



## **Mikrobiologiczna jakość powietrza w klimatyzowanych samochodach osobowych**

*Małgorzata Gołofit-Szymczak, Agata Stobnicka-Kupiec*  
*Centralny Instytut Ochrony Pracy*  
*– Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa*

### **1. Wstęp**

Transport drogowy jest na świecie najbardziej powszechnym środkiem komunikacyjnym. Liczba zarejestrowanych samochodów osobowych w Polsce w dniu 31 grudnia 2016 r. wynosiła 21,7 mln i była większa o 4,6% niż w 2015 r. Na 1000 mieszkańców Polski przypadały w 2016 r. 564 samochody. Przeciętne zatrudnienie na podstawie stosunku pracy w transporcie w sektorze publicznym wynosiło w Polsce w 2016 r. 153,2 tys. osób, natomiast w sektorze prywatnym 405,8 tys. osób (European Vehicle Market Statistics 2016, GUS 2017).

Codziennie tysiące ludzi spędza wiele godzin w różnego typu pojazdach samochodowych (np. samochodach prywatnych, taksówkach, autobusach lub ciężarówkach). Zawodowi kierowcy (np. kierowcy taksówek lub ciężarówek) spędzają w swoich pojazdach średnio 8 godzin dziennie (Holmer i in. 1995, Jo i Lee 2008, Vonberg i in. 2010).

W celu zwiększenia komfortu użytkowania, samochody wyposażane są w instalacje klimatyzacyjne. Systematycznie obserwuje się wzrost liczby samochodów osobowych wyposażonych w instalację klimatyzacyjną. Wśród modeli wyprodukowanych przed 2000 r., samochody z klimatyzacją stanowiły niespełna 50%, natomiast wśród modeli młodszych ten odsetek jest zdecydowanie większy w roku 2013 wynosił 74%.

Sprawnie działający system klimatyzacji samochodowej gwarantuje komfort kierowcy i pasażera, zapewniając np. chłodne powietrze w okresie letnim, a także ochronę przed zanieczyszczonymi cząstkami stałymi powietrzem zewnętrznym (Lee i Jo 2005, Jo i Lee 2008).

W samochodowych instalacjach klimatyzacyjnych panują zazwyczaj sprzyjające warunki do rozwoju szkodliwych czynników biologicznych (głównie bakterii i grzybów) stwarzane dzięki powierzchniom zanieczyszczonym cząstkami pyłu lub zwiększonej wilgotności powodowanej przez przewody klimatyzacyjne o małej średnicy, filtry powietrza, chłodnice powietrza, itp. W miarę wydłużenia się okresu eksploatacji, samochodowe instalacje klimatyzacyjne mogą stanowić źródło niepożądanego skażenia powietrza patogennymi drobnoustrojami. Część zanieczyszczeń mikrobiologicznych zdeponowanych jako biofilm w przewodach klimatyzacyjnych wraz ze strumieniem płynącego powietrza może ulec rozproszaniu zarówno po innych elementach instalacji, jak i kabinie samochodowej (Simmons i in. 1997, Li i in. 2013).

W tym kontekście, celem niniejszej pracy było określenie wielkości narażenia użytkowników samochodów osobowych na szkodliwe czynniki mikrobiologiczne w kabinach samochodów osobowych wyposażonych w instalacje klimatyzacyjne.

## **2. Materiały i metody**

### **2.1. Pomiar i analiza bioaerozoli**

Badania przeprowadzono w 35 losowo wybranych samochodach osobowych, wyposażonych w instalacje klimatyzacyjne.

Badane pojazdy były wyposażone w 2 typy instalacji klimatyzacyjnych:

- klimatyzację manualną – jednostrefową,
- klimatyzację automatyczną – jedno-, dwu- lub czterostrefową.

We wszystkich badanych pojazdach ustawiono temperaturę wewnątrz kabiny na 23°C.

Szczegółową charakterystykę pojazdów, z podaniem typu nadwozia, roku produkcji i przebiegu, rodzaju klimatyzacji oraz tapicerki, przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Charakterystyka badanych samochodów**Table 1.** Characteristics of the studied cars

Nr	Typ nadwozia	Rok produkcji	Przebieg [km]	Rodzaj systemu klimatyzacyjnego	Rodzaj tapicerki
1	SUV	2014	200	Automatyczna, 4-strefowa	skóra
2	Sedan	2013	48.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
3	Sedan	2010	48.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
4	Sedan	2013	54.000	Manualna	tkanina
5	Sedan	2012	56.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
6	Sedan	2010	77.001	Automatyczna, 1-strefowa	skóra
7	Sedan	2013	87.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
8	SUV	2012	98.000	Automatyczna, 4-strefowa	skóra
9	Sedan	2014	98.056	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
10	Sedan	2010	98.500	Manualna	tkanina
11	SUV	2011	114.000	Automatyczna, 4-strefowa	skóra
12	Sedan	2007	119.011	Manualna	skóra
13	Sedan	2010	120.000	Manualna	tkanina
14	Kombi	2006	128.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
15	Sedan	2012	130.112	Automatyczna, 1-strefowa	tkanina
16	SUV	2011	135.765	Automatyczna, 2-strefowa	skóra
17	Sedan	2013	141.554	Automatyczna, 4-strefowa	tkanina
18	Kombi	2009	143.800	Manualna	tkanina
19	Sedan	2008	153.357	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina

Tabela 1. cd.

Table 1. cont.

