

Kinga Plewa-Tutaj, Małgorzata Pietras-Szewczyk, Elżbieta Lonc

Próba oceny rozkładu przestrzennego zanieczyszczeń mikrobiologicznych w powietrzu na terenie i w sąsiedztwie wybranej fermy drobiu

Wszeghobecne w powietrzu bioaerozole stanowią różnorodny kompleks cząstek składających się z organicznych materiałów biologicznych, w tym wirusów, komórek bakteryjnych, elementów grzybni, zarodników oraz metabolitów i toksyn wytwarzanych przez mikroorganizmy [1,2]. Narażenie na czynniki biologiczne w środowisku jest powszechne i często prowadzi do wystąpienia wielu niekorzystnych skutków zdrowotnych, poczynając od prostych podrażnień i reakcji alergicznych, aż do wystąpienia infekcji, chorób zakaźnych i reakcji toksycznych [3,4]. Mikroorganizmy, w szczególności bakterie i grzyby, mogą powodować m.in. astmę, katar sienny, zapalenie oskrzeli, przewlekłą niewydolność płuc, choroby układu sercowo-naczyniowego, czy zapalenie zatok, bądź spojówek [5], natomiast metabolity mikroorganizmów, tj. endotoksyny i mykotoksyny wchodzące w skład bioaerozolu, odgrywają znaczną rolę w reakcjach zapalnych i przyczyniają się głównie do pogorszenia funkcjonowania płuc [6].

Potrzeba prowadzenia mikrobiologicznych analiz powietrza pod względem potencjalnych czynników etiologicznych chorób infekcyjnych, mimo że w ostatnich latach stała się coraz powszechniejsza, ciągle jest jednak przedmiotem raczej dyskusji naukowych niż praktycznych działań służb sanitarno-epidemiologicznych oraz instytucji związanych z ochroną zdrowia ludzi i zwierząt. Celem niniejszej pracy była ocena ilościowa i jakościowa bakterii występujących w powietrzu na terenie wybranej fermy drobiu oraz w jej najbliższym otoczeniu. Podjęto także próbę wizualizacji możliwego rozprzestrzeniania się bioaerozolu, wykorzystując w tym celu geograficzne systemy informacyjne (GIS) [7,8].

Materiały i metody

Charakterystyka obiektu

Badania jakości bakteriologicznej powietrza przeprowadzono na terenie oraz w sąsiedztwie dolnośląskiej fermy brojlerów, wokół której znajdują się tereny upraw rolnych,

a w kierunku północno-wschodnim również obszary leśne. Najbliższa zabudowa mieszkalna znajduje się w odległości 75 m od fermy. Chów od piskląt do dorosłych ptaków prowadzony jest w układzie cyklicznym w technologii głębokiej ściółki. Na powierzchni 1400 m² przebywa około 23 tys. ptaków. Ferma jest wyposażona w wywiewną wentylację mechaniczną, zlokalizowaną w dachu oraz w ścianach budynków inwentarskich. Wentylacja wyposażona jest w sterowniki funkcji temperatury i wilgotności, które uruchamiają wentylatory w zależności od warunków panujących w hali.

Kryteria rozmieszczenia stanowisk pomiarowych

Do analizy przestrzennej posłużyły dane pochodzące z pomiarów wykonanych w maju 2011 r. Pobrano wówczas 96 próbek powietrza w 32 stanowiskach rozmieszczonych równomiernie w odległościach 10 m, 25 m, 50 m, 75 m, 100 m i 125 m od budynku inwentarskiego w kierunkach południowym, wschodnim i zachodnim. Pominięto kierunek północny, ze względu na występowanie naturalnej przeszkody, jaką jest las. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach, a uśrednione wyniki (W_z) podano w tabeli 1. Współrzędne geograficzne każdego z punktów zmierzono za pomocą powszechnie stosowanego systemu nawigacji satelitarnej firmy Garmin (licencja Zakładu Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Wrocławskiego).

Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza do badań bakteriologicznych pobierano za pomocą metody zderzeniowej, zgodnie z normą PN-89-Z-04111/08 (Ochrona czystości powietrza. Pobieranie próbek. Pobieranie próbek powietrza atmosferycznego (imisja) do badań mikrobiologicznych metodą aspiracyjną i sedymentacyjną). W metodzie tej zastosowano próbnik powietrza MAS 100 (Merck KgaA, Darmstadt, Niemcy), którego działanie polega na samoczynnym zasysaniu ściśle określonej objętości powietrza do głowicy aparatu i kierowaniu go na powierzchnię jałowej płytki Petriego z odpowiednim podłożem agarowym. Strumień objętości powietrza zasysanego przez perforowaną głowicę (mającą 400 otworów) za pomocą pompy był stały i wynosił 100 dm³/min, natomiast objętość próbki pobranego powietrza była uzależniona od pory roku i lokalizacji miejsca poboru, jak również od oczekiwanego stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza w danym punkcie pomiarowym.

Dr K. Plewa-Tutaj: Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Angelusa Silesiusa w Wałbrzychu, Instytut Zdrowia, ul. Zamkowa 4, 58-300 Wałbrzych, kplewa@pwsz.com.pl

Dr M. Pietras-Szewczyk: Dolnośląska Szkoła Wyższa, Wydział Nauk Technicznych, ul. Wagonowa 9, 53-609 Wrocław malgorzata.pietras@dsw.edu.pl

Prof. dr hab. E. Lonc: Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, Zakład Ekologii Drobnoustrojów i Ochrony Środowiska, ul. Stanisława Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław elzbieta.lonc@microb.uni.wroc.pl

Analizy mikrobiologiczne

Po zakończeniu pobierania powietrza płytki Petriego inkubowano w temperaturze 37° C przez 24÷48 h. Po odpowiednim czasie inkubacji określono liczbę bakterii w postaci jednostek tworzących kolonie (jtk). Wszystkie wyniki badań odniesiono do objętości 1 m³ powietrza atmosferycznego. Do korekcji wyniku zaniżonego, w przypadku trafienia dwóch lub więcej jednostek tworzących kolonie w jeden punkt, zastosowano poprawkę według wzoru Fellera:

$$P_r = N \left[\frac{1}{N} + \frac{1}{(N-1)} + \frac{1}{(N-2)} + \dots + \frac{1}{(N-r+1)} \right] \quad (1)$$

w którym:

