

Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Olsztynie
Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych

10-561 Olsztyn, ul. Żołnierska 16

telefon kontaktowy: (0-89) 524 83 42

e-mail: m.stempniewska@sanepid.olsztyn.pl

Nr zlecenia 51442/2020/113/DG z dnia 14-08-2020

Nr zlecenia 51443/2020/0130/ DMD z dnia 14-08-2020

Nr zlecenia 51444/2020/114/DG z dnia 14-08-2020

Nr zlecenia 51445/02020/0131/DMD z dnia 14-08-2020

TEMAT: OCENA SKUTECZNOŚCI DEZYNFEKCJI POWIETRZA
I POWIERZCHNI METODĄ OZONOWANIA

OBIEKT: WOJEWÓDZKA STACJA SANITARNO-EPIDEMIOLOGICZNA
W OLSZTYNIE
10-561 OLSZTYN
UL. ŻOŁNIERSKA 16

	Imię i nazwisko	Data	Podpis
Opracowali:	mgr Małgorzata Stempniewska	28.08.2020.	STARSZY ASYSTENT <i>[Podpis]</i> mgr Małgorzata Stempniewska

OLSZTYN 28 SIERPIEŃ 2020 r.

Spis treści

1. Wstęp	3
2. Materiały i metody	3
2.2. Metodyka badań odcisków	4
3. Omówienie wyników	4
3.1. Skażenie bakteryjne powietrza	5
3.2. Skażenie bakteryjne powierzchni	6
3.3. Skażenie powietrza grzybami pleśniowymi	8
4. Wnioski	9
5. Literatura	10

1. Wstęp

Ozon jest powstającą w sposób naturalny w przyrodzie trójatomową cząsteczką tlenu. Podobnie jak wszystkie substancje chemiczne, jego rola jest zarówno pozytywna jak i negatywna. Ozon należy do najsilniejszych utleniaczy, co skutkuje ponad tysiącrotnie większą zdolnością do usuwania bakterii, grzybów, pleśni oraz ich przetrwalników w krótszym czasie oraz niższych dawkach od konwencjonalnie stosowanych związków chloru czy fluoru [1]. Cząsteczki ozonu pomimo, że złożone są z atomów tlenu, są toksyczne dla organizmów żywych. Jako, że w warunkach normalnych występuje w formie gazowej, charakteryzuje się również dobrą penetracją. Ze względu na swoją reaktywność bardzo szybko oddziałuje na cząsteczki oraz organizmy znajdujące się w powietrzu oraz na powierzchniach. Dodatkowy atom tlenu przyłącza się do podwójnego wiązania w cząsteczkach nienasyconych związków organicznych, doprowadzając do zmiany ich struktury chemicznej, aby utworzyć molekuły nieofensywne – eliminując zapach. Sprawia to, że ozon wykorzystywany jest również w celu usuwania przykrych zapachów (proces dezodoryzacji). Oczywiście jak każda metoda, również i ozonowanie nie jest pozbawione wad. Jako związek silnie korozyjny, stosowany w zbyt dużym stężeniu oraz przez dłuższy okres czasu może prowadzić do szkodliwych reakcji z niektórymi sztucznymi tworzywami oraz elementami gumowymi (odbarwienie, matowienie, sztywnienie, szybsze zużywanie się elementów). Podczas ww. reakcji chemicznych, w zależności od odorantów występujących w środowisku, może również dochodzić do powstawania toksycznych związków chemicznych (choć zarówno ryzyko jak i ilość powstających toksyn są niższe niż przy stosowaniu innych metod).

Wszystkie te czynniki sprawiają, że ozonowanie musi być wykonywane przez wyspecjalizowane firmy, potrafiące w zależności od sytuacji dobrać odpowiednie stężenie wprowadzanego ozonu oraz czas trwania zabiegu [2]. W ciągu ostatniego wieku ozon znalazł szerokie zastosowanie w dezynfekcji, dezynsekcji, dezodoryzacji, rolnictwie, medycynie i przemyśle [3,4]. Istotną zaletą wykorzystania ozonu do dezynfekcji jest fakt, że jest on generowany na miejscu. Ozon w formie gazowej wykorzystywany jest do dezynfekcji pomieszczeń mieszkalnych, użyteczności publicznej, archiwów czy szpitali. Jest skuteczny przy odgrzybianiu starych zaniedbanych mieszkań czy domów, w których z powodu np. złej wentylacji i dużej wilgotności rozwinęły się grzyby pleśniowe. Mimo bezsprzecznej zdolności do dezodoryzacji brakuje ciągle badań dokumentujących jego zdolności dezynfekcyjne.

