

ΔΠ
1096

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΜΕΤΡΗΣΗ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΠΛΗΣΙΟΝ ΧΩΡΩΝ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ»

ΑΝΔΡΕΑΣ Γ. ΠΑΝΟΥΣΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗΣ (επιβλέπων)
ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΑΡΑΚΑΣΗΣ
ΜΙΧΑΛΗΣ ΛΑΖΑΡΙΔΗΣ

Χανιά
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2002

*Η εργασία αυτή αφιερώνεται στο περιβάλλον
και στο καθήκον μας να το προστατεύουμε.*

*Επίσης αφιερώνεται στους δύο συναδέλφους
μου στην ΙΟΨΑ..*

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία αφορά την μελέτη και την ανάλυση δειγμάτων βιοαεροζόλ, σε χώρους διάθεσης απορριμμάτων. Το βιοαεροζόλ είναι αεροζόλ βιολογικής προέλευσης το οποίο ασκεί βιολογική δράση σε ζώα και φυτά, προσβάλλοντας τη βιωσιμότητα, την μεταδοτικότητα, την αλλεργικότητα, την τοξικότητα και την φαρμακολογία τους. Τα δείγματα βιοαεροζόλ, ελήφθησαν από τον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου και την ανεξέλεγκτη χωματερή του Κουρουπητού (Ν. Χανίων).

Ο σκοπός των δειγματοληψιών, ήταν να βρεθούν οι συγκεντρώσεις βακτηρίων και μυκήτων στο βιοαεροζόλ και να εκτιμηθεί αν αυτές οι συγκεντρώσεις εγκυμονούν κινδύνους για την υγεία των εργαζομένων των χώρων αυτών και των κατοίκων των γύρω περιοχών.

Οι δειγματοληψίες έγιναν με την χρήση συσκευής πακτώματος, που λειτουργεί βασιζόμενη στην μέθοδο Andersen (MAS 100) και οι αναλύσεις των δειγμάτων έγιναν με την μέθοδο Colony Forming Units, χρησιμοποιώντας δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών διαμέτρου 90 mm.

Στο κεφάλαιο 1, γίνεται αναλυτική περιγραφή των χαρακτηριστικών και των φυσικοχημικών, βιολογικών ιδιοτήτων του βιοαεροζόλ, των πηγών του, του τρόπου μεταφοράς του και των επιπτώσεών του στην υγεία. Στο κεφάλαιο 2, αναλύονται οι τρόποι δειγματοληψίας. Στο κεφάλαιο 3 αναλύονται οι τρόποι ανάλυσης των δειγμάτων βιοαεροζόλ. Στο κεφάλαιο 4, γίνεται περιγραφή των χώρων διάθεσης απορριμμάτων. Στο κεφάλαιο 5 περιγράφονται ο τρόπος συλλογής, τα σημεία και οι συνθήκες δειγματοληψίας καθώς και το όργανο και τα περιβάλλοντα ανάπτυξης των μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν. Τέλος, στο κεφάλαιο 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών καθώς και τα συμπεράσματα και οι παρατηρήσεις πάνω σε αυτά.

Τα επίπεδα συγκέντρωσης των βακτηρίων και μυκήτων στο βιοαεροζόλ, λόγω της φύσης του βιότοπου, ήταν αρκετά αυξημένα ώστε να εγκυμονούν κινδύνους για την υγεία. Η συγκέντρωση βρέθηκε να μειώνεται σε σχέση με την οριζόντια απόσταση και με το ύψος. Με στατιστική επεξεργασία (τυπική απόκλιση), η αξιοπιστία της μεθόδου CFU και του οργάνου πάκτωσης MAS-100 βρέθηκε ικανοποιητική.

2.2.7.1	ΦΙΛΤΡΑ ΑΠΟ ΜΕΜΒΡΑΝΗ	38
2.2.8	ΘΕΡΜΙΚΗ ΚΑΘΙΖΗΣΗ	38
3	ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	40
3.1	COLONY FORMING UNITS)	40
3.2	ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ	40
3.3	ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ	42
3.4	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	43
4	ΧΩΡΟΙ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ	44
4.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	44
4.2	ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΤΑΦΗ	44
4.3	ΑΝΕΞΕΛΕΚΤΗ ΑΠΟΡΡΙΨΗ-ΜΗ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΔΙΑΘΕΣΗ	46
4.4	ΤΑ ΑΕΡΙΑ ΤΩΝ ΧΩΡΩΝ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ	46
4.4.1	ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΕΡΙΩΝ-ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ-ΣΥΝΘΕΣΗ	46
4.4.2	ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΗΜΙΟΥΡΓΟΥΝ ΤΑ ΑΕΡΙΑ	49
4.5	ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΑΠΟ ΤΑ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΑ	49
4.5.1	ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΑΠΟ ΤΗ ΣΚΟΠΙΑ ΤΗΣ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ	50
4.5.2	ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΣΚΟΠΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ	52
5	ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
5.1	ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ	53
5.1.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	53
5.1.2	ΤΡΟΠΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ, ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	54
5.1.3	ΣΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	55
5.2	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	59
5.2.1	ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ	59
5.2.2	ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	60
5.2.2.1	ΕΙΔΗ ΑΓΑΡ	61
6	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ	65
6.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	65
6.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	65
6.3	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	87
6.3.1	ΧΥΤΑ ΡΕΘΥΜΝΟΥ	87
6.3.2	ΚΟΥΡΟΥΠΗΤΟΣ	88
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	90

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1	ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ	8
1.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.2	ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ	9
1.2.1	ΣΧΗΜΑ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ	9
1.2.2	ΚΙΝΗΣΗ BROWN	9
1.2.3	ΑΠΩΛΕΙΕΣ	10
1.2.4	ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ	12
1.2.5	ΣΧΕΤΙΚΗ ΥΓΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΥΓΡΟΣΚΟΠΙΑ	12
1.2.6	ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΕΡΟΖΟΛ	13
1.2.7	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	14
1.2.7.1	ΒΑΚΤΗΡΙΑ	14
1.2.7.2	ΚΟΛΙΦΑΓΟΙ	18
1.2.7.3	ΜΥΚΗΤΕΣ	18
1.2.7.4	ΙΟΙ	20
1.2.7.5	ΑΛΛΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑ	21
1.3	ΠΗΓΕΣ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ	23
1.4	ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ	25
1.4.1	ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ	25
1.4.2	ΑΛΛΕΡΓΙΑ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΑΕΡΟΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ	26
1.4.3	ΑΛΛΕΡΓΙΑ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΪΝΟΥΧΑ ΥΛΙΚΑ (ΜΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ)	27
1.4.4	ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ	27
2	ΤΡΟΠΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	29
2.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	29
2.2	ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΑΕΡΟΖΟΛ	29
2.2.1	ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ	29
2.2.2	ΚΑΤΑΚΑΘΙΣΗ/ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΔΡΑΝΕΙΑΣ	30
2.2.3	ΟΠΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ	32
2.2.3.1	ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	32
2.2.4	ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΔΙΑΔΟΧΙΚΟΥ ΠΑΚΤΩΜΑΤΟΣ, ΚΟΣΚΙΝΑ ΚΑΙ ΕΠΑΛΛΗΛΑ ΚΟΣΚΙΝΑ	33
2.2.4.1	ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΔΙΑΔΟΧΙΚΟΥ ΠΑΚΤΩΜΑΤΟΣ	33
2.2.4.2	ΚΟΣΚΙΝΑ	34
2.2.4.3	ΕΠΑΛΛΗΛΑ ΚΟΣΚΙΝΑ	34
2.2.5	ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΠΤΕΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ	36
2.2.6	ΠΡΟΣΚΡΟΥΤΕΣ	36
2.2.7	ΔΙΥΛΙΣΗ	37

