

Warszawa, dn. 26.06.2018

**Raport: analizy zanieczyszczenia mikrobiologicznego  
w materiale pobranym z powierzchni Kamienicy Johna w Warszawie**

**Spis treści**

1. Analizowany materiał.....	str. 2
2. Metody	
<i>Pomiary zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni metodą hodowlań.....</i>	<i>str. 2</i>
<i>Identyfikacja wyrosłych kolonii grzybów strzępkowych.....</i>	<i>str. 3</i>
3. Wyniki	
<i>Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powierzchni.....</i>	<i>str. 4</i>
4. Charakterystyka wyizolowanych grzybów pleśniowych.....	str. 8
5. Analiza wyników .....	str. 9
6. Zalecenia.....	str. 10
7. Bibliografia.....	str. 10

## 1. Analizowany materiał

Próbki zostały pobrane przez pracownika RDLS pod nadzorem osób odpowiedzialnych za realizację rozpoznania stanu zachowania budynku – Kamienica Johna w Warszawie. Materiał biologiczny pobierano suchą, sterylną wymazówką z powierzchni ok. 25 cm<sup>2</sup> w jednym powtórzeniu. Pobrane próbki zostały następnie poddane analizom w laboratorium mikrobiologicznym.

Do analiz mikrobiologicznych oddano materiał pobrany metodą wymazu z powierzchni: Kamienia (1), Tynku (2), Więźby dachowej (3), Deski wykorzystanej do zadaszenia (4).

Pobrano również fragmenty więźby dachowej w celu wykonania bezpośrednich analiz mikroskopowych drewna.

## 2. Metody

### Pomiary zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni metodą hodowlaną

Każdą próbkę pobraną wymazówką po dostarczeniu do laboratorium zawieszono w 1 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej (NaCl) o stężeniu 0,85% i dokładnie wytrząsano przez 2 minuty. Wysiano po 100 µl próbki, na 7 różnych szalek z certyfikowanymi stałymi, gotowymi podłożami mikrobiologicznymi (Tab.1).

Przeznaczenie poszczególnych podłoży przedstawiono w tabeli poniżej. Po okresie inkubacji (Tab. 1) liczono kolonie mikroorganizmów, które wyrosły na podłożach stałych. Wyniki przedstawiono jako liczbę jednostek zdolnych do tworzenia kolonii (ang. CFU Colony Forming Units) w przeliczeniu na 50 cm<sup>2</sup> badanej powierzchni – jtk./50cm<sup>2</sup>.

**Tab. 1.** Warunki hodowli i przeznaczenie stosowanych podłoży mikrobiologicznych

Skrót	Nazwa podłoża	Przeznaczenie podłoża	Warunki inkubacji
ACZ	Agar Czapka	Liczebność grzybów strzępkowych	10 -14 dni; temp. pokojowa
MEA	Malt Extract Agar	Izolacja grzybów, w szczególności drożdży i pleśni	10 -14 dni; temp. pokojowa
BRZ	Agar Brzeczkowy	Izolacja grzybów, w szczególności drożdży i pleśni	10 -14 dni; temp. pokojowa
TSA	Agar z hydrolizatem kazeiny i soi	Izolacja szerokiego spektrum mikroorganizmów	10 -14 dni; temp. pokojowa
AO	Agar odżywczy	Ogólna liczba bakterii	48h; 37°C
YEA	Agar z ekstraktem drożdżowym i glukozą	Ogólna liczba mikroorganizmów	48h; 37°C
R2A	Agar R2A	Izolacja mikroorganizmów o niskich wymaganiach odżywczych	48h; 37°C
Wort	Podłoże Wort	Izolacja mikroorganizmów z obiektów kamiennych	10 -14 dni; temp. pokojowa
PB	Podłoże Blickfeldta	Izolacja mikroorganizmów zakwaszających	48h; 37°C

Ponieważ nie ma norm dotyczących zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni obiektów zabytkowych, w analizie liczebności zastosowano normę dla przemysłu spożywczego PN-A-82055-19:2000 [1]. Sposób klasyfikacji zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni zgodny z powyższą normą został przedstawiony w tabeli poniżej.