Nr	Typ nadwozia	Rok produkcji	Przebieg [km]	Rodzaj systemu klimatyzacyjnego	Rodzaj tapicerki
20	Kombi	2015	165.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
21	Sedan	2005	176.255	Automatyczna, 1-strefowa	tkanina
22	Sedan	2009	175.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
23	Kombi	2011	176.990	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
24	Sedan	2007	189.000	Automatyczna, 1-strefowa	tkanina
25	Kombi	2004	203.898	Automatyczna, 1-strefowa	tkanina
26	Kombi	2005	210.140	Automatyczna, 4-strefowa	skóra
27	Sedan	2006	218.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
28	SUV	2007	218.334	Automatyczna, 4-strefowa	skóra
29	Sedan	2007	220.400	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
30	SUV	2004	237.012	Automatyczna, 4-strefowa	skóra
31	Kombi	2005	248.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
32	Sedan	2007	264.335	Automatyczna, 2-strefowa	skóra
33	Sedan	2005	270.000	Automatyczna, 2-strefowa	tkanina
34	Kombi	2001	303.898	Automatyczna, 1-strefowa	tkanina
35	Sedan	2008	310.257	Automatyczna, 1-strefowa	tkanina

Próbki powietrza pobierano stacjonarnie, metodą wolumetryczną, przy zastosowaniu 6-stopniowego impaktora Andersena (model WES-710, Westech Instrument, Wielka Brytania). Powierzchnie wychwytu w impaktorze stanowiły standardowe szalki Petriego o średnicy 90 mm wypełnione odpowiednim podłożem mikrobiologicznym. Prędkość przepływu strugi powietrza na wejściu do pompy zestawu pomiarowego wynosiła  $28,3 \text{ dm}^3/\text{min}$ . W badaniach zastosowano 5-minutowy czas aspiracji, a objętość pobranej przez impaktor próbki powietrza wynosiła każdorazowo  $0,1415 \text{ m}^3$ .

Zaletą tego typu impaktora jest możliwość oznaczania różnych frakcji bioaerozoli, penetrujących poszczególne odcinki układu oddechowego człowieka. Od średnicy aerodynamicznej cząstki, poruszającej się w strudze powietrza w drogach oddechowych, zależy punkt jej teoretycznej maksymalnej głębokości penetracji, tj. do jakiego piętra układu oddechowego ona dotrze (Spengler i Wilson 1996). I tak, cząstki o średnicy aerodynamicznej:

- a) poniżej  $0,65 \mu\text{m}$  docierają do rejonu pęcherzyków płucnych,
- b)  $0,65\text{-}1,1 \mu\text{m}$  docierają do rejonu oskrzelików płucnych,
- c)  $1,1\text{-}2,1 \mu\text{m}$  docierają do rejonu oskrzelików końcowych,
- d)  $2,1\text{-}3,3 \mu\text{m}$  docierają do rejonu oskrzeli drugorzędowych,
- e)  $3,3\text{-}4,7 \mu\text{m}$  docierają do rejonu tchawicy i oskrzeli pierwszorzędowych,
- f)  $4,7\text{-}7 \mu\text{m}$  docierają do rejonu gardła,
- g)  $7\text{-}11 \mu\text{m}$  penetrują kanały jamy nosowej,
- h) powyżej  $11 \mu\text{m}$  praktycznie nie penetrują w głąb układu oddechowego.

Impaktor ustawiano między przednimi fotelami kierowcy i pasażera, na wysokości ok. 1 m nad powierzchnią podłogi tak, by znajdował się na wysokości strefy oddechowej człowieka.

Próbki bioaerozolu pobierano w jednej turze pomiarowej, w czasie trwania umownie przyjętego sezonu „letniego” (6-miesięczny okres od kwietnia do września, o średniej temperaturze powietrza zewnętrznego powyżej  $10^\circ\text{C}$  utrzymującej się przez co najmniej 7 dni).

Dla wyznaczenia „tła zewnętrznego” badano bioaerozol pobrany w środowisku atmosferycznym miast – na zewnątrz warsztatów samochodowych w których przeprowadzano badania.

W celu pobrania próbek aerozoli bakteryjnego i grzybowego zastosowano następujące podłoża mikrobiologiczne, odpowiednio, agar tryptozowo-sojowy (Tryptcase Soy Agar – TSA, bioMérieux SA, Marcy l’Etoile, Francja) z 5% dodatkiem odwłóknionej krwi baraniej oraz agar słodowy (Malt Extract Agar – MEA, Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy). Warunki inkubacji mikrobiologicznych próbek powietrza dla badanych grup mikroorganizmów przedstawiały się następująco: bakterie mezofilne: 1 dzień (37°C) + 3 dni (22°C) + 3 dni (4°C), grzyby: 4 dni (30°C) + 4 dni (22°C) (Jensen i Schafer 1998). Stężenie żywych mikroorganizmów było wyrażane jako liczba jednostek tworzących kolonie (jtk), obecnych w 1 m<sup>3</sup> pobranego powietrza (jtk/m<sup>3</sup>).

Analizę aerozolu bakteryjnego oparto na obserwacji makro- i mikroskopowej oraz charakterystyce cech fizjologicznych i biochemicznych wyizolowanych drobnoustrojów. Do identyfikacji bakterii zastosowano zestawy mikrotestów API (bioMérieux SA). Identyfikacji grzybów dokonano na podstawie obserwacji makro- i mikroskopowych cech kolonii prowadzonych w oparciu o klucze taksonomiczne (Samson i in. 2004). Do identyfikacji drożdży zastosowano szereg biochemiczny API AUX (bioMérieux SA).