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Συγκεντρωτικά οι πιο πιθανοί στόχοι των μορίων	13
Πίνακας 2: Τεχνικές μέτρησης της διανομής μεγεθών των σωματιδίων	30
Πίνακας 3: Σύσταση των αερίων των χώρων διάθεσης απορριμμάτων	47
Πίνακας 4: Φυσικοχημικές ιδιότητες βιοαερίου	49
Πίνακας 5: Μεταδιδόμενες ασθένειες	50
Πίνακας 6: Προκαλούμενες ασθένειες από παθογόνους μικροοργανισμούς και παράσιτα και τα όρια επιβίωσης σε σχέση με την θερμοκρασία	51
Πίνακας 7: Ταξινόμηση σύμφωνα με τα Federal Standard 209E (United States), USP	60
Πίνακας 8: Μικροβιακά όρια σύμφωνα με την USP	60
Πίνακας 9: Έλεγχος ποιότητας	62
Πίνακας 10: Ταυτοποίηση μικροοργανισμών μέσω του χρώματος τους	62
Πίνακας 11: Έλεγχος ποιότητας	63
Πίνακας 12: Ταυτοποίηση μικροοργανισμών μέσω του χρώματος τους	63
Πίνακας 13: Αποτελέσματα πρώτης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)	65
Πίνακας 14: Αποτελέσματα δεύτερης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)	67
Πίνακας 15: Αποτελέσματα τρίτης δειγματοληψίας(Κουρουπητός)	70
Πίνακας 16: Αναγνώριση μυκήτων	72
Πίνακας 17: Αποτελέσματα πρώτης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)	72
Πίνακας 18: Αποτελέσματα δεύτερης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)	73
Πίνακας 19: Αποτελέσματα τρίτης δειγματοληψίας(Κουρουπητός)	75

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Διάφοροι τύποι προκαρυωτικών βακτηριδίων: α) ραβδοειδή, β) κοκκοειδή, γ) ελικοειδή, δ) αστεροειδή, ε) τετράγωνα	14
Εικόνα 2: Αεροζόλ επιβίωση του <i>Escherichia Coli</i> B, ψεκάσμενο από αιώρημα αποσταγμένου νερού και αποθηκευμένο σε νιτρώδης ατμόσφαιρες	16
Εικόνα 3: Αεροζόλ επιβίωση του <i>Echerichia Coli</i> Jerr ψεκάσμενο από αιώρημα, σε γλυκερόλη 0.3M σε νιτρώδης ατμόσφαιρες και αναδιατηρημένη υγρασία πριν την συλλογή σε: φωσφορικό άλας, φωσφορικό άλας και M sucrose-----	17
Εικόνα 4: Αεροζόλ επιβίωση του <i>Klebseila pneumoniae</i> ψεκάσμενο σε νιτρώδης ατμόσφαιρες: απευθείας συλλογή, σε διατηρημένη υγρασία πριν την συλλογή -----	17
Εικόνα 5: παρακολούθηση με φωτομικρογράφου ηλεκτρονίων, κονιντιοφόρων του <i>Penicillium camembertii</i> που αναπαράγει αλυσίδες σπορίων. κλίμακα 20μm	18
Εικόνα 6: Αερομεταφερόμενα σπόρια μυκητών απελευθερομένα από διαταραγμένα από 'αχυρα και παγιδευμένα σε May/RE cascade συσκευή πάκτωσης	19
Εικόνα 7: Αεροζόλ επιβίωση του ιού <i>mengos</i>	21
Εικόνα 8: Μορφές ευκαρυωτικών οργανισμών-φύκι	22
Εικόνα 9: : Μορφές ευκαρυωτικών οργανισμών-πρωτόζωα	23
Εικόνα 10: Εξιθανικευμένη πάκτωση σωματιδίου σε στενό άνοιγμα εισροής	31
Εικόνα 11: Μικροβιακή συσκευή πακτώματος Andersen	34
Εικόνα 12: Υγρός προσκρουτής AGI-30	37
Εικόνα 13: Επιχωμάτωση στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου	45
Εικόνα 14: Περίφραξη στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου	45
Εικόνα 15: Σύσταση αερίων στους χώρους διαθέσεως απορριμμάτων	48
Εικόνα 16: ΧΥΤΑ Ρεθύμνου	53
Εικόνα 17: Χωματερή Κουρουπητού	54
Εικόνα 18: Δειγματοληψία σε απόσταση 1 m από την χωματερή, στο έδαφος στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου	55
Εικόνα 19: Δειγματοληψία σε απόσταση 10 m από την χωματερή, στο έδαφος στην χαράδρα του Κουρουπητού	56
Εικόνα 20: Δειγματοληψία σε απόσταση 100 m από την χωματερή, στο έδαφος στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου	56

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1 ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα σωματίδια μεγέθους μικρομέτρων τα οποία αιωρούνται στον αέρα ή σε άλλου είδους αέριο περιβάλλον, γενικά αναφέρεται ως αεροζόλ. Σε αντίθεση ο όρος βιοαεροζόλ είναι πιο περιορισμένος και η επεξήγηση του όρου που δίνεται είναι "αεροζόλ βιολογικής προέλευσης το οποίο ασκεί βιολογική δράση σε ζώα και φυτά, προσβάλλοντας τη βιωσιμότητα, την μεταδοτικότητα, την αλλεργικότητα, την τοξικότητα και την φαρμακολογία τους ή άλλες βιολογικές ιδιότητες τους, έχοντας αεροδυναμική διάμετρο με εύρος 0,5 έως 100 μm και συγκέντρωση στον αέρα να κυμαίνεται από 1 έως 10^6 σωματίδια ανά κυβικό μέτρο αέρα". Τα άνω και κάτω όρια του μεγέθους του σωματιδίου γενικά ρυθμίζονται από τις συνθήκες που δημιουργήσαν το βιοαεροζόλ. Σύμφωνα με μια πολύ σημαντική άποψη, όλα τα σωματίδια του αεροζόλ διακρίνονται από μια ομοιότητα όσον αφορά την αεροδυναμική τους συμπεριφορά συνεπώς τα σωματίδια του βιοαεροζόλ υπακούουν τους ίδιους φυσικούς νόμους με τα σωματίδια του αεροζόλ [1].

Τα σωματίδια του βιοαεροζόλ είναι σχεδόν πάντα παρόντα στον αέρα εξωτερικών χώρων αν και ο αριθμός, το είδος και η βιωσιμότητα τους αλλάζουν με τον χρόνο, τις καιρικές συνθήκες και την γεωγραφική κατανομή. Τα σωματίδια από τις τοπικές περιοχές όμως, συνήθως επικρατούν. Τα περισσότερα σωματίδια του βιοαεροζόλ είναι γύρη λουλουδιών, σπόρια μυκήτων, φύκη και βρύα. Βρίσκονται από το επίπεδο του εδάφους έως μεγάλα υψόμετρα, ενώ η παρουσία τους πάνω από την τροπόσφαιρα δεν έχει καταγραφεί. [1].

Η αεροβιολογία είναι μια επιστήμη που δεν έχει δικιά της ταυτότητα και απλά συνενώνει τις μεθοδολογίες της μυκητολογίας, ιολογίας, βακτηριολογίας, παθολογίας φυτών, φυκολογίας και βοτανικής, με την επιστήμη σχετικά με τα αεροζόλ και την μετεωρολογία. Καθιστά δυνατή την συλλογή, ανάπτυξη, χαρακτηρισμό και ταυτοποίηση των συστατικών του βιοαεροζόλ έτσι ώστε να καταλαβαίνουμε την βιολογία των οργανισμών και πώς βρίσκονται στον αέρα. Παρέχει το πλαίσιο εργασίας για τον κατάλληλο σχεδιασμό και ερμηνεία των μελετών, καθώς και βοηθάει στην παραγωγή του βέλτιστου σχεδιασμού των συλλεκτών, στην κατανόηση των ορίων τους και μελέτη του φαινομένου της διασποράς των σωματιδίων [1].