**Tab. 2.** Wskaźnik i ocena zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni w zależności od ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych

Liczba drobnoustrojów na 50 cm <sup>2</sup>	Wskaźnik	Ocena
0 ÷ 5,0*10 <sup>0</sup> (0-5)	0	Celująca
6,0*10 <sup>0</sup> ÷ 19,0*10 <sup>0</sup> (6-19)	1	Bardzo dobra
2,0*10 <sup>1</sup> ÷ 5,9*10 <sup>1</sup> (20-59)	2	Dobra
6,0*10 <sup>1</sup> ÷ 19,9*10 <sup>1</sup> (60-199)	3	Dostateczna
2,0*10 <sup>2</sup> i powyżej (200 i powyżej)	4	Niedostateczna

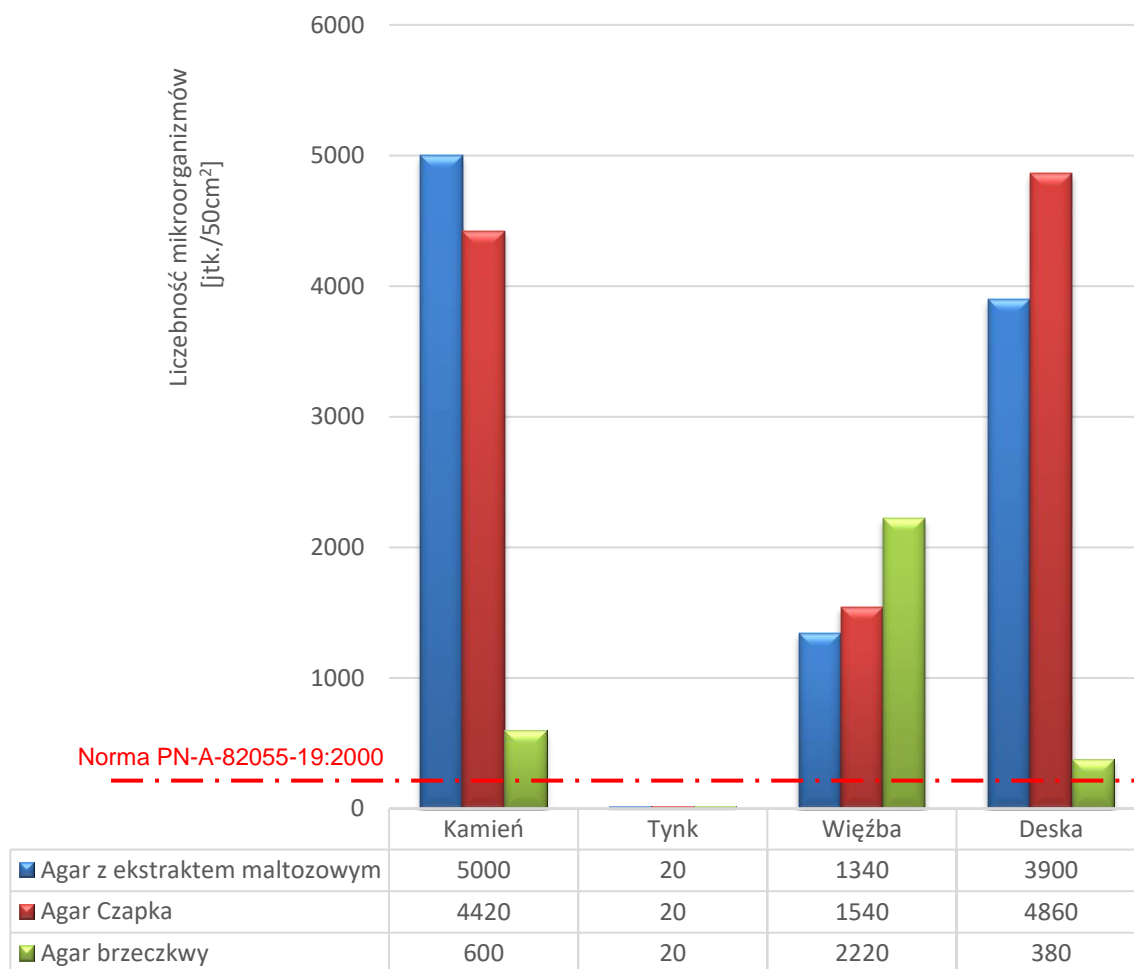
#### **Identyfikacja wyrosłych kolonii grzybów strzępkowych**