W pomieszczeniach Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych Wojewódzkiej Stacji Sanitarnej-Epidemiologicznej w Olsztynie dokonano oceny skuteczności dezynfekcji powietrza i powierzchni metodą ozonowania. Przy ocenie sanitarnej powietrza i powierzchni pomieszczeń zamkniętych istotną rolę odgrywają organizmy wskaźnikowe. Zalicza się do nich grzyby pleśniowe i drożdżopodobne (pochodzące z gleby oraz z substancji organicznych - m. in. szczątki roślinne, czy odpady komunalne) oraz bakterie naturalnie zasiedlające skórę i układ oddechowy człowieka (zwłaszcza gronkowce).

2. Materiały i metody

Badania wykonano w Wojewódzkiej Stacji Sanitarnej-Epidemiologicznej w Olsztynie w Laboratorium Badań Epidemiologiczno-Klinicznych. Do analizy wybrano trzy reprezentatywne pomieszczenia badanego obiektu: Pożywkarnię – Boks do rozlewania pożywek, Chłodnię oraz pomieszczenie laboratoryjne – nr 711.

2.1. Metodyka badań powietrza

Próbki powietrza pobierano w 3 punktach przed dezynfekcją oraz 3 godziny po zakończeniu ozonowania. Próbki powietrza pobierano metodą zderzeniową za pomocą mikrobiologicznego próbnika powietrza MAS-100 firmy Merck (świadcstwo kalibracji nr WO-01708493 z dnia 20.11.2019 r.). W każdym punkcie pobór został wykonany w pięciu powtórzeniach w celu ograniczenia błędów związanych z przypadkowym charakterem rozmieszczenia drobnoustrojów w powietrzu. Objętość aspirowanego powietrza (100 litrów) dostosowano do spodziewanego zanieczyszczenia mikrobiologicznego badanego środowiska. Aparat samoczynnie pobierał określoną objętość powietrza do głowicy aparatu na powierzchnię płytki z odpowiednim podłożem agarowym:

1. Agar tryptozowo-sojowy dla ogólnej liczby bakterii;
2. Sabouraud Dextrose Agar dla ogólnej liczby grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych.

Próbki pobrano zgodnie z Instrukcją I-01/PO-03 „Pobieranie, transport i przechowywanie próbek do badań”. Wszystkie płytki z podłożami poddano inkubacji w temperaturze i czasie odpowiednim dla badanych grup mikroorganizmów zgodnie z Procedurą Badawczą PB-OBP-019 „Pobór, wykrywanie, identyfikacja oraz oznaczanie liczby drobnoustrojów w próbkach środowiskowych”. Po zliczeniu kolonii oraz uwzględnieniu objętości próbki ustalono stężenie mikroorganizmów w jednostkach tworzących kolonie na jeden metr sześcienny powietrza (jtk/m³). Ostateczne wyniki są prawdopodobną całkowitą statystyczną liczbą jednostek tworzących kolonie, uwzględniającą Tablice Poprawek Statystycznych wg Fellera (zgodnie z zaleceniami podanymi w instrukcji obsługi mikrobiologicznego próbnika powietrza MAS). Równoległe z poborem próbek rejestrowano warunki meteorologiczne: temperaturę, wilgotność względną powietrza.

2.2. Metodyka badań odcisków

W celu określenia stopnia zanieczyszczenia powierzchni wyznaczono w badanym obiekcie 5 punktów pomiarowych. Z wybranych powierzchni pobrano odciski wykorzystując komercyjne płytki kontaktowe – TSA LAB-AGAR + Tween + Lethen. Próbki pobrano zgodnie z Instrukcją I-01/PO-03 „Pobieranie, transport i przechowywanie próbek do badań”. Wszystkie płytki z podłożami poddano inkubacji w temperaturze i czasie odpowiednim dla badanych grup mikroorganizmów zgodnie z Procedurą Badawczą PB-OBP-019 „Pobór, wykrywanie, identyfikacja oraz oznaczanie liczby drobnoustrojów w próbkach środowiskowych”. Po zliczeniu wyrosłych kolonii ustalono stężenie organizmów na 25 cm² powierzchni.