Przynależność gatunkowa dominujących bakterii oraz grzybów zidentyfikowanych przy zastosowaniu metod biochemicznych i mikroskopowych, została potwierdzona metodami biologii molekularnej. DNA wyizolowano z czystych kultur bakterii lub grzybów, przy użyciu zestawu, QIamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Niemcy) lub Fungi DNA Mini Kit (SynGen Biotech, Polska). Wyizolowany DNA zastosowano jako matrycę w reakcji PCR przy użyciu zestawu starterów, w przypadku bakterii BAK11w(5'-AGTTTGATCMTGGCTCAG-3') i BAK2(5'-GGACTACHAGGGTATCTAAT-3'), natomiast w przypadku grzybów ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') i ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Bosshard i in. 2006). Zamplifikowany produkt PCR oczyszczono, zsekwencjonowano za pomocą analizatora genetycznego ABI3730 (Applied Biosystems, Waltham, USA) i porównano z bazą danych banku genetycznego (National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, USA) stosując algorytm BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Osiągnięto od 99% do 100% podobieństwa sekwencji analizowanych fragmentów do sekwencji umieszczonych w bazie Gene Bank.

Równoległe z pomiarami bioaerozolu rejestrowano wartości wilgotności względnej i temperatury powietrza za pomocą termohigrometru (Conrad Electronic GmbH, Niemcy).

## 2.2. Analiza statystyczna

Uzyskane dane pomiarowe opracowano statystycznie w oparciu o test Kruskala-Wallis'a, test U Manna-Whitney'a oraz analizę korelacji Spearman'a z wykorzystaniem komputerowy program *Statistica data analysis software system*, wersja 7.1 – 2006, przyjmując za znamienne statystycznie wartości  $p < 0,05$ .

## 3. Wyniki i dyskusja

### 3.1. Analiza ilościowa aerozoli bakteryjnych i grzybowych

Średnie wartości stężeń aerozoli bakteryjnych i grzybowych we wnętrzu badanych kabin samochodów osobowych oraz tle zewnętrznym przedstawiono w tabeli 2.

Średnie wartości stężenia aerozoli bakteryjnego i grzybowego wyznaczone w kabinach samochodów osobowych klimatyzacji wynosiły  $6,2 \cdot 10^2$  jtk/m<sup>3</sup> dla bakterii i  $2,2 \cdot 10^2$  jtk/m<sup>3</sup> dla grzybów.

Obserwowane wartości stężeń bioaerozoli potwierdzają dane piśmiennictwa przedmiotu. Jak podają Vonberga i in. (2010) wskazują, że średnie stężenia mikroorganizmów w powietrzu w samochodach z systemem klimatyzacyjnym wynosiły  $2,0 \cdot 10^2$  jtk/m<sup>3</sup>. Na zbliżonym poziomie wartości stężeń odnotował również Jo i Lee (2008) analizując bioaerozole w samochodach osobowych.

Porównanie wyników pomiarów stężeń bakterii i grzybów w badanych samochodach wykazało, znamienne statystycznie różnice pomiędzy badanymi pojazdami (test Kruskala-Wallisa:  $p < 0,001$ ).

**Tabela 2.** Liczba bakterii i grzybów w badanych samochodach oraz w tle zewnętrznym (wartości średnie i odchylenie standardowe SD)  
**Table 2.** Bacterial and fungal concentrations in studied cars and in the background (average concentration and standard deviation SD)

Nr	Średnie stężenie bakterii [·10 <sup>2</sup> jtk/m <sup>3</sup> ] ± SD	Średnie stężenie grzybów [·10 <sup>2</sup> jtk/m <sup>3</sup> ] ± SD
1	0,75* ± 0,2	0,4* ± 0,3
2	1,2 ± 0,4	0,9 ± 0,4
3	2,1 ± 0,22	1,1 ± 0,7
4	1,7 ± 0,3	1,1 ± 0,7
5	2,7* ± 0,1	1,2* ± 0,3
6	3,2 ± 0,4	1,6 ± 0,1
7	3,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1
8	3,8 ± 0,9	1,6 ± 0,3
9	3,1 ± 0,8	1,2 ± 0,2
10	2,9 ± 0,4	1,8 ± 0,1
11	5,1* ± 0,4	1,9* ± 0,1
12	4,9 ± 0,9	2,3 ± 0,4
13	4,6 ± 0,4	2,5 ± 0,1
14	4,3 ± 0,8	1,7 ± 0,4
15	7,9 ± 2,5	1,8 ± 0,3
16	5,8* ± 0,4	1,7* ± 0,2
17	6,1 ± 0,8	1,7 ± 0,01
18	8,1 ± 2,9	0,8 ± 0,3
19	2,3 ± 0,3	3,9 ± 0,2
20	5,9 ± 1,2	2,3 ± 0,5
21	8,2 ± 1,2	2,9 ± 1,1
22	8,4 ± 2,3	3,2 ± 0,8
23	6,7 ± 0,8	1,3 ± 0,3
24	6,4 ± 0,4	1,8 ± 0,3
25	2,8 ± 1,0	1,9 ± 0,1
26	10,5 ± 3,5	4,2 ± 1,0
27	8,0 ± 1,0	3,2 ± 0,4
28	3,1 ± 0,4	2,2 ± 0,3



Tabela 2. cd.