Identyfikację kolonii grzybów strzępkowych wyrosłych na stałych podłożach mikrobiologicznych przeprowadzono w oparciu o analizę makroskopową. Identyfikację przeprowadzono dla zarodnikujących kolonii grzybów strzępkowych wyrosłych po 10 dniach inkubacji. Identyfikację grzybów przeprowadzono w oparciu o klucze i publikacje naukowe. Analizy mikroskopowe fragmentów więźby dachowej nie pozwoliły na zidentyfikowanie mikroorganizmów bezpośrednio na obiekcie. Podjęto próbę izolacji grzybów pleśniowych z obiektu, przez umieszczenie fragmentów drewna na szalce z podłożem mikrobiologicznym.

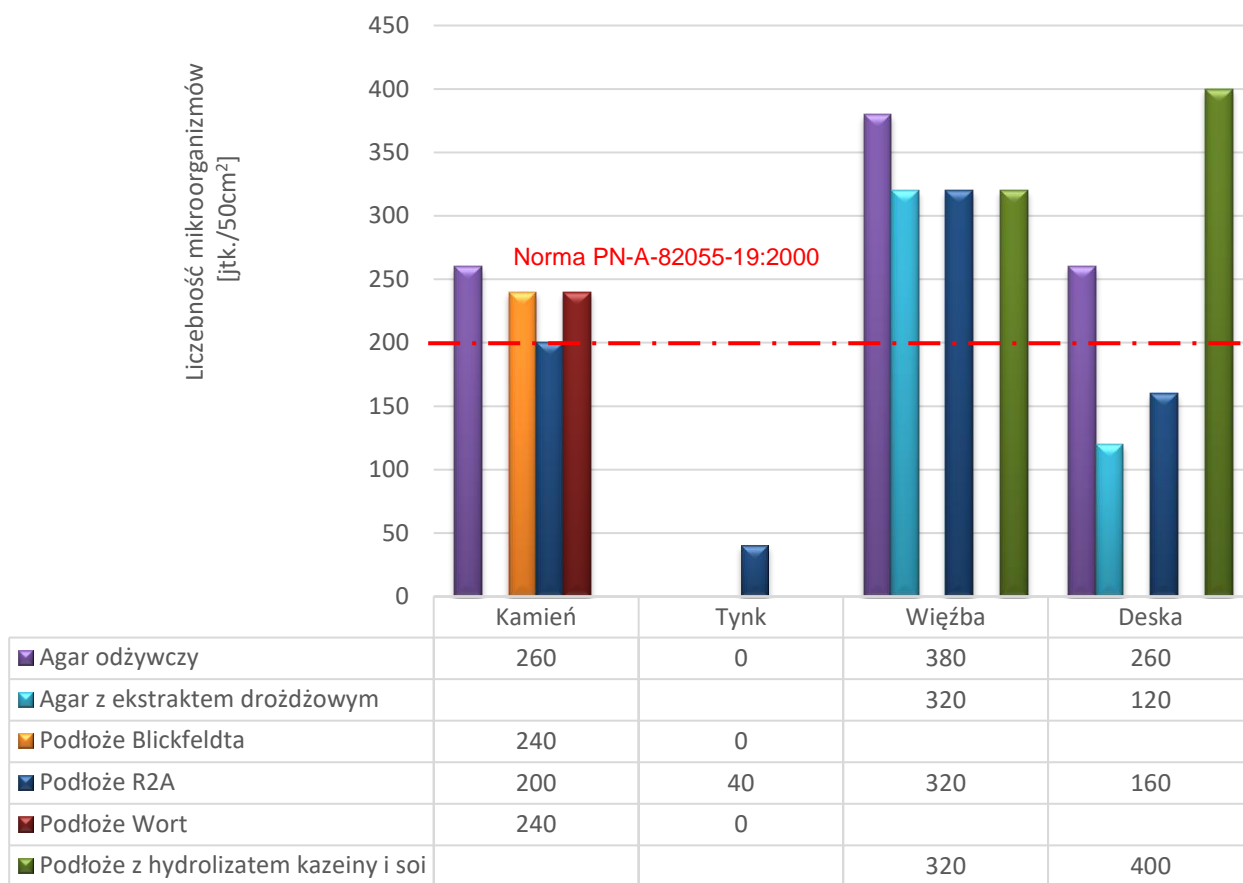
### 3. Wyniki

#### Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powierzchni

Przeprowadzone analizy mikrobiologiczne 4 próbek pobranych z różnych powierzchni Kamienicy Johna wykazały obecność grzybów strzępkowych, bakterii i drożdżaków. Liczebności mikroorganizmów po ustalonym okresie inkubacji (Tab. 1) wskazują na umiarkowany poziom zanieczyszczeń mikrobiologicznych podeszwy buta, brak zanieczyszczeń na powierzchni archiwaliów oraz przekroczone maksymalne przyjęte liczebności mikroorganizmów dla powierzchni książki z biblioteki. Wyniki w