Κανένα μέχρι τώρα συστατικό του βιοαεροζόλ δεν έχει γίνει γνωστό να συμπληρώνει το κύκλο ζωής του στον αέρα, αν και μερικές φορές συντελείται πολλαπλασιασμός των βακτηρίων. Μελέτες του βιοαεροζόλ εξωτερικών χώρων, έχουν περιγραφεί ως αναβιολογία εξωτερικών χώρων εφόσον τα περισσότερα σωματίδια έχουν χαμηλούς ρυθμούς μεταβολισμού (αναβίωση ή υποβίωση). Σημαντικές γίνονται, μόνο όταν τα σωματίδια πέφτουν και προσκρούουν σε άλλους οργανισμούς ή στο περιβάλλον, συντελώντας στην γονιμοποίηση των φυτών με γύρη, στην αποίκηση νέων υποστρωμάτων, στην εξάπλωση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών, στην πρόκληση ασθενειών στα ζώα ή στα φυτά, καθώς και αλλεργιών στον άνθρωπο. Η έκταση όμως αυτής της πρόσκρουσης εξαρτάται από το αν το περιβάλλον παρέχει τις κατάλληλες συνθήκες για μετάδοση και ανάπτυξη των μικροοργανισμών [1].

1.2 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ

1.2.1 ΣΧΗΜΑ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ

Τα σωματίδια του βιοαεροζόλ έχουν πολύ μεγάλη ποικιλία σχήματος όπως, σφαιρικά, σφαιροειδή, ευθύγραμμα ή ακόμα και ακανόνιστα. Μία εξήγηση για την ύπαρξη αυτής της ποικιλίας, είναι η αρχή της αεροδυναμικής διαμέτρου. Συνεπώς, στην διάρκεια του φαινομένου καθίζησης λόγω βαρύτητας, τα δύο σωματίδια κατά την διάρκεια της πτώσης θα έχουν την ίδια ταχύτητα, παρότι έχουν διαφορετικές φυσικές διαστάσεις και πυκνότητα. Για συσκευές μεγάλων διαστάσεων που βασίζονται στην αεροδυναμική συμπεριφορά του σωματιδίου (π.χ συσκευές συλλογής δείγματος) αυτή είναι μια χρήσιμη αρχή, ειδικά γι'αυτές τις εφαρμογές όπου το ενδιαφέρον έγκειται στον κύριο έλεγχο της συμπεριφοράς του σωματιδίου, όπως η συμπεριφορά στην αναπνευστική οδό [1].

Αντίθετα, για τα λιγότερο διασκορπισμένα, η αρχή αυτή δεν είναι πολύ χρήσιμη για τους βασικούς μετρητές και για τις συσκευές που ταξινομούν σύμφωνα με το μέγεθος επειδή το μετρούμενο μέγεθος εξαρτάται από την ένταση του διασκορπισμού και άρα την περιβαλλοντική προσαρμογή του μη σφαιρικού σωματιδίου την στιγμή της μέτρησης. Εν τούτοις, κοινή πρακτική είναι να βαθμονομούμε τις συσκευές μόνο με σφαιρικά σωματίδια [1].

Υπάρχει αύξηση του ενδιαφέροντος για τις επιδράσεις που προκαλεί το σχήμα του σωματιδίου, καθώς και με την διαθεσιμότητα καθορισμένων σχημάτων σωματιδίων. Για παράδειγμα, για τα σωστά αποτελέσματα των συσκευών που χρησιμοποιούνται για δειγματοληψία, είναι απαραίτητα και το σχήμα και το μέγεθος των σωματιδίων. Σημαντικό είναι, πως οι τιμές του μεγέθους του σωματιδίου που καθορίζονται από διάφορα όργανα, επηρεάζονται από το σχήμα και πιθανό είναι να γίνονται λανθασμένες καταμετρήσεις. Επίσης, σημαντικό είναι πως περιγράφεται επίσημα το σχήμα του σωματιδίου και η επίδρασή του στις βιολογικές ιδιότητες των σωματιδίων του βιοαεροζόλ [1].

1.2.2 ΚΙΝΗΣΗ BROWN

Τα σωματίδια του βιοαεροζόλ βομβαρδίζονται συνεχώς από μόρια από το περιβαλλόμενο μέσο, τα οποία κινούνται τυχαία. Οποιαδήποτε μεταδιδόμενη κίνηση είναι επίσης και αυτή τυχαία και το τελικό αποτέλεσμα είναι ότι τα μικρότερα σωματίδια του βιοαεροζόλ διαταράσσονται σχετικά με την κατεύθυνση στην οποία κινούνταν. Αυτού του είδους η κίνηση ονομάζεται κίνηση Brown και η ένταση της αυξάνεται με την θερμοκρασία και με την μείωση του μεγέθους των σωματιδίων [1].

Μπορεί να εκφραστεί με την εξίσωση του Einstein σε μια απλή της μορφή:

$$\bar{X} = 5 * 10^{-6} * \sqrt{\frac{t}{r}}$$

όπου \bar{X} = η μέση τετραγωνική ρίζα του εκτοπίσματος των σωματιδίων

t = χρόνος, sec

r = η ακτίνα των σωματιδίων, cm

Παρατηρείται ότι για σωματίδια με διάμετρο μεγαλύτερη από 1μm η διάχυση λόγω της κίνησης Brown είναι μικρότερη από την κατακάθιση λόγω βαρύτητας. Επίσης, λόγω της διάχυσης, τα πολύ μικρά σωματίδια τείνουν να απομακρύνονται από τις περιοχές με υψηλή συγκέντρωση, αλλά για τα βιοαεροζόλ η κατακάθιση λόγω βαρύτητας είναι πιο σημαντική από τη διάχυση λόγω κίνησης Brown [1].

1.2.3 ΑΠΩΛΕΙΕΣ

Μια επίπτωση της καθίζησης λόγω βαρύτητας είναι ότι ιδιαίτερα σε δοχεία αποθήκευσης και σε κάποιο βαθμό στη διάρκεια κίνησης στη φορά του πνέοντα ανέμου, τα βιοαεροζόλ τείνουν να αποθέτονται σε πλευρικές επιφάνειες. Εξαιτίας αυτού, η συγκέντρωση τους μειώνεται με τον χρόνο και τέτοιου είδους απώλειες αναφέρονται ως φυσικές απώλειες ή φυσική αλλοίωση σε αντίθεση με τις βιολογικές απώλειες, οι οποίες εκφράζουν απώλεια βιολογικής ενεργότητας ανά δευτερόλεπτο όπως, βιωσιμότητα, μεταδοτικότητα, αλλεργικότητα [1].

Μια απλοποιημένη προσέγγιση είναι να μοντελοποιήσουμε τις φυσικές απώλειες με μια πρώτης τάξης εξέλιξη απωλειών:

$$N_t = N_0 * \exp(-kt)$$

Όπου N_0 = ο αριθμός των σωματιδίων τη χρονική στιγμή $t=0$

N_t = ο αριθμός των σωματιδίων τη χρονική στιγμή t

K = ο σταθερός ρυθμός απωλειών πρώτης τάξης

Επειδή η συγκέντρωση του βιοαεροζόλ μπορεί να ελαττωθεί και από τα δύο είδη αλλοίωσης, φυσικών και βιολογικών, συνήθως είναι χρήσιμο να μετράμε ανεξάρτητα τις δύο επιδράσεις. Μια κοινή πρακτική είναι να χρησιμοποιήσουμε δείκτες δράσης για να καθορίσουμε τις φυσικές απώλειες, κατά προτίμηση στο ίδιο πείραμα, με τις βιολογικές απώλειες. Και αυτό επειδή οι φυσικές απώλειες μπορούν να ποικίλουν μεταξύ πειραμάτων, λόγω του ότι επιδρούν και άλλες δυνάμεις εκτός της βαρύτητας όπως, ηλεκτροστατικές δυνάμεις, θερμικές κλίσεις, ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, τυρβώδης διάχυση και αδράνεια, οι οποίες είναι δύσκολο να παραμείνουν σταθερές [1].