Table 2. cont.

Nr	Średnie stężenie bakterii [ $\cdot 10^2$ jtk/m <sup>3</sup> ] $\pm$ SD	Średnie stężenie grzybów [ $\times 10^2$ jtk/m <sup>3</sup> ] $\pm$ SD
29	9,4 $\pm$ 3,8	1,6 $\pm$ 0,6
30	9,0 $\pm$ 4,2	0,9 $\pm$ 1,1
31	9,9 $\pm$ 1,2	2,8 $\pm$ 0,6
32	9,7 $\pm$ 1,5	2,9 $\pm$ 1,2
33	18,0 $\pm$ 5,7	4,4 $\pm$ 0,5
34	20,3* $\pm$ 0,6	4,2* $\pm$ 0,6
35	9,9 $\pm$ 1,0	5,1 $\pm$ 0,5
Tłło zewnętrzne		
	1,9** $\pm$ 0,1	2,9** $\pm$ 0,6

\* Test Kruskala-Wallisa:  $p < 0,001$

\*\* Test Manna-Whitneya:  $p < 0,05$

Posługując się współczynnikiem korelacji Spearmana dokonano oceny wpływu liczby przejechanych kilometrów, typu klimatyzacji (1-, 2-, 4 - strefowa i manualna), rodzaju karoserii (SUV, sedan, kombi) oraz rodzaju tapicerki (tkanina, skóra), na stężenia aerozolu bakteryjnego i grzybowego w powietrzu badanych pojazdów. Na podstawie wyników przeprowadzonej analizy stwierdzono, że liczba przejechanych kilometrów determinowała w sposób znaczący wielkości obserwowanych stężeń aerozoli bakteryjnego i grzybowego (w obu przypadkach  $p < 0,001$ ). Wraz ze wzrostem liczby przejechanych kilometrów obserwowano wzrost stężenia aerozolu bakteryjnego i grzybowego w badanych pojazdach. Najniższe stężenia bioaerozoli obserwowano w samochodzie nr 1. Pojazd ten był najnowszym samochodem o najmniejszej liczbie przejechanych kilometrów (egzemplarz demonstracyjny w salonie). Najwyższe stężenia bioaerozoli odnotowano w samochodzie nr 34, był to pojazd z największą liczbą przejechanych kilometrów. Obserwowano również istotny wpływ typ nadwozia na stężenie bakterii w powietrzu badanych pojazdów ( $p < 0,05$ ). W samochodach o typie karoserii SUV obserwowano niższe stężenie bakterii niż w pojazdach typu sedan i kombi. Nie odnotowano tego rodzaju różnic w przypadku stężenia grzybów.

Na podstawie wyników przeprowadzonej analizy (analiza korelacji Spearmana) stwierdzono, że typ klimatyzacji oraz rodzaj tapicerki nie determinowały w sposób znaczący wielkości obserwowanych stężeń aerozolu bakteryjnego i grzybowego w badanych pojazdach.

Porównanie średnich wyników pomiarów stężeń mikroorganizmów dla tła zewnętrznego i wnętrza kabin samochodowych, wykazało, że stężenia aerozolu grzybowego w tle zewnętrznym były znamienne wyższe od wartości stężeń obserwowanych w kabinach samochodowych (test Manna-Whitneya:  $p < 0,05$ ). Wartości stężeń aerozolu bakteryjnego wyznaczone we wnętrzu kabin samochodowych były znacząco wyższe od wartości stężeń zmierzonych dla tła zewnętrznego (test Manna-Whitneya:  $p < 0,05$ ).

Interpretacja wyników pomiarów bioaerozoli we wnętrzu samochodów osobowych jest utrudniona z uwagi na brak powszechnie uznanych wartości normatywnych lub referencyjnych. Oznaczanie stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza wyrażonego liczbą jednostek tworzących kolonie (jtk) w  $1 \text{ m}^3$  powietrza, jest jak dotąd najlepszą znaną i najczęściej stosowaną miarą określającą narażenie na szkodliwe czynniki biologiczne. W ocenie higienicznej badanych stanowisk w pojazdach posłużono się klasyfikacją dopuszczalnych stężeń mikroorganizmów zaproponowaną przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy – tabela 3. Klasyfikacja ta określa wartości dopuszczalnych stężeń mikroorganizmów i endotoksyny w powietrzu w oparciu o wyniki pomiarów wolumetrycznych bioaerozoli (Górny i in. 2011).

Zgodnie z propozycją dopuszczalnych stężeń drobnoustrojów w powietrzu według Zespołu Ekspertów ds. Czynników Biologicznych na stanowiskach pomiarowych w badanych samochodach osobowych nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnych stężeń mikroorganizmów w powietrzu ustalonych dla pomieszczeń użyteczności publicznej.