P_r – wynik po korekcji, jtk/m³

N – liczba otworów w głowicy aparatu,

r – liczba kolonii na płytce, jtk/m³

Ze względu na chorobotwórcze właściwości drobnoustrojów, szczegółowej analizie jakościowej poddano bakterie mezofilne, oznaczane na podłożu agarowym. Wstępnie podzielono je na grupy bakterii Gram-dodatnich, obejmujących ziarenkowce, laseczki przetrwalnikujące i niesporulujące oraz bakterii Gram-ujemnych z wyodrębnieniem pałeczek niefermentujących. Diagnostykę mikroorganizmów prowadzono na podstawie obserwacji makro- i mikroskopowych, wykonując badania morfologiczne i fizjologiczne. Określenie przynależności rodzajowej bakterii przeprowadzono zarówno za pomocą barwienia metodą Grama, jak też szybkich (wstępnych) testów fenotypowych (oksydaza, katalaza, oporność na furazolidon, test na endospory). Identyfikację gatunkową wykonano za pomocą wystandaryzowanych biochemicznych testów API firmy Biomerieux – API 20 E do identyfikacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* i innych pałeczek Gram-ujemnych, API STAPH do identyfikacji bakterii z rodziny *Micrococcaceae* oraz API NE do identyfikacji niefermentujących pałeczek. Zastosowano również test Pastorex Staph Plus firmy Biorad, służący do równoczesnego wykrywania czynnika wiążącego (clumping factor – CF), białka A i grupowo specyficznego antygenu związanego ze strukturami powierzchniowymi *S. aureus*. Bakterie z rodzaju *Bacillus* i *Corynebacterium* oznaczono stosując ogólne zasady przyjęte w „Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” [9].

Analiza rozkładu przestrzennego zanieczyszczeń mikrobiologicznych

W pracy podjęto próbę wizualizacji rozkładu przestrzennego bioaerozolu w sąsiedztwie badanej fermi drożdżowej. Z uwagi na duży wpływ warunków meteorologicznych na liczebność mikroorganizmów w powietrzu, metodę interpolacji zapożyczono z prac poświęconych analizie rozkładu elementów klimatologicznych wykorzystujących techniki GIS [10–13]. Ponieważ literatura przedmiotu nie wskazuje jednej (jednoznacznie najlepszej) metody interpolacji, dlatego początkowo zastosowano metodę kriginu prostego (simple kriging). Założeniem przy zastosowaniu tej metody było istnienie zależności pomiędzy liczbą mikroorganizmów w powietrzu a odległością od fermi. Jednak otrzymane rezultaty nie wykazały takiego związku. Dlatego w kolejnej próbie zastosowano metodę kriginu zwyczajnego (ordinary kriging), który jest zalecany przez autorów pracy [11] w przypadku, gdy rozkład badanych zmiennych jest chaotyczny i bardzo słabo związany z panującymi warunkami.

Zastosowany w niniejszych analizach krigin jest geostatystyczną metodą interpolacji, która do estymacji średnich wartości zmiennych stosuje średnią ważoną krocząca. Krigin umożliwia prognozowanie wartości zmiennej w nieznannej lokalizacji oraz oszacowanie błędu prognozy. Geostatystyczne metody interpolacji wykorzystują położenie punktów pomiarowych (lokalizację) do obliczeń odległości między próbkami i modelowania autokorelacji jako funkcji odległości [14]. Dane mogą zostać rozłożone na dwie składowe – trend oraz błąd:

$$Z(s) = \mu(s) + \varepsilon(s) \quad (2)$$

Trend może mieć postać stałej $\mu(s)=m$ lub liniowej funkcji współrzędnych punktów próby (np. wielomian drugiego stopnia). Gdy parametry trendu są znane, stanowi on model w metodzie kriginu prostego, jeśli nie kriginu uniwersalnego. Stała wartość trendu stanowi podstawę do zastosowania kriginu zwyczajnego, którego model opisany jest zależnością:

$$Z(s) = \mu_z + \varepsilon(s) \quad (3)$$

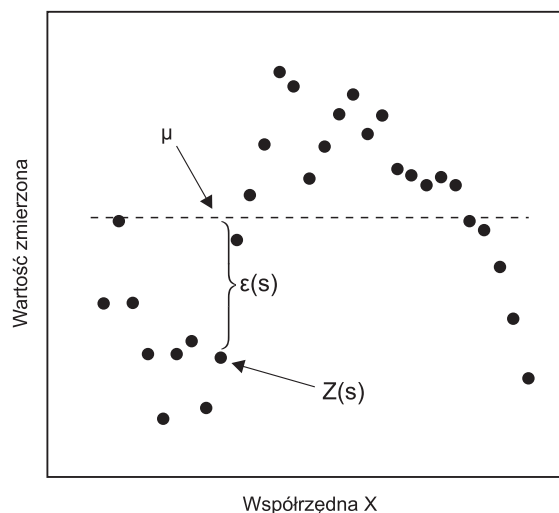
w której μ_z jest nieznaną stałą.

W kriginu zwyczajnym, podobnie jak w innych procedurach kriginowych, wartość szacowana (estymowana) ma postać średniej ważonej. Metoda ta jest elastyczna i pozwala na uwzględnienie wpływu wartości w sąsiadujących punktach. Mimo to jest mało precyzyjna, gdyż stała nie jest znana, a w modelu występuje wiele założeń. Krigin prosty, w odróżnieniu od kriginu zwyczajnego, przyjmuje natomiast znaną stałą i z tego też względu jest bardziej precyzyjny. Jego model może być opisany następującą zależnością:

$$Z(s) = \mu_p + \varepsilon(s) \quad (4)$$

w której μ_p jest znaną stałą.

W celu zobrazowania różnic pomiędzy obiema metodami estymacji na rysunku 1 przedstawiono dane wykorzystane zarówno w kriginu zwyczajnym, jak i prostym [15]. Na wykresie linia przerywana oznacza znaną stałą (μ). W kriginu zwyczajnym zarówno wartości μ , jak i $\varepsilon(s)$ muszą zostać oszacowane, natomiast w kriginu prostym wartość μ jest znana, dlatego możliwe jest dokładniejsze wyznaczenie wartości $\varepsilon(s)$, dzięki czemu wartość estymowana będzie dokładniejsza.



Rys. 1. Porównanie kriginu zwyczajnego i kriginu prostego [14]
Fig. 1. Ordinary and simple kriging comparison [14]

Ogólny wzór na wartość szacowaną metodą krigingu prostego ukształtowany jest jako ważona suma danych w postaci zależności:

$$Z(s_0) = \sum_{i=1}^N \mu_i Z(s_i) \quad (5)$$

w której:

$Z(s_i)$ – wartość pomiaru w danej lokalizacji (i)
 μ_i – znane wagi wartości mierzonej w danej lokalizacji (i)
 s_0 – lokalizacja przewidywana
 N – liczba zmierzonych wartości

W przypadku metody krigingu zwyczajnego postać równania jest podobna, natomiast różnica polega na stałej wartości trendu (μ).