3. Omówienie wyników

W tabeli 1 przedstawiono zestawienie warunków mikroklimatycznych w dniu badania. Otrzymane wyniki pomiarów wilgotności świadczą o umiarkowanej zawartości wilgoci w powietrzu atmosferycznym. Z jednej strony zapobiega to powstawaniu ognisk biodeterioracji bakterii i grzybów pleśniowych, z drugiej strony skuteczność procesu ozonowania wzrasta wraz ze względną wilgotnością powietrza.

Tabela 1 Zestawienie pomiarów warunków mikroklimatycznych na stanowiskach pomiarowych przed i po ozonowaniu

Data poboru próbek	Miejsce pobrania próbki	Temperatura (°C)	Wilgotność (%)
14.08.2020 r.	Pożywkarnia - Chłodnia	24,0	47,7
14.08.2020 r.	Pożywkarnia – Boks do rozlewania pożywek	24,0	55,1
14.08.2020 r.	Pokój nr 711	22,4	46,4
Data poboru próbek	Miejsce pobrania próbki	Temperatura (°C)	Wilgotność (%)
14.08.2020 r.	Pożywkarnia - Chłodnia	23,3	54,0
14.08.2020 r.	Pożywkarnia – Boks do rozlewania pożywek	22,9	56,8
14.08.2020 r.	Pokój nr 711	18,6	64,6

3.1. Skażenie bakteryjne powietrza

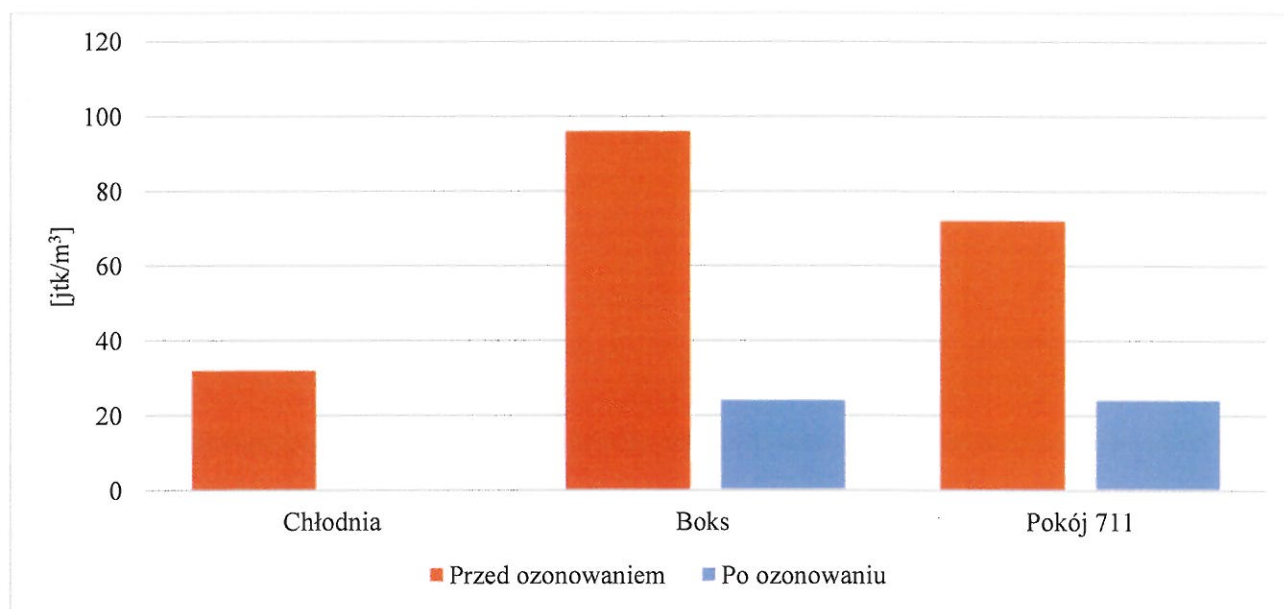
W skład powietrza atmosferycznego wchodzi różne rodzaje i gatunki mikroorganizmów, w tym liczne bakterie (około 26%, z czego około 9% stanowią bakterie z rodzaju *Staphylococcus*). Wzrost temperatury powietrza i brak opadów powoduje wzrost liczby drobnoustrojów w powietrzu. W atmosferze zawieszane są głównie drobnoustroje saprofityczne, odporne na stan wysuszenia, aczkolwiek niejednokrotnie też bakterie chorobotwórcze. Mikroflora aerozolu wnętrza nie różni się jakościowo od mikroflory powietrza zewnętrznego. W tabeli 2 przedstawiono wyniki analizy ilościowej i jakościowej aerozolu bakteryjnego w badanych próbkach na stanowiskach pomiarowych.