**Tabela 3.** Polskie propozycje dopuszczalnych stężeń drobnoustrojów w powietrzu (Górny 2016)

**Table 3.** Polish Proposals of Threshold Limit Values for Bioaerosols

Czynnik mikrobiologiczny	Pomieszczenia robocze zanieczyszczone pyłem organicznym	Pomieszczenia mieszkalne i użyteczności publicznej
Bakterie mezofilne	100000 jtk/m <sup>3</sup>	5000 jtk/m <sup>3</sup>
Bakterie Gram-ujemne	20000 jtk/m <sup>3</sup>	200 jtk/m <sup>3</sup>
Termofilne promieniowce	20000 jtk/m <sup>3</sup>	200 jtk/m <sup>3</sup>
Grzyby	50000 jtk/m <sup>3</sup>	5000 jtk/m <sup>3</sup>
Czynniki z grupy 3. i 4. zagrożenia	0 jtk/m <sup>3</sup>	0 jtk/m <sup>3</sup>

jtk – jednostka tworząca kolonie  
cfu – colony-forming unit

W celu zmniejszenia narażenia użytkowników pojazdów samochodowa instalacja klimatyzacyjna powinna być systematycznie serwisowana. Regularnie – co najmniej jeden raz w roku, należy wymieniać filtr kabinowy, czyścić i dezynfekować kanały dystrybucji powietrza do wnętrza kabiny, parownik, wloty powietrza umieszczone na zewnątrz pojazdu oraz kontrolować drożność kanału odprowadzającego skropliny z parownika instalacji klimatyzacyjnej (Schmidt 2014).

### 3.2. Analiza jakościowa aerozoli bakteryjnego i grzybowego

Identyfikacja jakościowa mikroorganizmów wykazała, że najliczniejszą ich część stanowiły ziarniaki Gram-dodatnie (40-60% całości wyizolowanej mikrobioty powietrza). Kolejnymi pod względem liczebności grupami mikroorganizmów były grzyby pleśniowe (20-32%), laseczki Gram-dodatnie wytwarzające przetrwalniki (9-30%), grzyby drożdżoidalne (0-6%) oraz nieprzetrwalnikujące pałeczki Gram-dodatnie (0-5%). Mezofilne promieniowce stanowiły najmniej liczną grupę: 0-3% całości mikrobioty.

Wyniki analizy jakościowej mikroorganizmów wyizolowanych z powietrza w badanych pojazdach oraz tle zewnętrznym przedstawiono w tabeli 4.

**Tabela 4.** Rodzaje i gatunki bakterii i grzybów wyizolowane z powietrza w badanych samochodach

**Table 4.** Bacterial and fungal genera and species isolated from the air in studied cars

Ziarniaki Gram-dodatnie
<i>Aerococcus urinae</i> , <i>Aerococcus</i> spp., <i>Kocuria</i> ( <i>K. rosea</i> , <i>K. varians</i> , <i>K. spp.</i> ), <i>Micrococcus</i> ( <i>M. luteus</i> , <i>M. roseus</i> ), <i>Staphylococcus</i> ( <i>S. auricularis</i> , <i>S. cohnii</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. warneri</i> )
Pałeczki Gram-dodatnie nieprzetrwalnikujące
<i>Corynebacterium</i> spp., <i>Microbacterium</i> spp., <i>Micromonospora</i> spp., <i>Rhodococcus</i> spp.
Laseczki Gram-dodatnie wytwarzające przetrwalniki
<i>Bacillus</i> ( <i>B. cereus</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. mycoides</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. sphaericus</i> , <i>B. subtilis</i> *, <i>B. thuringiensis</i> *, <i>B. spp.</i> )
Mezofilne promieniowce
<i>Thermomonospora</i> spp.
Grzyby pleśniowe
<i>Acremonium strictum</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus</i> ( <i>A. candidus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. clavatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> *, <i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. sydowii</i> ), <i>Botrytis</i> spp., <i>Culvularia geniculata</i> , <i>Chaetomium</i> spp., <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Doratomyces</i> spp., <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Mucor</i> spp., <i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Penicillium</i> ( <i>P. brevicompactum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. citreonigrum</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. spp.</i> ) <i>Phoma</i> spp., <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Ulocladium</i> spp.
Drożdże
<i>Candida famata</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Geotrichum candidum</i>

\* Mikroorganizmy zakwalifikowane do grupy 2. zagrożenia według rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r.

W badanych próbkach zidentyfikowano 25 gatunków bakterii należących do 10 rodzajów oraz 30 gatunków grzybów należących do 18 rodzajów. Wśród zidentyfikowanych bakterii najczęściej izolowano ziarniaki Gram-dodatnie z rodzaju *Staphylococcus*, *Kocuria* i *Micrococcus*. Szczepy należące do powyższych rodzajów wchodzą w skład naturalnej

mikrobioty człowieka, jak również powszechnie występują w środowisku zewnętrznym. Należy jednak zaznaczyć, że bakterie z rodzaju *Staphylococcus* mogą być niebezpieczne dla osób z obniżoną odpornością i powodować różnego rodzaju zakażenia (m.in. wsierdza, układu moczowego, ran). Laseczki Gram-dodatnie przetrwalnikujące reprezentowane były przez rodzaj *Bacillus*, w obrębie którego zidentyfikowano *Bacillus subtilis* oraz *Bacillus thuringiensis* należący do grupy 2. zagrożenia. Enzymy proteolityczne (subtilizyna) wydzielane przez bakterie powyższych gatunków są odpowiedzialne za wywoływanie alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych (alveolitis allergica) i innych chorób alergicznych.

Mykobiota na badanych stanowiskach została zdominowana przez grzyby pleśniowe. Wśród pleśni dominowały szczepy z rodzajów: *Acremonium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* oraz *Aspergillus*. Wśród grzybów drożdżoidalnych zidentyfikowano łącznie przedstawicieli 3 rodzajów (*Cryptococcus*, *Candida* i *Geotrichum*). Grzyby pleśniowe występując w powietrzu nawet w niskich stężeniach mogą stać się przyczyną wielu niekorzystnych skutków zdrowotnych, np. chorób o podłożu alergicznym, astmy oskrzelowej, alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych, alergii skórnych czy podrażnień.