formie graficznej w odniesieniu do przyjętych norm przedstawiono na wykresie (Fig. 1) i w Tabeli 3. Zdjęcia wysianych szalek z listą zidentyfikowanych grzybów przedstawiono w Tabeli 4.



**Fig. 1.** Liczebność mikroorganizmów wyizolowanych z 4 powierzchni Kamienicy Johna w Warszawie. Wyniki dla podłoży dedykowanych dla wzrostu grzybów pleśniowych i bakterii.



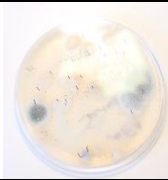
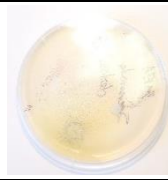


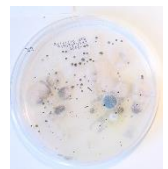

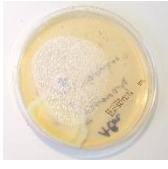
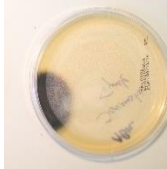

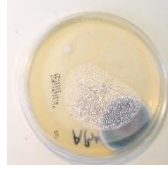



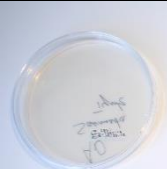
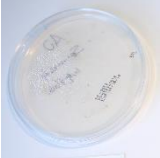




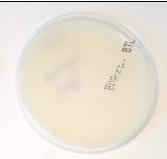



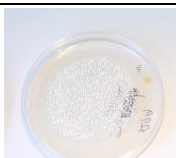
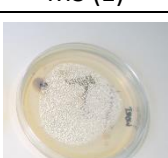



**Fig. 2.** Liczebność mikroorganizmów wyizolowanych z 4 powierzchni Kamienicy Johna w Warszawie. Wyniki dla podłoży dedykowanych dla wzrostu głównie bakterii.

**Tab. 3.** Liczebność mikroorganizmów w materiale pobranym z 4 powierzchni Kamienicy Johna w Warszawie (jtk./50cm<sup>2</sup>) zgodnie z przyjętą skalą czystości mikrobiologicznej powierzchni.