Tabela 2 Stężenie i skład aerozolu bakteryjnego (jtk/m³) w punktach pomiarowych

Miejsce pobrania próbki	Rodzaj/gatunek		Ogólna liczba bakterii (jtk/m ³)		Redukcja liczby (%)
	Przed ozonowaniem	Po ozonowaniu	Przed ozonowaniem	Po ozonowaniu	
Pożywkarnia - Chłodnia	<i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus caprae</i>		32	<1	100
Pożywkarnia – Boks do rozlewania pożywek	<i>Acinetobacter ursingii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	96	24	75
Pokój nr 711	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus capitis</i>	72	24	67

W powietrzu wewnętrznym badanych pomieszczeń wyhodowano bakterie saprofityczne. Wśród nich: *Bacillus spp.*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* oraz bakterie z rodzaju *Acinetobacter*, które występują pospolicie w powietrzu budynków użytkowych. Jednym ze źródeł generowania tych organizmów do środowiska jest człowiek. W powietrzu wewnętrznym badanych pomieszczeń nie stwierdzono organizmów (bakterie) patogennych dla człowieka według Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r. w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki (Dz. U. 81 poz.716 z późn. zm.). Zestawienie ogólnej liczby bakterii w badanych próbkach przed i po procesie ozonowania przedstawiono na wykresie 1.

Wykres 1 Ogólna liczba bakterii (jtk/m³) w punktach pomiarowych



W obu analizowanych przypadkach proces ozonowania doprowadził do obniżenia zawartości drobnoustrojów bakteryjnych w powietrzu o odpowiednio 100, 75 i 66%. Znamienny jest fakt, że wszystkie wyizolowane rodzaje bakterii uległy obniżeniu w podobnym stopniu. W tradycyjnych metodach dezynfekcji niektóre mikroorganizmy charakteryzują się cechami zwiększającymi ich odporność na czynnik sprawczy. Na przykład bakterie z rodzaju *Micrococcus* wykształciły pigmenty chroniące je przed szkodliwym promieniowaniem ultrafioletowym, a drobnoustroje z rodzaju *Bacillus* w procesie sporulacji wytwarzają formy przetrwalne umożliwiające im przeżycie w niekorzystnych warunkach środowiskowych po zastosowaniu chemicznej dezynfekcji. Dużą rozpiętość skuteczności dezynfekcji tłumaczyć może zróżnicowany wyjściowy stopień zanieczyszczenia powietrza.