Οι επιδράσεις που οφείλονται στις ηλεκτροστατικές δυνάμεις τυχάνει να μην λαμβάνονται πολύ υπόψη ή ακόμα και να αγνοούνται στα δείγματα βιοαεροζόλ. Τα σωματίδια του αέρα κατά την δημιουργία τους φορτίζονται σταθερά εκτός αν με δική μας πρόθεση τα έχουμε ουδετεροποιήσει. Η ξηρή διασπορά δημιουργεί πολύ μεγαλύτερη φόρτιση από την υγρή διασπορά. Οι επιπτώσεις της ύπαρξης υψηλά φορτισμένων σωματιδίων, περιλαμβάνουν πιθανή απομάκρυνση μάζας αεροζόλ σε ελάχιστο χρόνο, εξαιτίας των εμπλουτισμένων επιφανειών από την απόθεση ιζήματος, συσσώρευσης καθώς και των τεχνουργημάτων στην δειγματοληψία [1].

Οι θερμικές κλίσεις είναι υπεύθυνες για την κίνηση του αεροζόλ καθώς τα σωματίδια κινούνται από μια θερμή προς μια ψυχρότερη περιοχή. Όταν ένα σωματίδιο είναι θερμότερο στη μια πλευρά του από ότι στην άλλη, επακόλουθο είναι να υπάρχει μια δύναμη που να προκαλεί κίνηση στο σωματίδιο. Τα διαφανή σωματίδια, συνήθως κινούνται προς την θερμή πηγή επειδή ενεργούν ως φακός και γι'αυτό συγκεντρώνουν

την ενέργεια τους στην απομακρυσμένη πλευρά. Από την άλλη, τα αδιαφανή σωματίδια συνήθως απομακρύνονται από την θερμή πηγή και κατεβάζουν την θερμική κλίση. Η ταχύτητα θερμοφόρησης, εξαρτάται από τις ιδιότητες του υλικού των σωματιδίων του αεροζόλ, καθώς και από την ακτίνα του μεγέθους των σωματιδίων στη μέση ελεύθερη πορεία των μορίων του αέρα [1].

Τα σωματίδια του αεροζόλ αλληλεπιδρούν με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία κυρίως μέσω της ανάκλασης, της διάθλασης, της απορρόφησης και της διασκόρπισης. Η σύλληψη των φωτονίων από την απορρόφηση μπορεί να οδηγήσει στην επανεκπομπή σε άλλα μήκη κύματος, όπως για παράδειγμα, ο φθορισμός που συντελεί στην αύξηση της θερμοκρασίας του σωματιδίου. Συνεπώς η θερμότητα χάνεται από την μεταγωγή θερμότητας και την αγωγιμότητα. Η φωτοφόρηση λαμβάνει χώρα με ανομοιόμορφη θέρμανση του σωματιδίου καθώς προκαλεί στην μια πλευρά του μεγαλύτερη θερμότητα. Τα διαφανή σωματίδια έχουν την τάση να κινούνται προς την πηγή ακτινοβολίας καθώς ενεργούν ως φακοί γι' αυτό συγκεντρώνουν την ακτινοβολία τους στην απομακρυσμένη πλευρά. Τα αδιαφανή σωματίδια σε σταθερές συνθήκες, τείνουν να απομακρύνονται από την πηγή καθώς η πλησιέστερη πλευρά είναι πιο θερμή και περισσότερα μόρια του αέρα συγκρούονται σε εκείνη την περιοχή του σωματιδίου του αεροζόλ [1].

Όταν ο αέρας κινείται πολύ γρήγορα, η ροή είναι ασταθής ή τυρβώδης, και η μετάδοση ανάμεσα στις δύο αυτές καταστάσεις ελέγχεται από τον αδιάστατο αριθμό Reynolds. Πρακτικά, η τυρβώδης ροή προκαλεί τυχαία κίνηση που υπερκαλύπτει τη μέση ροή του αέρα. Για τον λόγο αυτό η αεροδυναμική συμπεριφορά του σωματιδίου και οι ιδιότητες μεταφοράς του είναι πολύ διαφορετικές στις δύο καταστάσεις. Είναι σημαντική κατά την διάρκεια της μεταφοράς διαμέσω της ατμόσφαιρας και κατά την διάρκεια της διέλευσης διαμέσω των σωλήνων, των δειγματοληπτών βιοαεροζόλ, των οργάνων μεγάλων διαστάσεων κτλ. Μια χρήσιμη πρακτική είναι να υπολογίζεται ο αδιάστατος αριθμός Reynolds για την ροή του αέρα σε κάθε εφαρμογή, ώστε ενδεχόμενα προβλήματα που θα οφείλονταν στην τύρβη να μπορούν να προβλεφθούν σε κάποιο βαθμό [1].

Ο αριθμός Reynolds υπολογίζεται από την σχέση :

$$Re = \frac{\rho * u * D}{\mu}$$

Αν η τιμή του Reynolds είναι μικρότερη του 1 τότε έχουμε στρωτή ροή
Αν η τιμή του Reynolds είναι μεγαλύτερη του $2 * 10^3$ τότε έχουμε τυρβώδη ροή και στην περίπτωση αυτή μειώνεται η πιθανότητα των μεγαλύτερων σωματιδίων να αποκλίνουν, δεδομένου ότι για τα μικρότερα σωματίδια η πιθανότητα είναι μικρότερη [1].

1.2.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Η μετακίνηση αερίων μαζών αποτελεί ένα μέσο που επιτρέπει στα σωματίδια να κινούνται σε μεγάλες αποστάσεις. Κατά καιρούς, έχουν καταγραφεί φαινόμενα, όπως μαζική απόθεση ιζήματος σκόνης της ερήμου Σαχάρα στην βορειοδυτική Ευρώπη και διόλου ευκαταφρόνητη ποσότητα απόθεσης ιζήματος γύρης λουλουδιών στους πόλους. Ομοίως, μικροοργανισμοί όπως βακτήρια, ιοί μεταφέρονται με τον αέρα και διαχέονται σε όλη την έκταση του. Αυτή η ομοιότητα στην συμπεριφορά, στην αρχή μπορεί να εμφανίζεται αδύνατη αν αναλογιστεί κανείς ότι τα σωματίδια της άμμου έχουν διάμετρο της τάξης των 100 μm με ταχύτητα κατακάθισης, λόγω βαρύτητας, περίπου 10-50 cm/s, ενώ τα βακτήρια και οι ιοί έχουν διάμετρο της τάξης του 1 μm και ταχύτητα κατακάθισης περίπου 0,003 cm/s. Τα συγκριτικά μεγάλα σωματίδια, μπορούν να παραμείνουν αερομεταφερόμενα και να μεταφερθούν για χιλιάδες χιλιόμετρα, εξαιτίας της ατμοσφαιρικής τύρβης, με μια συνιστώσα ταχύτητα ενός μέτρου ανά δευτερόλεπτο, παρότι έχουν τεράστιες κατακόρυφες διακυμάνσεις [1].