		Kamień	Tynk	Więźba	Deska
MEA	Agar z ekstraktem maltozowym	5000	20	1340	3900
ACZ	Agar Czapka	4420	20	1540	4860
Abrz	Agar brzeczkwy	600	20	2220	380
AO	Agar odżywczy	260	0	380	260
YEA	Agar z ekstraktem drożdżowym			320	120
PB	Podłoże Blickfeldta	240	0		
R2A	Podłoże R2A	200	40	320	160
WORT	Podłoże Wort	240	0		
TSA	Podłoże z hydrolizatem kazeiny i soi			320	400

**Tab. 4.** Zdjęcia szalek z wyrosłymi koloniami mikroorganizmów, liczba wyrosłych kolonii na danej szalce oraz różnorodność grzybów pleśniowych wyizolowanych z powierzchni. W nawiasie, przy poszczególnych rodzajach zidentyfikowanych grzybów pleśniowych podano liczby analizowanych kolonii. Skrót MS - oznacza *mycelia sterilia* - grzybnia sterylna, czyli grzybnia która nie tworzy struktur rozmnażania, zarodników – niemożliwe jest oznaczenie rodzaju grzyba w oparciu o cechy morfologiczne.

Pod zdjęciami liczba kolonii na szalce	Kamień	Tynk	Więźba	Deska z dachu
Agar z ekstraktem maltozowym MEA				
Bakterie i drożdżaki	0	0	0	0
Grzyby pleśniowe	250	1	67	195
Wynik identyfikacji	<i>Sporobolomyces</i> sp. (250)	MS(1)	<i>Exophiala</i> sp. (50), <i>Penicillium</i> sp.(3), MS(14)	<i>Sporobolomyces</i> sp. (~120) <i>Exophiala</i> sp. (74), <i>Chaetomium</i> sp. (1),
Agar Czapka ACZ				
Bakterie i drożdżaki	0	0	0	241
Grzyby pleśniowe	221	1	77	2
Wynik identyfikacji	<i>Sporobolomyces</i> sp. (~200) <i>Exophiala</i> sp.(20), <i>Phoma</i> sp.(1),	<i>Alternaria</i> sp.(1)	<i>Exophiala</i> sp.(51), <i>Cladosporium</i> sp.(17), MS(6), <i>Phoma</i> sp.(2) <i>Penicillium</i> sp.(1)	<i>Sporobolomyces</i> sp. (215) <i>Exophiala</i> sp. (26), <i>Penicillium</i> sp. (1)
Agar brzezkowy Abrz				
Bakterie i drożdżaki	27	0	0	16
Grzyby pleśniowe	3	1	111	3
Wynik identyfikacji	<i>Sporobolomyces</i> sp. (50) <i>Exophiala</i> sp.(8), MS(2),	<i>Cladosporium</i> sp. (1)	<i>Exophiala</i> sp.(~100), <i>Sporobolomyces</i> sp.(5) <i>Penicillium</i> sp.(3), <i>Geotrichum</i> sp.(1), <i>Eurotium</i> sp.(1), MS(4), <i>Mucor</i> sp.(1)	<i>Exophiala</i> sp. (1), MS(1), <i>Penicillium</i> sp. (1)

Pod zdjęciami liczba kolonii na szalce	Kamień	Tynk	Więźba	Deska z dachu
Agar odżywczy AO				
Bakterie i drożdżaki	13	0	19	13
Grzyby pleśniowe	0	0	MS (4)	MS (1)
Agar z ekstraktem drożdżowym YEA	-	-		
Bakterie i drożdżaki	-	-	16	6
Grzyby pleśniowe	-	-	MS (2)	MS (1)
Podłoże Blickfeldta PB			-	-
Bakterie i drożdżaki	12	0	-	-
Grzyby pleśniowe	0	0	-	-
Podłoże R2A				
Bakterie i drożdżaki	9	2	14	7
Grzyby pleśniowe	MS (1)	0	MS (2)	MS (1)
Agar WORT			-	-
Bakterie i drożdżaki	2	0	-	-
Grzyby pleśniowe	<i>Sporobolomyces</i> sp. (9) <i>Phoma</i> sp.(1)	0	-	-
Podłoże z hydrolizatem kazeiny i soi TSA	-	-		
Bakterie i drożdżaki	-	-	15	20
Grzyby pleśniowe	-	-	<i>Mucor</i> sp.(1)	0

