. Microorganisms in the air over wastewater treatment plants. *Pol. J. Environ. Stud.* 13, 537-542.
- KRZYSZTOFIK B., 1992. *Mikrobiologia powietrza*. Wydawnictwo Politechniki Warszawskiej.
- LI J., ZHOU L., ZHANG X., XU C., DONG L., YAO M., 2016. Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant. *Atmos. Environ.* 124, 404-412.
- LI Y., ZHANG H., QIU X., ZHANG Y., WANG H., 2013. Dispersion and risk assessment of bacterial aerosols emitted from rotating-brush aerator during summer in a wastewater treatment plant of Xi'an, China. *Aerosol Air Qual. Res.* 13, 1807-1814.
- LIN W. -H., LI C. -S., 1999. Evaluation of impingement and filtration methods for yeast bioaerosol sampling. *Aerosol Sci. Tech.* 30, 119-126.
- M'EHEUST D., GANGNEUX J. P., CANN P. L., 2013. Comparative Evaluation of Three Impactor Samplers for Measuring Airborne Bacteria and Fungi Concentrations. *J. Occup. Environ. Hyg.* 10, 455-459.
- MACNEIL L., KAURI T., ROBERTSON W., 1995. Molecular techniques and their potential application in monitoring the microbiological quality of indoor air. *Can. J. Microbiol.* 41, 657-665.
- MALAKOOTIAN M., RADHAKRISHNA N., MAZANDARANY M. P., HOSSAINI H., 2013. Bacterial-aerosol emission from wastewater treatment plant. *Desalin. Water Treat.* 51, 4478-4488.
- MAŁECKA-ADAMOWICZ M., DONDESKI W., DOKŁADNA W., 2011. Microflora of air in the sewage treatment plant of Kapuściska in Bydgoszcz. *Pol. J. Environ. Stud.* 20, 1235-1242.
- MAŁECKA-ADAMOWICZ M., KUBERA Ł., DONDESKI W., KOŁET K., 2016. Microbial air contamination on the premises of the sewage treatment plant in Bydgoszcz (Poland) and antibiotic resistance of *Staphylococcus* spp. *Arch. Environ. Prot.* 43, 58-65.
- MARCHAND G., LAVOIE J., LAZURE L., 1995. Bioaerosols in a Municipal Solid Waste Recycling and Composting Plant. *Air Waste Management Assoc.* 45, 778-781.
- MARTINEZ K. F., RAO C. Y., BURTON N. C., 2004. Exposure assessment and analysis for biological agents. *Grana* 43, 193-204.
- MAY K. R., HARPER J., 1957. The efficiency of various liquid impinger samplers in bacterial aerosols. *Brit. J. Industr. Med.* 14, 287-297.
- MICHAŁKIEWICZ M., 2006. Mikroorganizmy występujące w wodzie. *Wodociągi Kanalizacja* 7/8, 26-28.
- MICHAŁKIEWICZ M., PRUSS A., DYMACEWSKI Z., JEŻ-WALKOWIAK J., KWAŚNA S., 2011. Microbiological air monitoring around municipal wastewater treatment plants. *Pol. J. Environ. Stud.* 20, 1243-1250.
- MICHAŁKIEWICZ M., KRUSZELNICKA I., WIDOMSKA M., 2018. The variability of the concentration of bioaerosols above the chambers of biological wastewater treatment. *Ecol. Chem. Eng. Sci.* 25, 267-278.
- MROWIEC B., SUSCHKA J., 1995. Wpływ procesów oczyszczania ścieków na przenoszenie zanieczyszczeń do atmosfery. *Gaz Woda Technika Sanitarna* 3, 92-95.
- NEVALAINEN A., PASTUSZKA J., LIEBHABER F., WILLEKE K., 1992. Performance of bioaerosol samplers: collection characteristics and sampler design consideration. *Atmos. Environ.* 26A, 531-540.
- NIAZI S., HASSANVAND M. S., MAHVI A. H., NABIZADEH R., ALIMOHAMMADI M., NABAVI S., FARIDI S., DEGHANI A., HOSEINI M., MORADI-JOO M., MOKAMEL A., KASHANI H., YARALI N., YUNESIAN M., 2015. Assessment of bioaerosol contamination (bacteria and fungi) in the largest urban wastewater treatment plant in the Middle East. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 16014-16021.
- NOWOJEWski A., MNISZEK W., 2006. Analiza narażenia zawodowego pracowników na szkodli-