Wartości współczynników wagowych (μ_i) przypisywanych poszczególnym obserwacjom przy szacowaniu parametrów złożonych w węzłach zadanej sieci interpolacyjnej wylicza się z układu równań krigingu na podstawie znajomości struktury zmienności badanego parametru. Informacji na temat struktury zmienności parametru dostarcza semiwariogram opisany formułą:

$$\gamma(h) = (1/2N_h) \sum_{i=1}^{N_h} (Z_{i+h} - Z_i)^2 \quad (6)$$

w której:

Z_{i+h} , Z_i – wartości badanego parametru w punktach odległych o h

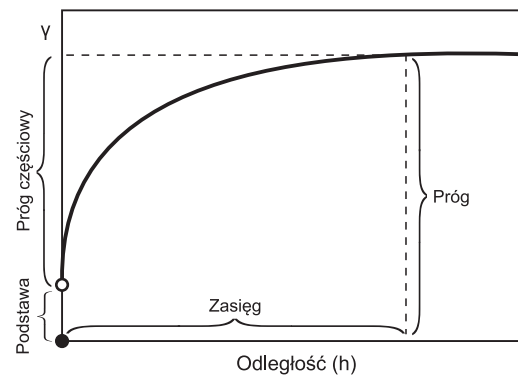
N_h – liczba punktów pomiarowych odległych o h

W sytuacji, gdy w danych zaznacza się trend o znanych parametrach, najodpowiedniejszą metodą estymacji zastosowaną w niniejszej pracy wydaje się być kriging prosty, natomiast w przypadku danych o rozkładzie chaotycznym autorzy prac [10–13] zalecają kriging zwyczajny. Metoda krigingu prostego opiera się na statystycznym modelu uwzględniającym autokorelację danych [15]. Jego zaletą jest możliwość określenia najbardziej prawdopodobnej wielkości w danej komórce rastra. Wykorzystany w pracy kriging prosty stanowi podstawową metodę estymacji powierzchni ciągłych, za pomocą punktowych pomiarów danych ilościowych. Metoda ta umożliwia tworzenie między innymi map wartości oczekiwanej (średniej) danego parametru. Kriging prosty zakłada istnienie autokorelacji przestrzennej, czyli zależności między odległością punktów a stopniem ich podobieństwa [16]. W metodzie tej wartość interpolacji jest obliczana z przyjęciem stałej (znanej) wartości średniej, z uwzględnieniem wpływu wartości w sąsiadujących punktach. Zakłada się również, że funkcja autokorelacji przestrzennej jest jednorodna we wszystkich kierunkach (założenie izotropowości). Nieznane wartości są szacowane przez ważoną kombinację wartości w punktach znanych.

Funkcja semiwariogramu zakłada, że w punktach położonych bliżej siebie wartości są bardziej zbliżone niż w punktach położonych w większej odległości. Wyznaczenie punktów wariogramu eksperymentalnego umożliwia znalezienie równania matematycznego opisującego jego przebieg. Tworzony jest wariogram teoretyczny (rys. 2), do opisu którego wykorzystywane są następujące parametry:

- zasięg oddziaływania: dystans, powyżej którego wartość wariogramu jest quasi-stała,
- wartość progowa (próg): wartość wariogramu odpowiadająca zasięgowi oddziaływania,
- podstawa: wartość wariogramu w przypadku dystansu zbliżonego do zera, nazywana „efektem samorodków”.

Wyniki (zawartość bioareozolu wokół fermy) uzyskane za pomocą krigingu prostego nie były zadowalające.



Rys. 2. Parametry wariogramu teoretycznego [15]
 Fig. 2. Theoretical variogram parameters [15]

Otrzymano bardzo małą zgodność danych pomiarowych z wartościami prognozowanymi. Zakładany wstępnie związek między stężeniem bioareozolu a odległością od fermy okazał się założeniem nie do końca słusznym. Na stężenie bioareozolu wobec tego wpływać muszą inne czynniki (jak np. temperatura, kierunek i prędkość wiatru oraz wilgotność powietrza). W związku z tym podjęto próbę zastosowania do analizy danych metody krigingu zwyczajnego. Podstawową trudnością w doborze metody estymacji był brak znajomości czynnika, który decydował o zawartości mikroorganizmów w powietrzu wokół fermy drobiu. Początkowo założono, że jest nim odległość od fermy, dlatego w pierwszej fazie prac zastosowano kriging prosty. Ponieważ rozkład liczby mikroorganizmów w powietrzu wokół fermy ma cechy chaotyczne, dlatego podjęto próbę zastosowania krigingu zwyczajnego. Metoda ta według autorów prac o tematyce geostatystycznej [10–13] znajduje zastosowanie właśnie w przypadkach, gdy rozkłady badanych zmiennych są chaotyczne i bardzo słabo związane z warunkami lokalnymi. Wyniki zastosowania krigingu prostego i zwyczajnego zestawiono w tabelach 1 i 2.

Mapa rastrowa rozkładu przestrzennego zanieczyszczeń mikrobiologicznych (ArcGIS)

W celu przedstawienia na przestrzennej mapie rastrowej zmienności rozkładu zanieczyszczeń mikrobiologicznych zastosowano zarówno metodę krigingu prostego, jak i krigingu zwyczajnego. Do analizy przestrzennej posłużyły dane pochodzące z pomiarów przeprowadzonych w maju 2011 r. Opracowanie map poprzedzono eksploracją danych, którą sporządzono w oparciu o narzędzia geostatystyczne, stanowiące część pakietu ArcGIS. Narzędzia te ułatwiają proces eksploracji danych przed przystąpieniem do analiz przestrzennych, między innymi poprzez możliwość stworzenia histogramu, wykresu rozkładu wartości oraz analizę trendu. Trend jest to wielkoskalowa zmienność przestrzenna, która może być opisana za pomocą wielomianów różnego stopnia. Może on mieć charakter ogólny (jeden wielomian do opisu całego obszaru) lub lokalny (obszar dzielony jest na strefy, w każdej trend jest określony innym wielomianem). Przeprowadzenie analizy trendu polega na utworzeniu mapy jego wartości [16].