#### 4. Charakterystyka zidentyfikowanych grzybów pleśniowych

***Sporobolomyces sp.*** - grzyby z grupy podstawczaków, tworzą niewielkie czerwone kolonie o wyglądzie kolonii bakteryjnych. Są to grzyby szeroko rozpowszechnione, i są często izolowane z powietrza, fragmentów roślin czy liści. Zdarzają się przypadki zapalenia pęcherzyków płucnych wywołanych przez *Sporobolomyces*, szczególnie u zwierząt oraz przypadki zasiedlania skóry ludzi o osłabionej odporności.

***Exophiala sp.*** – pospolity grzyb występujący w glebie bogatej w składniki odżywcze. Dzięki silnym właściwościom celulolitycznym przyczynia się do rozkładu drewna. Niektóre gatunki są silnie chorobotwórcze dla człowieka.

***Chaetomium sp.*** – grzyby występujące w powietrzu, glebie na papierze, bawełnie, tekstyliach, słomie. Są to grzyby o bardzo silnych właściwościach celulolitycznych. Przyczyniają się do rozkładu roślinnej materii organicznej, drewna. Część z gatunków wytwarza mykotoksyny i alergeny. Rodzaj wilgociolubny, często spotykany w pomieszczeniach o podwyższonej wilgotności.

***Eurotium sp.*** to anamorfa - forma bezpłciowa rodzaju *Aspergillus*, o tych samych cechach i właściwościach. Wytwarzają toksyczne metabolity (afلاتoksyny, ochratoksyny, mykotoksyny), które, szczególnie w wysokich stężeniach, mogą być niebezpieczne dla zdrowia ludzi ze względu na działanie neurotoksyczne, immunosupresyjne, genotoksyczne, karcinogenne i teratogenne. Przebywanie w pomieszczeniach, w których występuje wysokie stężenie zarodników grzybów z tego rodzaju podnosi ryzyko zachorowań na choroby płuc np. alergiczną aspergilozę oskrzelowo-płucną, alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP), astmę oskrzelową, zapalenie płuc. Inhalacja zarodników rodzaju *Aspergillus* jest ułatwiona ze względu na ich niewielkie rozmiary. Jest oportunistycznym patogenem – wywołuje choroby zatok, uszu, układu oddechowego przy obniżonej odporności organizmu człowieka. Jest przyczyną grzybicy skóry i paznokci. Posiada zdolność do wzrostu w różnych warunkach środowiska i wysokie zdolności adaptacyjne.

***Phoma sp.*** - obejmuje gatunki będące silnymi patogenami roślin, często izolowany z gleby, materiałów pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. W pomieszczeniach izolowany z wilgotnych ścian, tapet, elementów drewnianych czy izolacji. Stanowi potencjalne ryzyko dla zdrowia ludzi. Wysoki potencjał biodeterioracyjny dla obiektów drewnianych papierowych.

***Geotrichum sp.*** - zarodniki tego rodzaju są powszechnie obecne w powietrzu, glebie i wodzie. Często zasiedla papier i tekstylia. Może powodować rozkład drewna. Przyczyna alergii i chorób układu oddechowego.

***Mucor sp.*** – Gatunki należące do rodzaju pleśniak to głównie saprotrofy odżywiające się martwą materią organiczną. Żyją w glebie, gdzie odgrywają rolę w procesie tworzenia się próchnicy. Pojawiają się często na żywności powodując jej pleśnienie.