Gatunkowo wśród grzybów najliczniej reprezentowane były pleśnie z rodzajów *Aspergillus* (8 gatunków) i *Penicillium* (6 gatunków).

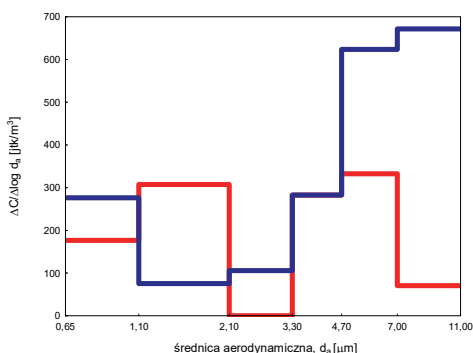
Otrzymane wyniki potwierdzają dane piśmiennictwa przedmiotu, w których spotykane są dość licznie prace charakteryzujące zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza w samochodach osobowych wyposażonych w instalacje klimatyzacyjne. Z ich analizy wynika, że wśród bakterii najczęściej izolowane są gatunki z rodzajów: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Legionella* i *Stenotrophomonas*, a wśród grzybów gatunki z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Alternaria* i *Cladosporium* (Vonberg i in. 2010, Sattar i in. 2016, Stephenson i in. 2014).

### 3.3. Analiza rozkładów ziarnowych

Zastosowanie w badaniach bioaerozolu 6-stopniowego impaktora Andersena pozwoliło na uzyskanie danych o rozkładzie ziarnowym mikroorganizmów. Rozkłady te, przy jednoczesnym uwzględnieniu naturalnych rozmiarów dominujących w powietrzu grup bakterii i grzybów,

pozwołyły na prognozę ich potencjalnej głębokości penetracji układu oddechowego człowieka.

Rysunek 1 przedstawia rozkłady ziarnowe aerozolu bakteryjnego i grzybowego w badanych samochodach. Na podstawie analizy przebiegu krzywych rozkładu ziarnowego aerozolu bakteryjnego, można stwierdzić, że stężenia mikroorganizmów były najwyższe w zakresie średnic 0,65-2,1  $\mu\text{m}$  oraz 3,3-7  $\mu\text{m}$ , co wskazuje, na występowanie drobnoustrojów jako samodzielnych komórek oraz różnej wielkości agregatów uformowanych zarówno z komórek bakteryjnych, jak i z tychże połączonych z cząstkami aerozolu ziarnistego. W przebiegu krzywych rozkładu ziarnowego aerozolu grzybowego, obserwowano istotny wzrost stężeń cząstek dla frakcji 0,65-1,1  $\mu\text{m}$  oraz powyżej 4,7  $\mu\text{m}$ , co wskazuje, że występowały one w formie w postaci pojedynczych spor oraz agregatów grzybowych lub grzybowo-pyłowych ( $p < 0,05$ ).



**Rys. 1.** Rozkłady ziarnowe aerozoli bakteryjnego (—) i grzybowego (—) w badanych samochodach

**Fig. 1.** Size distribution of bacterial (—) and fungal (—) aerosols in studied cars

Na podstawie danych o rozkładach ziarnowych bioaerozoli w badanych samochodach można stwierdzić, że największy „ładunek” mikroorganizmów może dotrzeć w układzie oddechowym człowieka do rejonów: jamy nosowej, gardła, tchawicy, oskrzelików płucnych i oskrzelików końcowych. Interakcja między cząstkami aerozoli, a komórkami organizmu człowieka jest w dużym stopniu zależna od miejsca ich osadzenia się. Cząstki deponowane w rejonie tchawicy mogą wywoływać reakcje w postaci astmatycznej, natomiast te osadzone w dolnych odcinkach dróg oddechowych wywołują reakcje w formie alergicznego zapalenia (Górny i in. 1999).

## Analiza parametrów środowiskowych

Analiza korelacji Spearman'a wykazała brak istotnych statystycznie zależności między stężeniami aerozolu bakteryjnego i grzybowego, a wartościami badanych parametrów mikroklimatycznych powietrza ( $p > 0,05$ ).

## 3. Podsumowanie i wnioski

W samochodowych instalacjach klimatyzacyjnych panują zazwyczaj sprzyjające warunki do rozwoju szkodliwych czynników biologicznych. W miarę wydłużenia się okresu eksploatacji, samochodowe instalacje klimatyzacyjne mogą stanowić źródło skażenia powietrza kabin pojazdów patogennymi drobnoustrojami.