Niektóre narzędzia geostatystyczne wymagają, aby analizowane dane miały rozkład normalny. Niektórzy autorzy zalecają również usunięcie trendu w celu uzyskania rozkładu normalnego [16, 17]. W programie ArcGIS proces eksploracji danych umożliwia transformację danych, aby przyjęły one rozkład normalny. Narzędzia „histogram”

Tabela 1. Wartości błędów wyników uzyskane metodami krigingu prostego (K_p) i zwyczajnego (K_z)
Table 1. Error result values obtained by simple (K_p) and ordinary kriging (K_z)

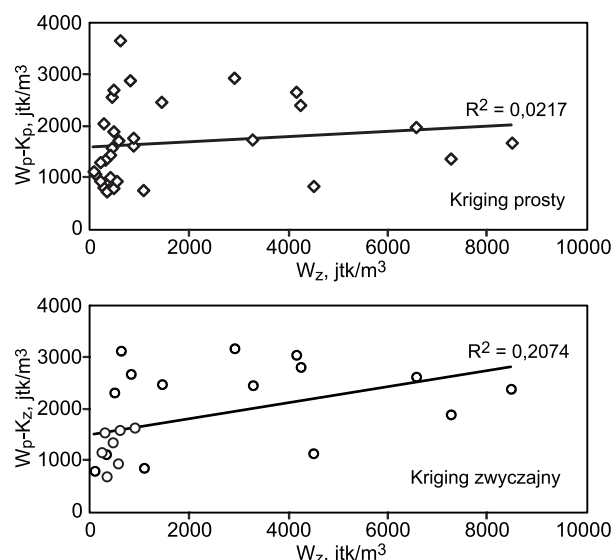
Numer punktu	W_z jtk/m ³	W_p-K_z jtk/m ³	W_p-K_p jtk/m ³	ΔK_z jtk/m ³	ΔK_p jtk/m ³
1	1433	2480	2471	1047	1038
2	567	1567	1719	1000	1152
3	800	2680	2892	1880	2092
4	433	1337	1576	904	1143
5	2900	3181	2940	281	40
6	600	3133	3671	2533	3071
7	4233	2817	2410	1415	1823
8	8500	2380	1676	6120	6824
9	433	1337	2570	904	2137
10	4150	3058	2666	1092	1484
11	467	2335	2708	1868	2241
12	7267	1904	1365	5363	5902
13	267	1529	2051	1262	1784
14	6567	2612	1980	3955	4587
15	467	2335	1896	1868	1429
16	867	1606	1620	739	753
17	400	1279	1439	879	1039
18	300	1112	1342	812	1042
19	867	1606	1769	739	903
20	200	1080	1295	880	1095
21	1067	844	751	223	316
22	267	1530	806	1262	539
23	100	749	1063	649	963
24	400	1279	1004	879	604
25	367	747	762	379	395
26	330	698	725	368	395
27	467	2335	791	1868	324
28	4500	1122	831	3378	3669
29	533	927	928	394	395
30	67	787	1118	720	1051
31	200	1080	932	880	732
32	3267	2473	1737	794	1530

i „normal QQ plot” pozwalają na zbadanie wpływu różnych przemian dotyczących podziału zbioru danych.

W programie ArcGIS wynik analiz geostatystycznych może być zaprezentowany kartograficznie w postaci map prognozy, prawdopodobieństwa, błędu prognozy oraz kwantyli. Mapy prognozy stanowią wynik estymacji wartości w punktach, w których wartość zmiennej jest nieznaną. Zamieszczone w dalszej części mapy stanowią graficzną prezentację liczebności drobnoustrojów wokół fermy drobiu. Obszar ciemnoszary odznacza się najwyższą liczbą mikroorganizmów w próbie powietrza, natomiast obszary jasne oznaczają strefy mniej zanieczyszczone. W celu lepszego zobrazowania zasięgu prognozowanych zanieczyszczeń do grafiki dołączono mapę fermy i jej najbliższej

okolicy. Mapa ta pochodzi z serwisu Geoportal (www.geoportal.gov.pl). Przewidywana najwyższa liczba drobnoustrojów występowała w najbliższej lokalizacji fermy. Jednak ich wysoka liczebność sięgała również poza teren hodowli i obejmowała sąsiednie budynki mieszkalne, znajdujące się na południe od fermy.

Oprogramowanie ArcGIS umożliwia także przeprowadzenie krosvalidacji uzyskanej prognozy (sprawdzenie krzyżowe wyników). Opcja krosvalidacji pozwala prognozować wartości w danym położeniu oraz porównywać je z dostępnymi danymi pomiarowymi (rys. 3). W celu oceny trafności prognozy przeprowadzono krosvalidację z wykorzystaniem narzędzi dostępnych w pakiecie oprogramowania ArcGIS. Tabela 1 zawiera zestawione wartości danych w poszczególnych punktach pomiarowych oraz wartości prognozowanych wraz z obliczonym błędem (Δ), który został wyznaczony jako bezwzględna różnica między wartością modelowaną a zmierzoną. Najmniejsze wartości tego błędu stwierdzono w punktach pomiarowych położonych na zachód od fermy, natomiast największe zanotowano w przypadku punktów zlokalizowanych na północ i północny wschód od fermy (pkt. 8, 12 i 14).



Rys. 3. Porównanie wartości zmierzonych (W_z) z wartościami prognozowanymi z zastosowaniem krigingu prostego (W_p-K_p) i krigingu zwyczajnego (W_p-K_z)

Fig. 3. Comparison of the measured (W_z) and predicted values with the use of simple (W_p-K_p) and ordinary kriging (W_p-K_z)

Na podstawie danych zestawionych w tabeli 1 obliczono sumaryczne statystyki błędu – BIAS, współczynnik korelacji (r) oraz współczynnik determinacji (r^2), które zebrano w tabeli 2. BIAS (średnia arytmetyczna błędów Δ , wartość bezwzględna) jest miarą określającą ogólną tendencję modelu do przeszacowywania ($BIAS > 0$) bądź niedoszacowania wartości obserwowanych. Wszystkie statystyki błędu wyliczono stosując wzory przedstawione w pracy [18].

Tabela 2. Statystyki błędu wyników uzyskanych metodami krigingu prostego (K_p) i zwyczajnego (K_z)
Table 2. Error result statistics obtained by simple (K_p) and ordinary kriging (K_z)

Metoda interpolacji	W_p^{sr} jtk/m ³	r^2	r	BIAS jtk/m ³
K_z	1748	0,21	0,14	82,9
K_p	1672	0,02	0,46	6,9

Porównanie wyników uzyskanych za pomocą metody kriginu prostego i zwyczajnego z wartościami pochodzącymi z pomiarów w 32 punktach poboru próbek powietrza wykazało największą zbieżność wartości wymodelowanych (W_p-K_z i W_p-K_p) ze zmierzonymi (W_z) w miejscach, gdzie zawartość bioareozolu była niewielka, natomiast w miejscach, gdzie zmierzona zawartość bioareozolu w powietrzu znacznie przewyższała normy, wartości zostały niedoszacowane przez model i były bardzo zaniżone. Przedstawione w tabeli 2 wartości podstawowych parametrów statystycznych świadczą o przeszacowaniu wartości uzyskanych z pomocą metody kriginu prostego oraz kriginu zwyczajnego w odniesieniu do danych pomiarowych. Uzyskane wartości współczynników korelacji i determinacji także świadczą o niezbyt dużej zgodności wartości modelowanych z wartościami zmierzonymi.