3.2. Skażenie bakteryjne powierzchni

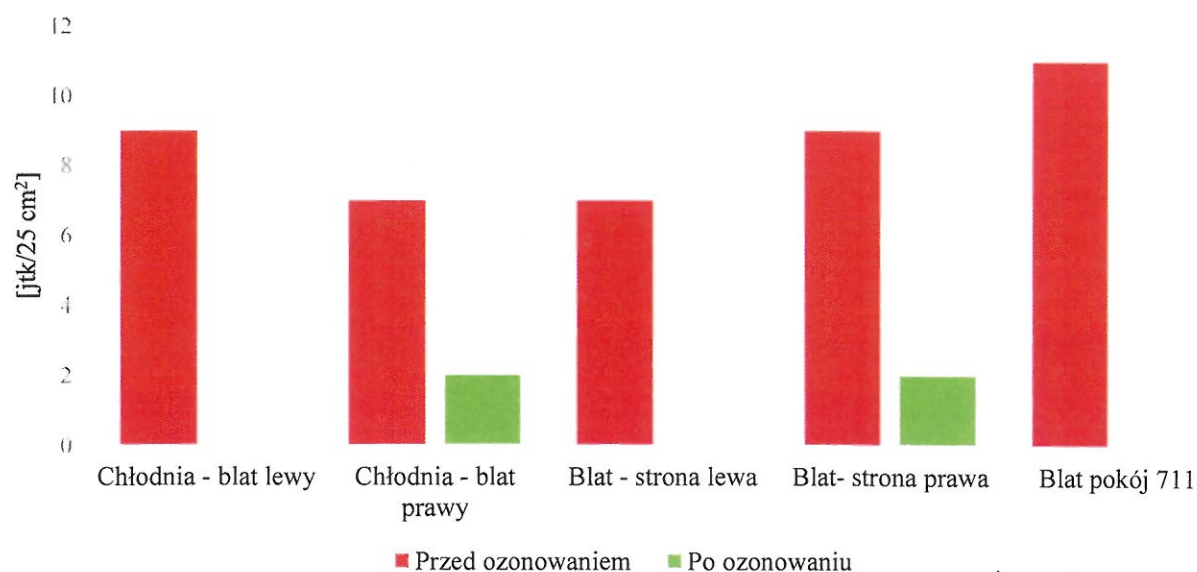
Jeszcze wyższą skuteczność ozonowania widać w przypadku zanieczyszczenia powierzchni. Spośród dziesięciu pobranych próbek najniższa uzyskana redukcja liczby drobnoustrojów wyniosła 71%, w trzech przypadkach uzyskano 100% skuteczność dezynfekcji. Średnio ozonowanie doprowadziło do redukcji mikroorganizmów o 89,8%. Wyniki analizy jakościowej i ilościowej przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3 Analiza jakościowa i ilościowa odcisków pobranych z badanych pomieszczeń

Pomieszczenie w którym pobrano próbki	Miejsce pobrania próbki	Wyhodowane drobnoustroje		Ogólna liczba bakterii (jtk/25 cm ²)		Redukcja liczby (%)
		Przed ozonowaniem	Po ozonowaniu	Przed ozonowaniem	Po ozonowaniu	
Pożywkarnia - Chłodnia	Półka środkowa strona lewa - blat	<i>Bacillus species</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>Staphylococcus cohnii</i> <i>ssp. urealyticus</i>		9	0	100
Pożywkarnia - Chłodnia	Półka środkowa strona prawa - blat	<i>Bacillus species</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Bacillus species</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	7	2	71
Pożywkarnia – Boks do rozlewania pożywek	Stół do rozlewania pożywek strona lewa	<i>Bacillus species</i> , bakterie z grupy dyfteroidów, <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i>		7	0	100
Pożywkarnia – Boks do rozlewania pożywek	Stół do rozlewania pożywek strona prawa	<i>Bacillus species</i> , bakterie z grupy dyfteroidów, <i>Micrococcus luteus</i>	<i>Bacillus species</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	9	2	78
Pokój nr 711	Blat laboratoryjny długi	<i>Aerococcus viridans</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Micrococcus luteus</i>		11	0	100

Zestawienie ogólnej liczby bakterii w badanych próbkach przed i po procesie ozonowania przedstawiono na wykresie 2.