Na podstawie pomiarów czynników biologicznych można stwierdzić, że:

- średnie stężenia aerozolu bakteryjnego i grzybowego wyznaczone w kabinach samochodów osobowych były niskie (poniżej  $10^3$  jtk/m<sup>3</sup>) i nie przekraczały wartości dopuszczalnych stężeń proponowanych dla pomieszczeń użyteczności publicznej;
- mikrobiologiczna jakość powietrza w kabinach samochodów osobowych zależy od liczby przejechanych kilometrów oraz od typu nadwozia. Wraz ze wzrostem liczby przejechanych kilometrów obserwowano wzrost stężenia aerozolu bakteryjnego i grzybowego. W samochodach o typie karoserii SUV obserwowano niższe stężenie bakterii niż w pojazdach sedan i kombi.
- analiza jakościowa mikroorganizmów izolowanych z powietrza badanych samochodów wykazała dominację ziarniaków Gram-dodatnich z rodzajów *Staphylococcus*, *Micrococcus* i *Kocuria*, przetrwalnikujących laseczek z rodzaju *Bacillus* oraz grzybów pleśniowych z rodzajów *Acremonium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* i *Cladosporium*. W badanych pojazdach, wśród wyizolowanych drobnoustrojów stwierdzono obecność bakterii i grzybów pleśniowych zakwalifikowanych według rozporządzenia Ministra Zdrowia do grupy 2. zagrożenia, czyli takich, które mogą wywoływać choroby u ludzi, mogą być niebezpieczne dla pracowników. Wskazuje to, że ich użytkownicy mogą być narażeni na kontakt z biologicznymi czynnikami zagrożenia zawodowego.

- analiza rozkładów ziarnowych bioaerozoli w badanych grupach pojazdów wykazała, że największy „ładunek” mikroorganizmów może dotrzeć w układzie oddechowym człowieka do rejonów: gardła, tchawicy, oskrzeli płucnych i oskrzelików końcowych. Może to wśród narażonych na bioaerozol użytkowników samochodów być przyczyną niekorzystnych efektów zdrowotnych manifestujących się podrażnieniami nosa, oczu oraz wystąpieniem reakcji typu astmatycznego lub alergicznego zapalenia.

*Publikacja przygotowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach IV etapu programu wieloletniego pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” dofinansowanego w latach 2017-2019 w zakresie służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej.*

*Główny koordynator: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy (projekt Nr 2.G.09).*

## Literatura

- Bosshard, P.P., Zbinden, R., Abels, S., Böddinghaus, B., Altwegg, M., Böttger, E.C. (2006). 16S rRNA Gene Sequencing versus the API 20 NE System and the VITEK 2 ID-GNB Card for Identification of Nonfermenting Gram-Negative Bacteria in the Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol. Apr, 44(4)*, 1359-1366.
- European Vehicle Market Statistics. Pocketbook 2015/16. (2016). Berlin, International Council on Clean Transportation Europe.
- Górny, R.L., Dutkiewicz, J., Krysińska-Traczyk, E. (1999). Size distribution of bacterial and fungal bioaerosols in indoor air. *Ann Agric Environ Medicine*, 6, 105-13.
- Górny, R.L. (2016). *Szkodliwe czynniki biologiczne*. W: Augustyńska D., Pośniak M. [red.] *Szkodliwe czynniki biologiczne Międzyresortowa Komisja ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy: Czynniki szkodliwe w środowisku pracy - Wartości dopuszczalne*. CIOP-PIB, Warszawa.
- Holmer, I., Nilsson, H., Bohm, M., Noren, O. (1995). Thermal aspects of vehicle comfort. *Applied Human Science*, 14, 159-165.
- Jensen, P.A., Schafer, M.P. (1998). *Sampling and characterization of bioaerosols. NIOSH manual of analytical methods*. Atlanta: National Institute for Occupational Safety and Health.



- Jo, W.K., Lee, J.H. (2008). Airborne fungal and bacterial levels associated with the use of automobile air conditioners or heaters, room air conditioners, and humidifiers. *Archives of Environmental and Occupational Health*, 63(3), 101-107.
- Lee, J.H., Jo, W.K. (2005). Exposure to airborne fungi and bacteria while commuting in passenger cars and public buses. *Atmospheric Environment*, 39, 7342-7350.
- Li, J.L., Mingzhen, S., Fangxia, Z.Z., Yao, M., Wu, C.Y. (2013). Characterization of biological aerosol exposure risks from automobile air conditioning system. *Environmental Science and Technology*, 47, 10660-10666.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. (2004). Introduction to food- and airborne fungi. Seventh Edition, Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Sattar, S.A., Wright, K.E., Zargar, B., Rubino, J.R., Khalid, I. (2016). Airborne infectious agents and other pollutants in automobiles for domestic use: potential health impacts and approaches to risk mitigation, *Journal of Environmental and Public Health*, 2016, 1-12.
- Simmons, R.B., Noble, J.A., Rose, L., Price, D.L., Ahearn, D.G. (1997). Fungal colonization of automobile air conditioning systems. *The Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19, 150-153.
- Schmidt, T. (2014) Klimatyzacja samochodowa w praktyce warsztatowej. Wydawnictwa Komunikacji i Łączności Sp. z o.o., Warszawa.
- Spengler, J.D., Wilson, R. (1996). *Emission, dispersion and concentration of particles*. W: Wilson R., Spengler J.D. (Red.): *Particles in our air: concentrations and health effects*. Harvard: Harvard University Press.
- Stephenson, R.E., Gutierrez, D., Peters, C., Nichols, M., Boles, B.R. (2014). Elucidation of bacteria found in car interiors and strategies to reduce the presence of potential pathogens, *Biofouling*, 30(3), 337-346.
- Główny Urząd Statystyczny (2017), Warszawa.
- Vonberg, R.P., Gastmeier, P., Kenneweg, B., Holdack-Janssen, H., Sohr, D., Chaberny, I.F. (2010). The microbiological quality of air improver when using air conditioning systems in cars. *BMC Infectious Diseases*, 10, 146-151.