- we czynniki biologiczne w typowej miejskiej oczyszczalni ścieków. ZN WSZOP 1, 7-34.
- ORSINI M., LAURENTI P., BONINTI F., ARZANI D., LANNI A., ROMANO-SPICA V., 2002. A molecular typing approach for evaluating bioaerosol exposure in wastewater treatment plant workers. *Water Res.* 36, 1375-1378.
- ÖZDEMİR M., GÜNDEM N. S., BAYSAL B., 2010. Investigation of bacterial counts in air at intensive care units and operating rooms. *Anatol. J. Clin. Investig.* 4, 1-4.
- PASCUAL L., PÉREZ-LUZ S., YAÑEZ M. A., SANTAMARIA A., GIBERT K., SALGOT M., APRAIZ D., CATALÁN V., 2003. Bioaerosol emission from wastewater treatment plants. *Aerobiologia* 19, 3-4, 261-270.
- PASTUSZKA J. S., IWASIEWICZ P., BRAGOSZEWSKA E., 2013. Preliminary testing of a new bioaerosols sampler developed for the measurements of low and medium concentration levels of airborne bacteria and fungi. *Environ. Prot. Eng.* 39, 129-138.
- PASMIŃKA I., GALUS-BARCHAN A., OLEKSIEWICZ B., 2015. Mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza atmosferycznego na terenie Grupowej Oczyszczalni Ścieków w Chrzanowie. *Polish J. Agronomy* 20, 3-8.
- PATENTALAKIS N., PANTIDOU A., KALOGERAKIS N., 2008. Determination of Enterobacteria in Air and Wastewater Samples from a Wastewater Treatment Plant by Epi-Fluorescence Microscopy. *Water Air Soil Pollut. Focus* 8, 107-115.
- PN -89/Z-04008/08, 1989. Ochrona czystości powietrza. Pobieranie próbek. Pobieranie próbek powietrza atmosferycznego (imisja) do badań mikrobiologicznych metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
- PN -89/Z-04111/01, 1989. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Postanowienia ogólne i zakres normy.
- PN -89/Z-04111/02, 1989. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
- PN -89/Z-04111/03, 1989. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby grzybów mikroskopowych w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną.
- RANALLI G., PRINCIPI P., SORLINI C., 2000. Bacterial aerosol emission from wastewater treatment plants: Culture methods and bio-molecular tools. *Aerobiologia* 16, 39-46.
- SAWYER B., ELENBOGEN G., RAO K. C., O'BRIEN P., ZENZ D. R., LUE-HING C., 1993. Bacterial aerosol emission rates from municipal wastewater aeration tanks. *Appl. Environ. Microb.* 59, 3183-3186.
- SCHAFER M. P., MARTINEZ K. F., MATHEWS E. S., 2003. Rapid detection and determination of the aerodynamic size range of airborne mycobacteria associated with whirlpools. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 18, 41-50.
- SEETHA N., BHARGAVA R., GURJAR B. R., 2013. Gaseous and bioaerosol emissions from municipal wastewater treatment plants. *J. Environ. Sci. Eng.* 55, 517-536.
- SHRAVANTHI M. C., KUMAR N. R., REDDY T. B., 2016. A study on isolation and identification of airborne bacteria at three different sewage treatment plant locations in Visakhapatnam City, A.p. *IJSR* 5, 75-77.
- STEWART I. W., LEAVER G., FUTTER S. J., 1997. The enumeration of aerosolized *Saccharomyces cerevisiae* using bioluminescent assay of total adenylates. *J. Aerosol Sci.* 28, 511-523.
- SZYŁAK-SZYDŁOWSKI M., KULIG A., MIAŚKIEWICZ-PEŃSKA E., 2016. Seasonal changes in the concentrations of airborne bacteria emitted from a large wastewater treatment plant. *Int. Biodegr. Biodegr.* 115, 11-16.
- TEIXEIRA J. V., MIRANDA S., MONTEIRO R. A. R., LOPES F. V. S., MADUREIRA J., SILVA G. V., PESTANA N., PINTO E., VILAR V. J. P., BOAVENTURA R. A. R., 2013. Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environ. Monit. Assess.* 185, 59-72.
- THORN J., BELJER L., JONSSON T., RYLANDER R., 2002. Measurement strategies for the determination of airborne bacterial endotoxin in sewage treatment plants. *Ann. Occup. Hyg.* 46, 549-554.