Wykres 2 Ogólna liczba bakterii (jtk/25 cm²) w punktach pomiarowych



3.3. Skażenie powietrza grzybami pleśniowymi

Grzybami mikroskopowymi nazywamy grzyby, których cechy morfologiczne określa się przy użyciu mikroskopu. Zaliczamy tu grzyby pleśniowe oraz grzyby drożdżopodobne. Grzyby strzępkowe są to grzyby, których podstawową częścią plechy jest strzępka. Najczęściej w powietrzu atmosferycznym występują zarodniki lub fragmenty strzępek grzybów (stanowią one około 70% składu powietrza atmosferycznego). Grzyby pleśniowe występują pospolicie w środowisku naturalnym. Do jednego z ich stałych rezerwuarów należą gleba i kurz. Podczas swojego rozwoju wytwarzają ogromne ilości lekkich, suchych, zarodników o średnicy kilku mikrometrów, doskonale przystosowanych do rozprzestrzeniania się wraz z ruchami powietrza na duże odległości, co sprawia, że liczne gatunki grzybów pleśniowych osiadają na powierzchniach różnych materiałów. Zdolność do wzrostu i rozwoju grzybów pleśniowych determinowana jest przez trzy główne czynniki: wilgotność środowiska, temperaturę oraz dostępność środków odżywczych. Ze względu na niskie wymagania oraz rozbudowany aparat enzymatyczny pozwalający na rozkładanie i wykorzystywanie różnorodnych związków chemicznych, jedynym parametrem silnie limitującym rozwój grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych jest wilgotność. Spośród pleśni wchodzących w skład mikroflory powietrza najliczniejszą grupę stanowią pleśnie zaliczane do klas *Deuteromycota*, *Ascomycota* i *Zygomycota*. Potrzebują one do rozwoju niewielkich ilości organicznych substancji pokarmowych, dlatego mogą rozwijać się na drewnie, materiałach konstrukcyjnych, lateksie i gumie oraz na materiałach w miejscach o zwiększonej wilgotności. Pożywkę dla grzybów może stanowić zanieczyszczenie w postaci kurzu pochodzenia organicznego. Często w miejscach dużego zawilgocenia razem z grzybami pleśniowymi występują również bakterie. Obniżają estetykę zainfekowanych materiałów, niszczą przechowywane produkty i mają negatywny wpływ na samopoczucie i zdrowie ludzi. W tabeli 4 przedstawiono wyniki analizy ilościowej i jakościowej bioaerozolu grzybowego.

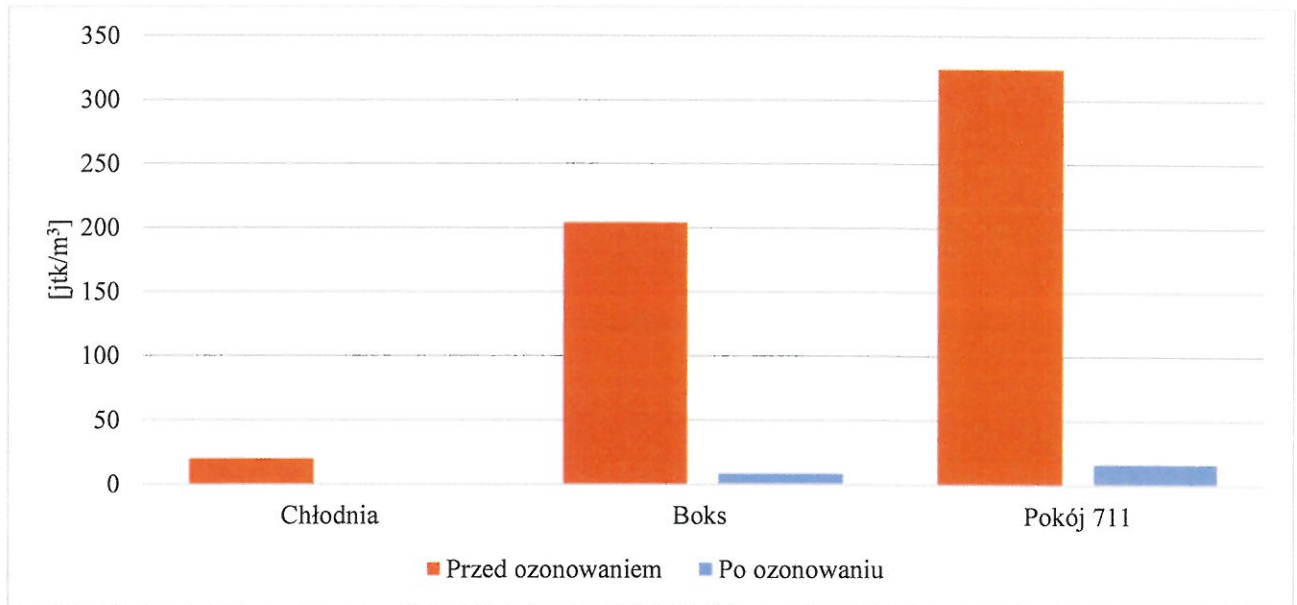
Tabela 4 Stężenie i skład aerozolu grzybowego (jtk/m³) w punktach pomiarowych