Συνέπεια αυτής της μετακίνησης των αερίων μαζών, ιδιαίτερα των εξωτερικών χώρων, είναι οι αρρώστιες που προκαλούνται από μικρόβια, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων, ιών, που μεταδίδονται από την κίνηση του αέρα. Για παράδειγμα, πολλά φυτά προσβάλλονται από *Puccinia graminis*, όταν ισχυρό ρεύμα αέρα μεταφέρει την ασθένεια της σκωρίασης [1].

Τα λεπτά σωματίδια ή οι σταγόνες που αιωρούνται στον αέρα είναι μέρη αεροζόλ (σε αντίθεση με τα κολλοειδή ή τα υγρά κολλοειδή συστήματα που αιωρούνται στα υγρά). Γνωστά παραδείγματα είναι ο καπνός τσιγάρου και η ομίχλη, που αποτελούνται από σωματίδια με διάμετρο της τάξης των 0,2 μm και σταγόνες με διάμετρο της τάξης των 10 μm . Το μπλε χρώμα του ουρανού οφείλεται στο φαινόμενο διασκορπισμού του φωτός από λεπτά σωματίδια και μόρια του αέρα, οπότε το χρώμα που αντιλαμβανόμαστε δεν είναι πραγματικό αλλά είναι απόρροια του διασκορπισμού του μπλε φωτός. Αντίθετα, το κιτρινωπό χρώμα της ομίχλης οφείλεται στον ελάχιστο διασκορπισμό τους και στη μετάδοση του κίτρινου φωτός. Συμπεραίνοντας, ο διασκορπισμός του φωτός και το χρώμα, αποτελούν δύο μέσα κατά τα οποία τα μεγέθη των σωματιδίων στο αεροζόλ μπορούν να μετρηθούν. Παρόλαυτα, η ιδιότητα των βακτηριδίων, ιών μέσω του αεροζόλ να μεταδίδουν ασθένειες, εξαρτάται και από άλλες παραμέτρους, ειδικά από την ικανότητα τους να επιζούν και άρα να παραμένουν σε κάποιον ευάλωτο ξενιστή. Για πολλά μικρόβια το περιβάλλον είναι αφιλόξενο εξαιτίας της ξήρανσης, της έκθεσης σε ακτινοβολία, του οξυγόνου και των ρυπαντών. [1].

Εν κατακλείδι, σημαντικό στοιχείο στη κατανόηση του πώς οι ασθένειες εξαπλώνονται, είναι να μελετήσουμε τους διάφορους φυσικούς, χημικούς και βιοχημικούς παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση και την επίδραση των βακτηριδίων και των ιών που βρίσκονται στον αέρα. [1].

1.2.5 ΣΧΕΤΙΚΗ ΥΓΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΥΓΡΟΣΚΟΠΙΑ

Τα βιολογικά υλικά όπως, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, πυρηνικά οξέα και μεμβράνες φωσφολιπιδίων είναι υγροσκοπικά, δηλαδή έλκουν μόρια του νερού. Επιπροσθέτως, οι μικροοργανισμοί είναι και αυτοί υγροσκοπικοί μιας και συνδέονται φυσικά με τα υλικά αυτά. Ο όγκος νερού που βρίσκεται σε αυτές τις ουσίες όταν είναι αιωρούμενες,

εξαρτάται από την σχετική υγρασία (RH) και την θερμοκρασία. Η ισόθερμη απορρόφηση του νερού είναι S-σχήματος με πολυστρωματικά μόρια νερού πάνω από 60% RH και μονοστρωματικά κάτω από 20% RH. Συνήθως, επιδεικνύουν υστέρηση, δηλαδή ένα φαινόμενο εκτόπισης των ισοθερμικών απορροφήσεων και εκρροφήσεων και αυτό προκαλεί μια διαφοροποίηση στις ενεργητικότητες των δύο διαδικασιών [1].

Μερικά υλικά υφίστανται αλλαγή φάσης λόγω αφυδρογόνωσης όπως, το DNA, οι πρωτεΐνες, τα φωσfolιπίδια και κατά την αφυδρογόνωση δεν ανακτούν απαραίτητα την αρχική τους δομή, όπως για παράδειγμα η απονιτροποίηση των πρωτεϊνών. Επιπτώσεις αυτού, είναι η μη αναστροφή της απώλειας της βιωσιμότητας και η εξάρτηση του μεγέθους και του σχήματος των σωματιδίων τέτοιων υλικών, από τη σχετική υγρασία. Μεγάλη σημασία έχει η αύξηση του όγκου των υγροσκοπικών σωματιδίων που εισέρχονται στην αναπνευστική οδό, όπου και εκτείνονται σε υψηλή θερμοκρασία και ατμόσφαιρα κορεσμένη σε νερό. Μια περαιτέρω επίδραση είναι ότι ο δείκτης διάθλασης και η πυκνότητα των σωματιδίων του βιοαεροζόλ εξαρτώνται από την σχετική υγρασία. Συνεπώς οι συσκευές που χρησιμοποιούν σε μεγάλο βαθμό τέτοιες ιδιότητες, μπορούν να αποδώσουν την εξάρτηση σχετικής υγρασίας και θερμοκρασίας [1].

Η πιο κοινή μέθοδος για να υπολογίσουμε την σχετική υγρασία, είναι η μέθοδος της υγρής και ξηρής ηλεκτρικής λυχνίας ή ψυχομετρίας. Η αρχή αυτής της μεθόδου, είναι ότι το νερό όταν εκτίθεται σε ένα ρεύμα αέρα, θα ψυχθεί μέχρι η πίεση του αεριοποιημένου υγρού στην επιφάνεια να ισούται με αυτή του περιβαλλόμενου αέρα. Η σύγκριση της θερμοκρασία ισορροπίας του με αυτή του ρεύματος αέρα που το περιβάλλει, επιτρέπει την παραγωγή της σχετικής υγρασίας. Πρακτικά, η μέθοδος είναι ακριβής, καθώς και εύκολη [1].

1.2.6 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΕΡΟΖΟΛ

Ακολουθώντας τη γένεση, αέρια μεταφορά και απόθεση, η ικανότητα των βακτηρίων και των ιών να μεταδίδουν ασθένειες, εξαρτάται από το πόσο μπορούν να επιζήσουν και να διατηρήσουν την επίδρασή τους. Η επιβίωση και βιωσιμότητα είναι έννοιες απαραίτητες για την επιδραστικότητα, η οποία συνδέεται με επιπλέον παράγοντες και μπορεί να απολεστεί πολύ γρήγορα. Τα βακτήρια και οι ιοί αποξηραίνονται όταν διασπείρονται ως υγρή αιώρηση αδιάλυτου υλικού ή μερικώς υδρογονώνονται όταν διασπείρονται ως σκόνη. Για τον λόγο αυτό οι αλλαγές στην αναλογία νερού επέρχονται για όλους τους εναέριους μικροοργανισμούς και αντιπροσωπεύει τη πιο βασική δυναμική δυσχερή συνθήκη. Σε αντίθεση, άλλες δυσμενείς συνθήκες, όπως η έκθεση σε μολυντές ή σε ακτινοβολία UV εξαρτώνται από τις λοιπές συνθήκες που επικρατούν και συνεπώς οι επιδράσεις στις αλλαγές της αναλογίας νερού θα ληφθούν υπόψη πρώτες. (πίνακας 1) [1].