Duże wahania zmienności parametrów prognozowanych ze zmierzonymi wynikały prawdopodobnie ze specyfiki tego rodzaju zanieczyszczeń. W przypadku zanieczyszczeń mikrobiologicznych bardzo duży wpływ na ich liczebność w powietrzu mają różne czynniki, takie jak siła wiatru oraz wilgotność i temperatura powietrza. Należą one do najbardziej zmiennych parametrów meteorologicznych, szczególnie w odniesieniu do mikroklimatu, podlegających bardzo szybkim zmianom w czasie i przestrzeni i przyczyniających się do uzyskiwania diametralnie różnej liczebności drobnoustrojów określonej w tym samym czasie i w tych samych punktach pomiarowych. Dlatego też tak trudno uwzględnić te parametry środowiskowe podczas modelowania rozkładu zanieczyszczeń przy pomocy kriginu prostego, który w szacowaniu wartości uwzględnia jedynie zależności przestrzenne. Przyczyna małej zbieżności danych pomiarowych oraz prognozowanych może leżeć także po stronie doboru wariogramów empirycznych i wyznaczeniu nieodpowiedniego trendu. Wariogramy empiryczne, sporządzone z uwzględnieniem wartości wskaźników bioareozolu, oznaczały się bowiem nieregularnym przebiegiem, który spowodował znaczne trudności w znalezieniu funkcji teoretycznych, umożliwiających dokładną aproksymację tych wariogramów. Nieregularny przebieg wariogramów empirycznych wynikał prawdopodobnie z małej liczby punktów pomiarowych (32) wykorzystanych do ich konstrukcji. Ze względu na chaotyczny rozkład liczby mikroorganizmów w powietrzu wokół fermy, zgodnie z wynikami prac poświęconych geostatystyce w badaniach przyrodniczych [10–13], w takim przypadku lepiej sprawdza się metoda kriginu zwyczajnego.

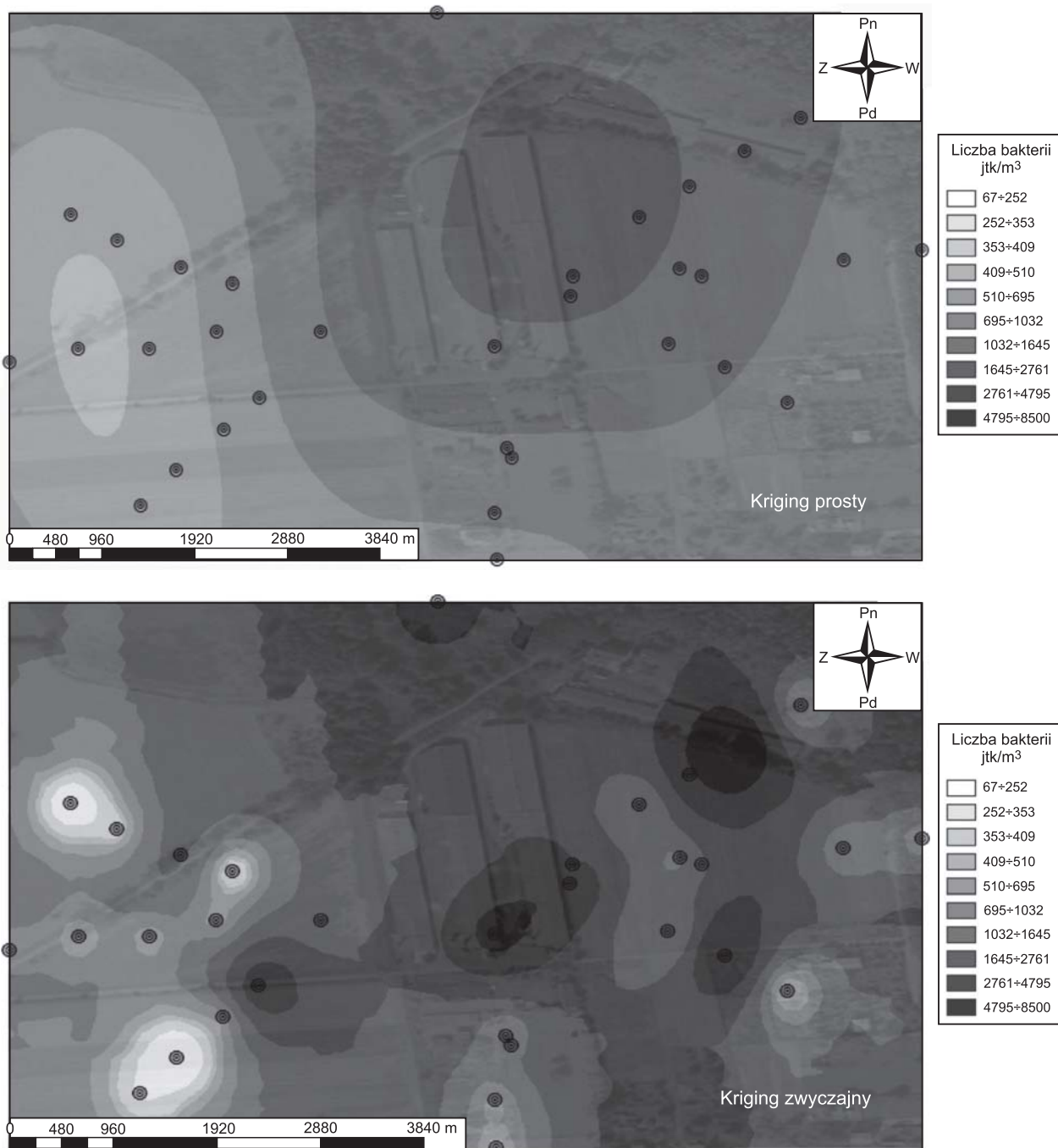
Dyskusja wyników

Wyniki dotyczące ogólnej liczby bakterii stwierdzanych na poszczególnych stanowiskach badawczych zostały przedstawione w tabelach 1 i 2 oraz zobrazowane na mapach cyfrowych (rys. 4), gdzie intensywna szarość oznacza miejsca, w których zostały przekroczone wartości dopuszczalne określone w normie PN-89/Z-04111/02 (Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną). Mapy te obrazują potencjalny rozkład zanieczyszczeń mikrobiologicznych, a tym samym wskazują na strefy najbardziej zagrożone – w tym przypadku miejsca zlokalizowane w odległości o około 125 m od budynku inwentarskiego, w której znajdują się również domy właścicieli i mieszkańców sąsiadujących z fermą.