Miejsce pobrania próbki	Rodzaj/gatunek		Ogólna liczba grzybów (jtk/m ³)		Redukcja liczby (%)
	Przed ozonowaniem	Po ozonowaniu	Przed ozonowaniem	Po ozonowaniu	
Pożywkarnia - Chłodnia	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	20	4	80
Pożywkarnia – Boks do rozlewania żywek	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Talaromyces macrosporus</i>	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	204	8	96
Pokój nr 711	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria tenuissima</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	324	16	95

W przypadku grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych proces ozonowania przyniósł pozytywny rezultat. Najniższa wartość redukcji liczby wyniosła 80%, najwyższa 96%, a wartość uśredniona 90,3%. W powietrzu wewnętrznym badanych pomieszczeń nie stwierdzono organizmów (grzyby) patogennych dla człowieka według Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r. w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki (Dz. U. 81 poz.716 z późn. zm.).

Zestawienie ogólnej liczby grzybów w badanych próbkach przed i po procesie ozonowania przedstawiono na wykresie 3.

Wykres 3 Ogólna liczba grzybów (jtk/m^3) w punktach pomiarowych



Podobnie jak w przypadku bakterii, również w przypadku grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych redukcja ilości organizmów zachodzi równomiernie, niezależnie od zdolności do wytwarzania barwników (dematiaceous moulds) oraz struktur przetrwalnych w postaci chlamydospor (m.in. rodzaje *Fusarium*, *Paecilomyces*).

4. Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały, że proces ozonowania może stanowić doskonałe uzupełnienie tradycyjnych sposobów dezynfekcji. Dzięki zdolności do swobodnego rozprzestrzeniania się gazu, skutecznie wykonany zabieg umożliwia usunięcie zanieczyszczenia biologicznego z trudno dostępnych oraz łatwych do przeoczenia miejsc. Ocena skuteczności dezynfekcji po przeprowadzonym ozonowaniu wykazała bardzo wysoką redukcję zanieczyszczeń mikrobiologicznych, ze średnim stopniem redukcji wynoszącym 86%. Ozonowanie okazało się również skuteczne w stosunku do drobnoustrojów trudniejszych do zwalczania innymi metodami, jak organizmy wytwarzające pigment, odporne na wysychanie, czy wytwarzające przetrwalniki. Wykonany zabieg znacznie poprawił jakość mikrobiologiczną powietrza oraz powierzchni. Uzyskane rezultaty były zbieżne z wynikami pracy oceniającymi przydatność procesu ozonowania w likwidacji zagrzybienia powstałego podczas powodzi [5]. Dodatkową zaletę stanowi właściwość dezodoryzacji, w tym zapachów gnilnych.

5. Literatura

- [1] STRYCZEWSKA H.D., *Technologie plazmowe w energetyce i inżynierii środowiska*. Wydawnictwo Politechniki Lubelskiej. Lublin 2009
- [2] FRĄCKOWIAK W., SŁAWIK K., SŁAWIK P., *Czy ozonowanie jest dobrą metodą w likwidacji korozji biologicznej? Ochrona budynków przed wilgocią i korozją biologiczną*. Polskie Stowarzyszenie Mykologów Budownictwa. Wrocław 2013, 12, s. 95-99
- [3] JURGOWIAK M., *Ozon w medycynie - tak czy nie?* TPS, 2003, 3, s. 16-20
- [4] LONCAR B., *Ozone application in dentistry*. Archives of Medical Research, 2009, 40, s. 136-137
- [5] NOWAKOWICZ-DĘBEK B., KRUKOWSKI H., WLAZŁO Ł., BOJARCZYK M., *Ocena mikologiczna powietrza w domach zalanych w czasie powodzi na przykładzie gminy Wilkow*. Mikologia Lekarska 2011, 18, nr 2, s. 87-89