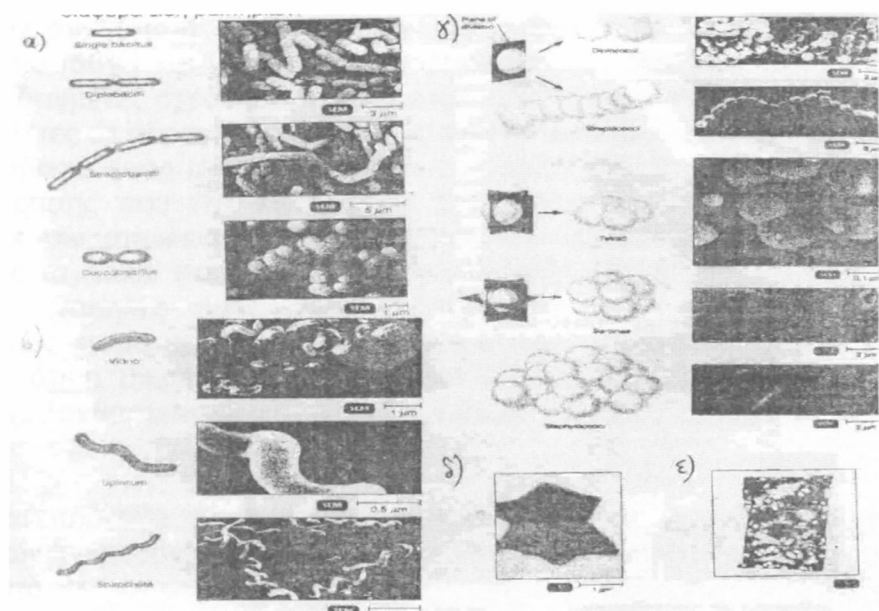
Πίνακας 1: Συγκεντρωτικά οι πιο πιθανοί στόχοι των μορίων

Δυσμενής συνθήκη	Οι πιο πιθανοί στόχοι των μορίων
Σχετική υγρασία και θερμοκρασία	Εξωτερικής μεμβράνης φωσfolιπίδια, πρωτεΐνες
Οξυγόνο	Φωσfolιπίδια, πρωτεΐνες
Όζον	Φωσfolιπίδια, πρωτεΐνες
Παράγοντας ανοικτού αέρα (O ₃ + ολεφίνες)	Φωσfolιπίδια, πρωτεΐνες, πυρηνικά οξέα
Ακτίνες γ, Ακτίνες Χ, ακτινοβολία UV	Φωσfolιπίδια, πρωτεΐνες, πυρηνικά οξέα

1.2.7 ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

1.2.7.1 ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Εξαιτίας της μεγαλύτερης πολυπλοκότητας της βιοχημείας, όσον αφορά την κατασκευή και την οργάνωση, θα αναμενόταν ότι τα βακτήρια έχουν πιο εξελιγμένους μηχανισμούς ανενεργοποίησης από εκείνους των βακτηριοφάγων και των ιών[2].



Εικόνα 1: Διάφοροι τύποι προκαρυωτικών βακτηριδίων: α) ραβδοειδή, β) κοκκοειδή, γ) ελικοειδή, δ) αστεροειδή, ε) τετράγωνα

Πριν από το 1965, δεν υπήρχαν πολλές γνώσεις πάνω στο θέμα της επιβίωσης των βακτηρίων στο αεροζόλ. Η σύγχυση αυτή οφειλόταν εν μέρει στο ότι μερικά, αλλά όχι όλα, είδη βακτηρίων κατά την διάρκεια της ξήρανσης απενεργοποιούνταν από το οξυγόνο. Το 1965 ο Hess συνείσφερε στην προσπάθεια κατανόησης δουλεύοντας με ένα μόνο είδος βακτηρίου, το *Serratia marcescens* 8UK, και ερεύνησε συστηματικά τα χαρακτηριστικά επιβίωσης του αεροζόλ ως συνάρτηση του χρόνου αποθήκευσης και της συγκέντρωσης του οξυγόνου. Έχοντας αποδείξει πέρα από κάθε λογική αμφιβολία το γεγονός ότι το ξηραμένο βακτήριο *S. Marcescens* απενεργοποιούταν από το οξυγόνο, εξασφαλίστηκε ένα σημείο αναφοράς των μετρήσεων και στα επόμενα έτη αποδείχθηκε ότι κάποια είδη βακτηρίων όπως *E.coli*, *K. pneumoniae* απενεργοποιούνταν από το οξυγόνο αν και άλλα είδη όπως *Francisella tularensis* επηρεάζονταν ελάχιστα [2].

Αμέσως μόλις αποδείχθηκε ότι στην διάρκεια παραγωγής αεροζόλ το βακτήριο *E.coli* έχει την τάση να γίνεται ευαίσθητο στο οξυγόνο, αποτέλεσε αποδεικτικό στοιχείο ότι στον αέρα η επιβίωση του εξαρτιόταν από την ταυτόχρονη δράση δύο διαφορετικών μηχανισμών θανάτωσης [2]:

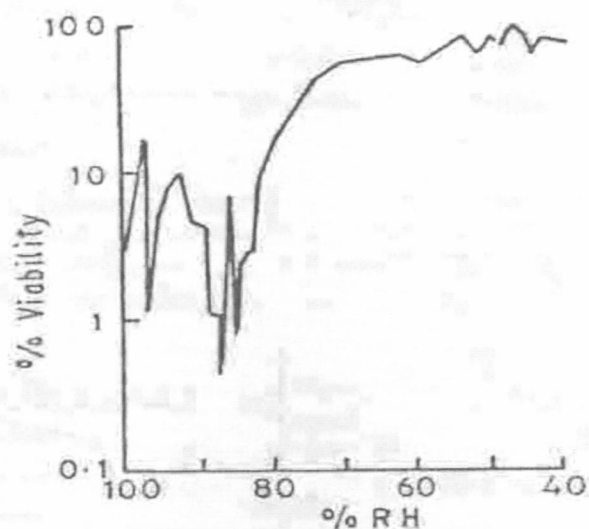
- (α) την απώλεια της βιωσιμότητας λόγω επηρεασμού από την ξήρανση και
- (β) την απώλεια της βιωσιμότητας λόγω επηρεασμού από την τοξικότητα του οξυγόνου.

Τέτοιου είδους παρατηρήσεις, οδηγούν στην μελέτη της επιβίωσης των βακτηρίων και των ιών στο αεροζόλ σε αδρανείς ατμόσφαιρες όπως, καθαρό άζωτο, αργό και ήλιο,

ώστε οι επιδράσεις λόγω της ξήρανσης ανά δευτερόλεπτο να μπορούν να καθοριστούν [2].

Στο τέλος της δεκαετίας του 1960, η επιβίωση του αεροζόλ διαφόρων υγρά διασκορπισμένων γενών *E.coli* μελετήθηκε συστηματικά, σαν συνάρτηση του χρόνου και της σχετικής υγρασίας σε ατμόσφαιρες από άζωτο, αργό και ήλιο, και προς έκπληξη των μελετητών ένας νέος υποδειγματικός τρόπος μέτρησης είχε εφαρμοστεί. Σε προηγούμενες μελέτες ο κοινός τρόπος μέτρησης ήταν να μετριέται η επιβίωση του αεροζόλ σαν συνάρτηση του χρόνου σε μόλις τρεις τιμές σχετικής υγρασίας: υψηλή (80%), μεσαία (50%) και χαμηλή (30%), όπου και από την μέχρι τότε γενική εμπειρία ήταν οι ενδεδειγμένες σχέσεις μεταξύ βιωσιμότητας και σχετικής υγρασίας. Σε αντίθεση, νεότερες μελέτες σε αδρανείς ατμόσφαιρες έγιναν σε εύρος τιμών σχετικής υγρασίας 20-100%, με προσαύξηση σε κάθε πείραμα της τάξης του 2%. Στον νέο υποδειγματικό τρόπο μέτρησης που είχε εφαρμοστεί, θεωρήθηκε σημαντική σχέση της σχετικής υγρασίας με την απώλεια βιωσιμότητας του *E.coli*. (εικόνα 2). Επίσης, σε αδρανείς ατμόσφαιρες τα *E.coli* που βρίσκονταν στο αεροζόλ, βρέθηκαν να είναι περισσότερο σταθερά σε χαμηλές τιμές σχετικής υγρασίας παρά σε υψηλές όπως είχαν προηγουμένως παρατηρηθεί από πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στον αέρα. Εμφανίζεται ότι η μικρή επιβίωση μερικών βακτηριδίων σε χαμηλές τιμές σχετικής υγρασίας είχε λανθασμένα αποδοθεί στην ξήρανση και όχι στην επίδραση του οξυγόνου [2].