Praktyczną nowością w niniejszej pracy jest zastosowanie metody interpolacji do oceny jakości mikrobiologicznej powietrza. O ile technika ta ma powszechne zastosowanie w badaniach zanieczyszczeń atmosfery związkami pyłowo-gazowymi, to w analizach biologicznych nie była dotąd stosowana [19,20]. Dotychczasowy brak wykorzystania GIS w wizualizacji zanieczyszczeń emitowanych przez obiekty hodowlane wynikał z faktu, że większość badań związanych ze skażeniem mikrobiologicznym dotyczyła wnętrza ferm. Wciąż jednak niewiele wiadomo na temat możliwego rozprzestrzeniania się drobnoustrojów i emisji zanieczyszczeń do środowiska zewnętrznego. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki potwierdzają słuszność wyrażanego przez szereg autorów poglądu o wyjątkowo wysokiej zawartości mikroorganizmów wewnątrz ferm, które są następnie emitowane poprzez wentylatory wywiewne do otaczającego środowiska. Według dostępnych danych liczba bakterii w fermach waha się zazwyczaj w przedziale od 10^3 jtk/m³ do 10^{10} jtk/m³ [21–28]. W badaniach własnych stwierdzono podobną zależność, odnotowując liczebność bakterii mezofilnych od $1,5 \cdot 10^3$ jtk/m³ do wartości niepoliczalnych. Niepoliczalna liczba drobnoustrojów była związana z przerastaniem płytek agarowych na skutek wysokiego zanieczyszczenia wnętrza fermy. Porównując poziom bakteriologicznego zanieczyszczenia wewnątrz fermy z jakością powietrza w jej otoczeniu należy stwierdzić, że liczebność mikroorganizmów w środowisku zewnętrznym badanego obiektu inwentarskiego była zawsze mniejsza. Z tego względu wydaje się, że prawdopodobnym źródłem drobnoustrojów w otoczeniu są właśnie obiekty gospodarskie. Podobne zależności zostały zaobserwowane przez innych badaczy, którzy również odnotowali większą liczbę drobnoustrojów wewnątrz budynków hodowlanych (maks. $1,6 \cdot 10^4$ jtk/m³) niż na obszarze oddalonym o 10 m i 100 m ($2,0 \cdot 10^3$ jtk/m³) [21–23]. Przypuszcza się, że wysoka liczebność mikroorganizmów w fermie może być związana z niewystarczającą wentylacją powietrza w stosunku do liczby zwierząt przetrzymywanych w kurnikach.

Największą liczbę bakterii ($1,17 \cdot 10^4$ jtk/m³) stwierdzono w punkcie pomiarowym leżącym w najbliższym otoczeniu fermy, jak również w punktach oddalonych o 100 m ($8,5 \cdot 10^3$ jtk/m³), 75 m ($7,2 \cdot 10^3$ jtk/m³) oraz 25 m ($6,5 \cdot 10^3$ jtk/m³) od badanego obiektu. Uzyskane wyniki wskazywały na silne zanieczyszczenie powietrza na tych stanowiskach i przekroczenie w tych punktach dopuszczalnych norm. W pozostałych lokalizacjach ogólna liczba bakterii kształtowała się w zakresie od $6,7 \cdot 10^1$ jtk/m³ do $4,5 \cdot 10^3$ jtk/m³. Z uzyskanych danych wynika, że najbardziej narażone na oddziaływanie bioareozolu są obszary w najbliższym sąsiedztwie wentylatorów wywiewnych, które mają największy udział w emisji drobnoustrojów. W trakcie sesji pomiarowych próbki powietrza pobierane były w dniu słonecznym, kiedy temperatura powietrza wynosiła średnio 21,5°C, a wilgotność powietrza 65% (dominował południowy kierunek wiatru). Należy zatem stwierdzić, że w tym czasie panowały korzystne warunki pogodowe do rozwoju i rozprzestrzeniania się mikroflory w powietrzu. Z wcześniejszych badań własnych przeprowadzonych na terenie tej fermy wynika, że w chłodniejszych miesiącach roku liczebność mikroorganizmów w powietrzu była mniejsza niż w miesiącach cieplejszych [3].

Prezentowane dane dowodzą, że współczesna wielkotowarowa hodowla zwierząt stanowi ogromne obciążenie środowiska, zarówno w przypadku gleby i wód, jak i powietrza. Obiekty hodowlane są bowiem emitorem pokazywanych



Rys. 4. Mapy rastrowe przestrzennego rozkładu bakterii w powietrzu wokół fermy drobiu (32 punkty pomiarowe) otrzymane metodami kriginu prostego i kriginu zwyczajnego

Fig. 4. Raster maps of spatial distribution of microbiological pollutants (32 measurement points) in the air around the farm, generated with simple and ordinary kriging

ilości pyłów, związków chemicznych oraz aerozoli biologicznych [3, 22, 23, 29]. Budynki inwentarskie są swoistego rodzaju inkubatorami, w których bardzo dobre warunki do rozwoju znajdują drobnoustroje i różnego rodzaju stadia pasożytów, głównie cysty pasożytniczych pierwotniaków oraz jaja tasiemców czy roztoczy. Ich przeżywaniu sprzyja wysoka wilgotność i wyższa niż na zewnątrz temperatura powietrza [22]. Nie bez znaczenia jest również fakt, że na niewielkiej przestrzeni zgromadzona jest duża liczba zwierząt, co sprzyja szerzeniu się chorób infekcyjnych i inwazyjnych w pomieszczeniach gospodarskich [21]. Ponadto mikroorganizmy, ze względu na swoją niewielką masę, swobodnie unoszą się w powietrzu, a wraz z nim wydostają się na zewnątrz. Możliwe jest więc przenoszenie

chorób drogą aerogenną pomiędzy sąsiadującymi budynkami, zwłaszcza że jedną z głównych dróg przemieszczania się cząstek aerozoli biologicznych są systemy wentylacyjno-klimatyzacyjne [3, 29].

Identyfikacja drobnoustrojów w powietrzu fermy dowiodła występowania wielu gatunków chorobotwórczych i względnie chorobotwórczych. Wśród mikroorganizmów zidentyfikowanych w otoczeniu budynku inwentarskiego, jak też w jego wnętrzu, były drobnoustroje zakwalifikowane do grupy mikroorganizmów mogących wywołać choroby i niebezpiecznych przede wszystkim dla pracowników narażonych na ich długotrwałą ekspozycję. Należą do nich bakterie *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp.,

Enterococcus spp., *Escherichia coli*, *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii*, *Streptococcus* spp. Ich liczebność, w szczególności *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* oraz *Streptococcus* spp., była wysoka, w związku z czym pracownicy ferm byli narażeni na bezpośredni kontakt z czynnikami biologicznymi stanowiącymi zagrożenie ich zdrowia. Mikroorganizmy te zostały wymienione w rozporządzeniu Ministra Zdrowia z 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. nr 81, poz. 716).