## Microbial Air Quality in Air-conditioned Passenger Cars

### Abstract

The road transport is the most common means of communication in the world. To improve the comfort, the cars are equipped with air conditioning installation. Automobile air-conditioning systems (AC) may be a source of microbiological contamination of driver's cabs. The aim of this study was to

assessment the level of microbial contamination inside passenger cars. The study was carried out in 35 randomly selected cars equipped with climate control system. The viable (culturable) bioaerosol samples was stationery taken using 6-stage Andersen impactor. Standard Petri dishes filled with blood trypticase soy agar and malt extract agar were used for bacterial and fungal sampling, respectively. All microorganisms isolated from air samples were quantitatively and qualitatively (to genus and/or species level) analyzed.

The bacterial and fungal concentrations in air samples were between  $6,2 \cdot 10^2$  cfu/m<sup>3</sup> and  $2,2 \cdot 10^2$  cfu/m<sup>3</sup>, respectively. Based on the results of this study, it was found that mileage significantly determined the observed concentrations of bacterial and fungal aerosols while the type of air conditioning and the type of upholstery did not significantly determine the observed concentrations of bioaerosols in the studied vehicles. As the number of miles traveled, the increased of concentration of bacterial and fungal aerosols in the tested vehicles were observed.

The use of the 6-stage Andersen impactor in this study allowed for obtaining data on the particle size distribution of aerosols in the studied cars. The size distribution analysis revealed that microorganisms were present in the air mainly as single cells and large aggregates. Based on results the size and distribution of bioaerosol particles, it can be ascertain that bioaerosols present in the studied cars, penetrating the human respiratory tract, may be deposited within the oral and nasal cavities, trachea, secondary bronchi and bronchioles and, by that, may be responsible for nose and eye irritations, asthmatic reactions, and allergic inflammations.

The most prevalent bacterial species in the air of car cabins were Gram-positive cocci (mainly from *Staphylococcus* and *Micrococcus/Kocuria* genera) and endospore-forming Gram-positive rods from *Bacillus* genus. Among the most common fungal representatives were those from *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* genera.

## Streszczenie

Transport drogowy jest najbardziej powszechnym środkiem komunikacyjnym na świecie. W celu zwiększenia komfortu użytkownika, samochody wyposażane są w instalacje klimatyzacyjne. Systemy klimatyzacji samochodowej mogą być źródłem skażenia mikrobiologicznego wnętrza pojazdów.

Celem niniejszego projektu była ocena poziomu mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza w samochodach osobowych.

Badanie przeprowadzono w 35 losowo wybranych samochodach osobowych wyposażonych w układ klimatyzacji. Próbkę bioaerozolu zostały pobrane przy użyciu 6-stopniowego impaktora Andersena. Do celu pobierania

próbek aerozoli bakteryjnego i grzybowego stosowano standardowe szalki Petriego wypełnione, odpowiednio agarem tryptozowo-sojowy z 5% dodatkiem odwłóknionej krwi baraniej oraz agarem słodowy. Wszystkie mikroorganizmy wyizolowane z próbek powietrza były analizowane ilościowo i jakościowo (do poziomu rodzaju i / lub gatunku).

Badanie wykazało, że powietrze w samochodach wyposażonych w instalacje klimatyzacyjne jest zanieczyszczone mikrobiologicznie. Stężenie bakterii i grzybów w próbkach powietrza pobranych we wnętrzu kabin samochodów osobowych wynosiło odpowiednio  $6,2 \cdot 10^2$  jtk/m<sup>3</sup> i  $2,2 \cdot 10^2$  jtk/m<sup>3</sup>. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że liczba przejechanych kilometrów znacząco determinuje obserwowane stężenia aerozoli bakteryjnych i grzybowych, natomiast rodzaj klimatyzacji i rodzaj tapicerki nie wpływają istotnie na obserwowane stężenia bioaerozoli w badanych pojazdach. Wraz ze wzrostem liczby przejechanych kilometrów zaobserwowano zwiększenia stężenia aerozoli bakteryjnych i grzybowych w badanych pojazdach.

Zastosowanie sześciostopniowego impaktora Andersena pozwoliło uzyskać dane o rozkładzie ziarnowym cząstek aerozoli w badanych samochodach osobowych. Analiza rozkładu ziarnowego bioaerozoli wykazała, że mikroorganizmy były obecne w powietrzu głównie jako pojedyncze komórki i duże agregaty.

Na podstawie danych o wielkości cząstek aerozoli bakteryjnych i grzybowych oraz ich potencjalnej depozycji w układzie oddechowym człowieka, można stwierdzić, że bioaerozole obecne w badanych pojazdach, penetrując ludzki układ oddechowy, mogą osadzać się w jamie ustnej i nosowej, w tchawicy, oskrzelach i oskrzelikach płucnych. Może to być przyczyną podrażnienia nosa i gardła, reakcji astmatycznej lub reakcji w postaci alergicznego zapalenia.

Analiza jakościowa mikroorganizmów izolowanych z powietrza badanych samochodów wykazała dominację ziarniaków Gram-dodatnich z rodzajów *Staphylococcus*, *Micrococcus* i *Kocuria*, przetrwalnikujących laseczek z rodzaju *Bacillus* oraz grzybów pleśniowych z rodzajów *Acremonium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* i *Cladosporium*.

**Słowa kluczowe:**

samochody, system klimatyzacyjny, bioaerozol

**Keywords:**

cars, air-conditioning system, bioaerosol