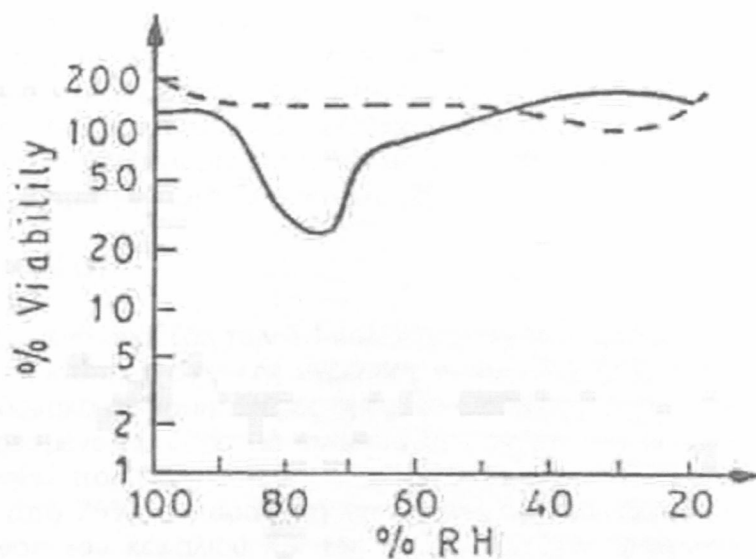
Το οξυγόνο επηρεάζει πολύ τους μικροοργανισμούς λόγω της τοξικότητάς του. Η επιβίωση των μικροοργανισμών *Serratia marcescens* 8UK και *E.coli* στο αεροζόλ, εξαρτάται από τον χρόνο αποθήκευσης, την συγκέντρωση του οξυγόνου και την σχετική υγρασία. Η τοξικότητα του οξυγόνου παρατηρείται γι'αυτούς τους μικροοργανισμούς όταν οι τιμές της σχετικής υγρασίας είναι κάτω από 70% και αυξάνεται με την συγκέντρωση του οξυγόνου περίπου 30%. Στην περίπτωση που στο περιέχον *E.coli* αεροζόλ, έχει γίνει ξηρή διασπορά και έχει αποθηκευτεί σε χαμηλή σχετική υγρασία, το οξυγόνο είναι επίσης τοξικό αλλά αν έχει αποθηκευτεί σε υψηλή σχετική υγρασία τότε το οξυγόνο αυξάνει τα επίπεδα επιβίωσης. Ομοίως, όταν ο *Francisella tularensis* LVS διασπείρεται με τη μορφή σταγόνων από αιώρημα αδιάλυτου υλικού σε χρησιμοποιημένο περιβάλλον οξυγόνου, επηρεάζεται θετικά αποκτώντας ένα είδος μικρής προστασίας. Η πιθανή αιτία που συμβαίνει αυτό, είναι επειδή τα συστατικά του χρησιμοποιούμενου περιβάλλοντος κατά την οξείδωση δίνουν προϊόντα με μεγαλύτερη σταθερότητα δράσης [2].



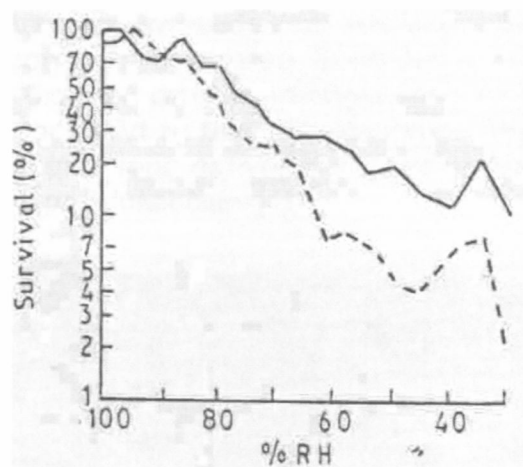
Εικόνα 2: Αεροζόλ επιβίωση του *Escherichia Coli B*, ψεκασμένου από αιώρημα αποσταγμένου νερού και αποθηκευμένο σε νιτρώδεις ατμόσφαιρες

Η επιβίωση-επίδραση του αεροζόλ είναι συνάρτηση της σύνθεσης της αιώρησης και η βιολογική παραλλαγή του μπορεί να οδηγήσει στην κατανόηση της συμπεριφοράς των μικροβίων στην διάρκεια της αφυδρογόνωσης τους. Συμπεραίνοντας, οι μελέτες της επιβίωσης του *E.coli* σε αδρανείς ατμόσφαιρες περιλαμβάνουν τη βιολογική παραλλαγή της σύνθεσης. [2].

Η επιβίωση του είδους *E.coli* στο αεροζόλ, με τη μορφή σταγόνων ως αιώρηση αδιάλυτου υλικού σε τριπλά αποσταγμένο νερό, διαφέρει ελάχιστα από τις διάφορες μεθόδους συλλογής, αλλά σε διασκορπισμένο υγρό ραφινόζης ως νότισμα διαλύματος, αυξάνονται τα όρια επιβίωσης (εικόνα 3). Στην σύνθεση του συλλεγμένου υγρού έχει επίσης επίδραση και η προσθήκη σουκρόζης 1M σε φωσφορικό άλας, ουσία διατήρησης του pH του διαλύματος που έχει συλλεχθεί, η οποία αυξάνει τα όρια επιβίωσης του διασκορπισμένου *E.coli* με μορφή σταγόνων (εικόνα 3). Αυτού του είδους η συμπεριφορά μας παραπέμπει στον *Klebsiella pneumoniae* (εικόνα 4), αλλά δεν είναι γνωστό πώς αυτό συμβαίνει, επειδή λίγα βακτήρια έχουν μελετηθεί ευρέως [2].



Εικόνα 3: Αεροζόλ επιβίωση του *Echerichia Coli* Jepp ψεκασμένο από αιώρημα, σε γλυκερόλη 0.3M σε νιτρώδης ατμόσφαιρες και αναδιατηρημένη υγρασία πριν την συλλογή σε: φωσφορικό άλας_____, φωσφορικό άλας και M sucrose-----



Εικόνα 4: Αεροζόλ επιβίωση του *Klebsiella pneumoniae* ψεκασμένο σε νιτρώδης ατμόσφαιρες: απευθείας συλλογή_____, σε διατηρημένη υγρασία πριν την συλλογή -----

Επιτακτική ανάγκη είναι η ανάλυση της επιβίωσης των διασκορπισμένων από υγρό βακτηρίων με τη μορφή σταγόνων, εν συγκρίσει με την ξηρή διασπορά αιωρημάτων όπως η λυοφιλοποιημένη σκόνη. Με ισχύον ότι η ισορροπία στην αναλογία νερού επηρεάζει πολύ την επιβίωση των μικροοργανισμών, θέτεται υπό αμφισβήτηση το γεγονός ότι μετά από εμφάνιση του φαινομένου της υστέρησης στις ισόθερμες απορροφήσεις στο νερό, η ίδια επιβίωση θα παρατηρηθεί, σε δοσμένη σχετική υγρασία, άσχετα με το αν υπάρχει υγρή ή ξηρή διασπορά των μικροοργανισμών. Αυτό συμβαίνει επειδή, στην ισορροπία, τα βακτήρια του αεροζόλ σε δοσμένη σχετική υγρασία, θα πρέπει να έχουν τελικά την ίδια περιεκτικότητα σε νερό ανεξάρτητα από το αν προέρχονται από αιώρηση αδιάλυτου υγρού ή από μια ισοδύναμη λυοφιλοποιημένη σκόνη. Μελέτες για τα αεροζόλ που περιέχουν τον μικροοργανισμό *E.coli* και ήταν