W związku z realnym zagrożeniem, stałe monitorowanie rozprzestrzeniania się drobnoustrojów jest zagadnieniem bardzo istotnym [22]. Przedstawienie wyników badań na mapach cyfrowych nie tylko ułatwia ich interpretację, ale przede wszystkim może usprawnić działania profilaktyczne w zakresie szeroko rozumianej ochrony środowiska, jak również ochrony zdrowia pracowników, właścicieli ferm i mieszkańców osiedli zlokalizowanych w niedalekim sąsiedztwie obiektów inwentarskich. Mapę przestrzennego rozkładu bakterii wokół fermy sporządzono w oparciu o trzy serie pomiarowe przeprowadzone jednego dnia, dlatego też trudno było stwierdzić, jak duży może być obszar zagrożony wysoką liczebnością drobnoustrojów. Ich rozprzestrzenianie się w dużym stopniu uzależnione jest bowiem od warunków atmosferycznych, w szczególności od siły i kierunku wiatru. W dniu przeprowadzenia pomiarów wiatr był umiarkowanie silny, dominował kierunek południowy (Biuletyn Meteorologiczny Zakładu Klimatologii i Ochrony Atmosfery Uniwersytetu Wrocławskiego). Była to bardzo prawdopodobna przyczyna przesunięcia strefy najwyższych prognozowanych wartości liczby drobnoustrojów w próbkach powietrza w kierunku północnym. Ze względu na krótką serię pomiarową oraz brak szczegółowych danych meteorologicznych, zamieszczone w pracy mapy rozkładu przestrzennego drobnoustrojów w powietrzu należy traktować jako próbę zastosowania technologii GIS, w tym geostatystyki, w opracowaniach poświęconych skali i rozprzestrzenianiu się zanieczyszczeń mikrobiologicznych. Niemniej jednak próba ta w formie graficznej dała obiecujące rezultaty. Dalsze badania mające na celu ocenę wpływu warunków meteorologicznych na rozprzestrzenianie się drobnoustrojów i dopracowanie modelu geostatystycznego powinny dać wiarygodne opracowania przedstawiające wpływ ferm oraz innych zakładów uciążliwych na najbliższe otoczenie.

Podsumowanie

Doświadczenia wynikające z przeprowadzonej oceny stanu zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza na terenie i w sąsiedztwie wybranej fermy drobiu mogą mieć bezpośredni wpływ na kształtowanie lokalnych strategii prozdrowotnych, czy też architektoniczno-urbanistycznych, związanych przede wszystkim z wyborem lokalizacji terenów zabudowy mieszkaniowej. Uzyskane wyniki oraz brak podobnych opracowań w Polsce wskazują na potrzebę prowadzenia takich studiów i analiz w celu poprawy jakości życia ludzi mieszkających w najbliższym sąsiedztwie ferm z jednej strony, a z drugiej eliminacji nieuzasadnionego lęku w przypadku braku takich zagrożeń.

Zaawansowane narzędzia geoinformatyczne, stworzone z myślą o modelowaniu kartograficznym oraz analizach przestrzennych w geografii, mogą być z powodzeniem

stosowane do analizy danych z zakresu epidemiologii. Zastosowane metody kriginu prostego i zwyczajnego sprawdziły się jako sposób wizualizacji rozkładu przestrzennego drobnoustrojów wokół fermy drobiu. Nie sprawdziły się natomiast jako metoda szacowania liczebności drobnoustrojów, co najprawdopodobniej wynikało z braku możliwości uwzględnienia czynników meteorologicznych w analizach przeprowadzanych tą metodą. Dalsze prace powinny być skupione na doborze metody, która umożliwi uwzględnienie warunków mikroklimatycznych (wilgotność, temperatura powietrza, kierunek i prędkość wiatru) w analizie przestrzennej. Metoda kriginu prostego opiera się jedynie na przestrzennej zależności pomiędzy punktami pomiarowymi. W przypadku zanieczyszczeń mikrobiologicznych zależności te okazują się bardziej skomplikowane i zależne od wielu czynników (nie tylko od odległości pomiędzy punktami pomiarowymi). Z tego względu metoda kriginu prostego nie sprawdziła się w przypadku danych chaotycznych – lepsze rezultaty w takich przypadkach uzyskuje się wykorzystując krigin zwyczajny.

Wizualizacja wyników analiz mikrobiologicznych na mapach rastrowych umożliwia systematyczną ocenę sytuacji epidemiologicznej, a także ułatwia planowanie przestrzenne oraz podejmowanie racjonalnych działań profilaktycznych w zakresie ochrony zdrowia. Założone kartowanie pozwoliło na unowocześnienie problematyki bakteriologiczno-mikologicznej i związanych z tym zagrożeń środowiskowych w sposób czytelny i obiektywny. Z drugiej zaś strony cyfrowo zakodowane dane mogą być ogólnodostępne, co powinno umożliwić np. służbom administracji publicznej – w tym kontroli sanitarnej – prowadzenie publicznie dostępnego wykazu danych o zagrożeniach mikrobiologicznych.

LITERATURA

1. B. BAKUTIS, E. MONSTEVILIENE, G. JANUSKIVICIENE: Analyses of airborne contamination with bacteria, endotoxins and dust in livestock barns and poultry houses. *Acta Veterinaria Brno* 2004, Vol. 73, pp. 283–289.
2. B. KOLWZAN, P. JADCZYK, G. PASTERNAK, J. GŁUSZCZAK, M. PAWLIK, M. KRAWCZYŃSKA, J. KLEIN, J. RYBAK: Ocena stanu sanitarnego powietrza w otoczeniu wybranej oczyszczalni ścieków (Assessing air quality in the proximity of a municipal sewage treatment plant: A case study). *Ochrona Środowiska* 2012, vol. 34, nr 2, ss. 9–14.
3. E. LONC, K. PLEWA, A. WIELICZKO: Potencjalne mikrobiologiczne zagrożenia dla ludzi i zwierząt na fermach drobiu. W: A. WIELICZKO [red.]: Aktualne problemy w patologii ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów. F.P.H. ELMA, Wrocław 2011, ss. 164–172.
4. R. GÓRNY: Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 2004, vol. 3, nr 41, ss. 17–39.
5. N.M.X. FARIA, L.A. FACHINI, A.G. FASSA, E. TOMASI: Farm work, dust exposure and respiratory symptoms among farmers. *Revista de Saúde Pública*. 2006, Vol. 40, No. 5, pp. 1–6.
6. L. STETZENBACH: Microorganisms and indoor air quality. *Clinical Microbiology Newsletter* 1998, Vol. 20, No. 9, pp. 116–125.
7. P. LONGLEY, M. GOODCHILD, D. MAGUIRE, D. HIND: GIS. Teoria i praktyka. Wydawnictwo PWN, Warszawa 2006.
8. M. SEJ-KOLASA, Z. JAŁA: Systemy informacji geograficznej. W: A. ZIELIŃSKA [red.]: Natura 2000 w Euroregionie Nysa. Centrum Samorządu Lokalnego FRDL, Jelenia Góra 2005, ss. 145–186.
9. D. BOONE, R. CASTENHOLT. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins Co., Baltimore 1984.