***Cladosporium* sp.** - jeden z najpowszechniej występujących grzybów strzępkowych, występujący w glebie, rozkładającej się materii pochodzenia organicznego, patogen roślin. Często zasiedla wilgotne materiały budowlane: gips, farby akrylowe, drewno, tapety oraz ciągi wentylacji czy klimatyzację. W wysokich stężeniach w powietrzu mogą stanowić przyczynę alergii i chorób układu oddechowego.

***Penicilium* sp.** – szeroko rozpowszechniony, zarodniki tego rodzaju są powszechnie obecne w powietrzu na zewnątrz jak i wewnątrz budynków oraz glebie. Przyczyna rozkładu owoców i materiałów pochodzenia roślinnego. W wysokich stężeniach w powietrzu mogą stanowić przyczynę alergii i chorób układu oddechowego. Niektóre gatunki wytwarzają silne mykotoksyny.

***Alternaria* sp.** - zarodniki tego rodzaju są powszechnie obecne w powietrzu na zewnątrz budynków. Występowanie w pomieszczeniach związane jest z naniesieniem zarodników z zewnątrz. Fragmenty grzybní oraz zarodniki stanowią przyczynę alergii i chorób układu oddechowego.

## 5. Analiza wyników

Analiza materiału pobranego z powierzchni kamiennych i drewnianych Kamienicy Johna w Warszawie wykazała **wysokie poziomy zanieczyszczenia mikrobiologicznego**. Dla próbek drewna i kamienia zanieczyszczenia mikrobiologiczne przekraczały dopuszczalne poziomy – **stwierdzono niedostateczną czystość mikrobiologiczną powierzchni**. Jedynie **powierzchnie** tynku były zanieczyszczone mikrobiologiczne w **minimalnym stopniu**.

Dominującymi mikroorganizmami w próbkach pobranych z powierzchni kamiennych i drewnianych były grzyby pleśniowe o morfologii kolonii zbliżonej do bakteryjnej czy drożdżakowatej. Były to grzyby z rodzajów *Exophiala* (grzyb potencjalnie chorobotwórczy) oraz *Sporobolomyces* (grzyb o czerwonym kolorze kolonii).

Z fragmentu deski dachowej izolowano grzyby o silnych właściwościach celulolitycznych z rodzaju *Chaetomium*. Z powierzchni więźby dachowej izolowano różne grzyby pleśniowe, w tym grzyb *Eurotium* sp., który jest anamorfą (formą bezpłciową) potencjalnie chorobotwórczego rodzaju *Aspergillus*. Z więźby wyizolowano również grzyby z rodzajów: *Phoma*, *Geotrichum* i *Mucor*. Z powierzchni drewnianych izolowano grzyby z rodzaju *Penicillium* sp., charakterystyczne dla mikroflory powietrza.

*Phoma* sp. był izolowany również z powierzchni kamiennych, natomiast z tynku wyizolowano pojedyncze kolonie grzybów *Cladosporium*, *Alternaria* charakterystyczne dla mikroflory powietrza.

## 6. Zalecenia

**Sugerowane działania prewencyjne mogą obejmować:**

- Dezynfekcję i impregnację elementów drewnianych daszku Kamienicy Johna lub wymianę elementów drewnianych na nowe.
- Oczyszczenie, dezynfekcję lub umycie elementów kamiennych .
- Zalecamy także stosowanie odzieży ochronnej (fartuch laboratoryjny, maseczka przeciwpyłowa i rękawiczki jednorazowe) przy postępowaniu z powierzchniami obiektów zanieczyszczonymi w wysokim stopniu lub zanieczyszczonymi przez grzyby potencjalnie chorobotwórcze.

## 7. Bibliografia

1. Polska Norma PN-A-82055-19:2000 Badania mikrobiologiczne - Oznaczanie zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni urządzeń, sprzętów, pomieszczeń oraz opakowań i rąk pracowników. Warszawa, Polski Komitet Normalizacyjny.

Raport opracowali

Magdalena Dyda

i Łukasz Istel