- THORNE P. S., KIEKHAEFER M. S., WHITTEN P., DOMHAM K. J., 1992. Comparison of Bioaerosol Sampling Methods in Barns Housing Swine. *Appl. Environ. Microb.* 58, 2543-2551.
- TOMASI C., LUPI A., 2017. Primary and secondary sources of atmospheric aerosol. [W:] *Atmospheric aerosols: Life cycles and effects on air quality and climate*. TOMASI C., FUZZI S., KOKHANOVSKY A. (red.). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1-86.
- UHRBRAND K., SCHULTZ A. C., KOIVISTO A. J., NIELSEN U., MADSEN A. M., 2017. Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant. *Water Res.* 112, 110-119.
- VANTARAKIS A., PAPARRODOPOULOS S., KOKKINOS P., VANTARAKIS G., FRAGOU K., DETORAKIS I., 2016. Impact on the quality of life when living close to a municipal wastewater treatment plant. *J. Environ. Public Health*, ID 8467023.
- VÍTEZOVÁ M., VÍTEZ T., MLEJNKOVÁ H., LOSÁK T., 2012. Microbial contamination of the air at the wastewater treatment plant. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.* 60, 233-239.
- WANG Y., LI L., HAN Y., LIU J., YANG K., 2018. Intestinal bacteria in bioaerosols and factors affecting their survival in two oxidation ditch process municipal wastewater treatment plants located in different regions. *Ecotox. Environ. Safe.* 154, 162-170.
- WILLIAMS R. H., WARD E., MCCARTNEY H. A., 2001. Methods for integrated air sampling and DNA analysis for detection of airborne fungal spores. *Appl. Environ. Microb.* 67, 2453-2459.
- WLĄZŁO A., PASTUSZKA J. S., ŁUDZEŃ-IZBIŃSKA B., 2002. Ocena narażenia na aerol bakteryjny pracowników niedużej oczyszczalni ścieków. *Med. Pracy* 53, 109-114.
- YAO M., MAINELIS G., 2006. Investigation of Cut-Off Sizes and Collection Efficiencies of Portable Microbial Samplers. *Aerosol Sci. Technol.* 40, 595-606.
- ZENG Q. Y., WESTERMARK S. O., RASMUSON-LESTANDER A., WANG X. R., 2004. Detection and quantification of *Wallemia sebi* in aerosols by realtime PCR, conventional PCR, and cultivation. *Appl. Environ. Microb.* 70, 7295-7302.

KOSMOS Vol. 68, 3, 475–487, 2019

MICHAŁ MICHAŁKIEWICZ

*Poznań University of Technology, Institute of Environmental Engineering, 4 Berdychowo Str., 61-138 Poznań,
E-mail: Michał.Michalkiewicz@put.poznan.pl*

METHODS FOR EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF AIR – A LITERATURE REVIEW

Summary

This study presents the fundamental methods used for sampling and study of bioaerosols emitted to the atmosphere near wastewater treatment plants. Particular attention was paid to the literature reviews, which cite numerous reports regarding microbiological contamination of air on the area of wastewater treatment plants and in their vicinity. Due to the fact that each method of air sampling is different, it is challenging to compare the results obtained by different authors who study air using different methods. Currently, the most common are volumetric methods of air sampling. In the available literature there are reports on the use of various media for the cultivation of the same microorganisms. In the attached tables lists the studied groups of microorganisms, the used media, temperature and time of cultivation as well as the authors of reports, which discuss these cultivation methods. The reason for such situation is usually associated with the lack of standardized regulations applicable in specific countries, in all countries or e.g. within the European Union, which would allow for an equal evaluation of microbial air contamination.

Key words: air sampling, bioaerosol studies, bioaerosols, medium, wastewater treatment plants