10. Z. USTRNUL, D. CZEKIERDA: Metody analizy przestrzenno-czasowej w badaniach klimatologicznych na przykładzie Polski. *Rocznik Geomatyki* 2006, vol. IV, nr 2, ss. 147–156.
11. E. ŁUPIKASZA, Z. USTRNUL, D. CZEKIERDA: Rola zmieniennych objaśniających w interpolacji przestrzennej wybranych elementów klimatu. *Rocznik Geomatyki* 2007, vol. V, ss. 55–66.
12. Z. USTRNUL, P. STEFANOFF, D. CZEKIERDA: Warunki pogodowe jako jeden z czynników rozwoju chorób odkleszczowych w Polsce. *Rocznik Geomatyki* 2008, vol. VI, nr 2, ss. 113–119.
13. J. BAC-BRONOWICZ: Methods of the visualisation of precipitation based on various observation measurement periods in GIS, Man and climate in the 20th century. *Studia Geograficzne* 2003, Vol. 75, pp. 559–563.
14. J. BLACHOWSKI. Wprowadzenie do systemów GIS w środowisku ArcGIS Esri. Politechnika Wrocławska 2010.
15. A. BRANDYK, G. MAJEWSKI, L. PORRETTA: Próba zastosowania metody krigingu do wykonania map izolinii stężenia pyłu zawieszonego PM10 dla rejonu aglomeracji warszawskiej. *Przegląd Naukowy Inżynieria i Kształtowanie Środowiska* 2007, vol. 16, nr 2, ss. 93–100.
16. J. URBĄSKI: GIS w badaniach przyrodniczych. Uniwersytet Gdański, Gdańsk 2008.
17. N. CRESSIE. Statistics for Spatial Data. John Wiley and Sons, New York 1991.
18. S. YU, B. EDER, R. DENNIS, S. CHU, S.E. SCHWARTZ: An unbiased symmetric metrics for evaluation of air quality models. *Atmospheric Science Letters* 2006, No. 7, pp. 26–34.
19. R. SZCZEPANEK. Czasoprzestrzenna struktura opadu atmosferycznego w zlewni górskiej. Praca doktorska, Politechnika Krakowska, Kraków 2003.
20. H. POTOGLOU, P.S. KANAROGLOU: Carbon monoxide emissions from passenger vehicles: Predictive mapping with an application to Hamilton, Canada. *Transportation Research Part D: Transport and Environment* 2005, Vol. 10, pp. 97–109.
21. K. RADON, B. DANSER, M. IVERSEN, E. MONSO, C. WEBER, J. HARTUNG, K.J. DONHAM, U. PALMGREN, D. NOWAK: Air contaminants in different European farming environments. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2002, Vol. 9, pp. 41–48.
22. M. VUČEMILO, B. VINKOVIĆ, K. MATKOVIĆ: Influence of broilers age on airborne pollutant content in poultry house. *Krmiva* 2006, Vol. 48, pp. 3–6.
23. M. VUČEMILO, K. MATKOVIĆ, B. VINKOVIĆ, S. JAKŠIĆ, K. GRANIĆ, N. MAS: The effect of animal age on air pollutant concentration in a broiler house. *Czech Journal of Animal Science* 2007, Vol. 52, No. 6, pp. 170–174.
25. T. MITUNKIEWICZ, J. SOWIŃSKA, A. WÓJCIK, K. IWAŃCZUK-CZERNIK, D. WITKOWSKA, J. BANAŚ: Effect of disinfectants on physicochemical parameters of litter, microbiological quality of poultry house air, health status and performance of broiler chickens. *Polish Journal of Environmental Studies* 2008, Vol. 17, No. 5, pp. 745–750.
26. A. WÓJCIK, Ł. CHORAŻY, T. MITUNIEWICZ T, D. WITKOWSKA, K. IWAŃCZUK-CZERNIK, J. SOWIŃSKA: Microbial air contamination in poultry houses in the summer and winter. *Polish Journal of Environmental Studies* 2010, Vol. 19, No. 5, pp. 1045–1050.
27. B. TOMBARKIEWICZ, J. GRZYB, K. PAW, J. NIEDZIÓŁKA, M. LIS, I. NAJBOR: Contaminations of air in the area of dairy cattle farm. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu* 2004, nr 501, ss. 331–339.
28. O. SZELESZCZUK, T. TOMBARKIEWICZ, J. NIEDZIÓŁKA, P. NIEDBAŁA: Microbiology and parasitology of internal and external environments of the nutria farm. *Naukowo-Techniczny Biuletyn Instytutu Biologii Twarin* 2001, No. 4, pp. 379–389.
29. E. LONC, K. PLEWA: Microbiological air contamination in poultry houses. *Polish Journal of Environmental Studies* 2009, Vol. 14, No. 4, pp. 445–449.

Plewa-Tutaj, K., Pietras-Szewczyk, M., Lonc, E. Attempt to Estimate Spatial Distribution of Microbial Air Contamination on the Territory and in Proximity of a Selected Poultry Farm. *Ochrona Środowiska* 2014, Vol. 36, No. 2, pp. 21–28.

Abstract: Intensive poultry farming poses a serious health hazard as a source of bioaerosol that may lead to local and more extensive air pollution. The aim of the research was to investigate numbers of airborne bacteria inside and outside poultry houses as well as to visualize spatial distribution of bioaerosol using geoinformatic methods. ArcGIS software was used for spatial analysis of the results while interpolation methods, simple kriging and ordinary kriging,

to create maps of distribution of microbial contamination. The results obtained confirmed high concentration of microorganisms in indoor air, which may spread as bioaerosol via ventilation system outdoors. Microbiological data presented on raster maps illustrate, with the use of GIS techniques, potential spread of microbial contaminants, thus, indicating the areas most at risk. Conclusions drawn from the research findings may be employed for local health or urban architectural strategy formation, mostly in relation to the choice of housing estate locations.

Keywords: Air pollution, bioaerosol, GIS, spatial analysis, simple kriging, ordinary kriging.