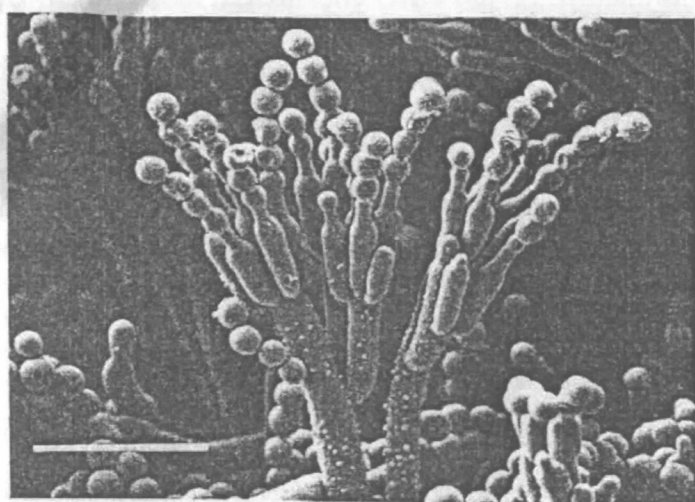
αποθηκευμένα σε άζωτο, όσον αφορά την ανάπτυξη τους, δείχνουν ότι βρέθηκαν τα ίδια αποτελέσματα και στην υγρή και στην ξηρή διασπορά, εκτός από μικρές λεπτομέρειες. Από την άλλη, για τον μικροοργανισμό *Francisella tularensis* υπάρχουν αξιοσημείωτες διαφορές στην επιβίωση του αεροζόλ ανάλογα με το αν υπήρχε υγρή ή ξηρή διασπορά του αεροζόλ. Στην περίπτωση αυτή όπως έχει ήδη αναφερθεί, η τοξικότητα του οξυγόνου είναι μηδαμινή γι' αυτό το βακτήριο [2].

1.2.7.2 ΚΟΛΙΦΑΓΟΙ

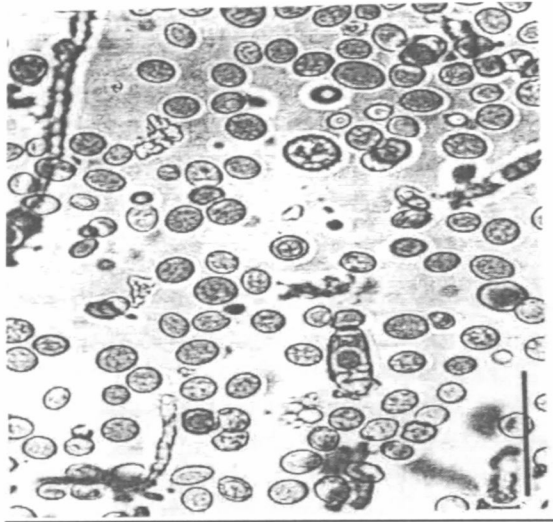
Τα υγρά διασπειρμένα αεροζόλ των Τ3 κολιφάγων έχουν καλά επίπεδα επιβίωσης όταν αποθηκεύονται σε επίπεδα σχετικής υγρασίας πάνω από 75%. Η ικανότητα επιβίωσης μειώνεται προοδευτικά σε χαμηλότερες τιμές. Σε αντίθεση, αν το αεροζόλ έχει εκτεθεί σε θερμό αέρα κορεσμένο σε υδρατμό αντίθετα στο ρεύμα του οργάνου δειγματοληψίας, έχουν παρατηρηθεί πολύ υψηλότερες βιωσιμότητες. Σε έκθεση σε επίπεδα σχετικής υγρασίας κάτω από 75%, η παράταση της ξήρανσης είναι αρκετά σημαντική ώστε να προκαλέσει ένωση του κεφαλιού και της ουράς του βακτηριοφάγου και να γίνει πιο αδύναμος και πιο ευαίσθητος [2].

1.2.7.3 ΜΥΚΗΤΕΣ

Τα σπόρια και τα άλλα μέρη των μυκήτων είναι ευρέως διαδεδομένα στον αέρα και αποτελούν πηγές μόλυνσης και αλλεργικών αντιδράσεων. Για την μεγάλη πλειονότητα των μυκήτων με ξηρά σπόρια, ο αέρας είναι το φυσικό μέσον διανομής τους, συνεπώς έχουν εξελιχθεί με ποικίλους μηχανισμούς που εντείνουν την αποτελεσματικότητα της διασποράς και της επιβίωσης τους στον αέρα. Σύμφωνα με τις αρχές της αεροβιολογίας αυτή είναι μια σημαντική διαφορά από τα βακτήρια και τους ιούς. Τα σπόρια μυκήτων ποικίλουν πολύ στο μέγεθος, αλλά τα περισσότερα έχουν διάμετρο 2-50 μm (εικόνα 5). Είναι δηλαδή μεγαλύτερα από τους ακτινομύκητες και άλλα σπόρια βακτηριδίων και γενικά μικρότερα από τη γύρη λουλουδιών [1].



Εικόνα 5: παρακολούθηση με φωτομικρογράφου ηλεκτρονίων, κονιντιοφόρων του *Penicillium camembertii* που αναπαράγει αλυσίδες σπορίων. κλίμακα 20 μm



Εικόνα 6: Αερομεταφερόμενα σπόρια μυκήτων απελευθερωμένα από διαταραγμένα από 'αχυρα και παγιδευμένα σε May/RE συσκευή διαδοχικής πάκτωσης

Τα αερομεταφερόμενα σπόρια μυκήτων(εικόνα 6), δεν μπορούν να αναπτυχθούν και να μετακινηθούν στον αέρα, εκτός των περιπτώσεων διαμέσω του ανέμου και της τύρβης. Συνεπώς, πρέπει πρώτα να διασχίσουν το οριακό στρώμα που εφάπτεται στην επιφάνεια, από την οποία και έχουν προέλθει, με σκοπό να φτάσουν σε μια περιοχή όπου υπάρχει κίνηση αέρα, αλλιώς δεν θα διασκορπίζοντουσαν μακριά από την περιοχή σχηματισμού τους. Η εισροή τους στην περιοχή τύρβης, πετυχαίνεται συνήθως με μηχανισμούς ή δομές που τα εκτοξεύουν διαμέσω του οριακού στρώματος ή τα πετούν από ένα ύψος στον κινούμενο αέρα ή μέσω του ανέμου. Συχνά, μέρη των μικκυλίων των σπορίων παρασύρονται από τον άνεμο. Μερικά από αυτά παραμένουν βιώσιμα και ικανά για έναρξη νέας ανάπτυξης [1].

Αντί να εισάγουν τα σπόρια τους κατευθείαν στον άνεμο, πολλοί μύκητες τα παράγουν μαζί με μια κολλώδη ουσία η οποία αποτρέπει την απελευθέρωσή τους εκτός από την περίπτωση που οι συνθήκες είναι υγρές. Οι σταγόνες της βροχής που πέφτουν και κατακρατούνται στο κολλώδες υγρό, είναι πιθανό να τα εκτοξεύσουν στον αέρα πάνω σε πολύ μικρές σταγόνες νερού. Αν αυτό το φαινόμενο έχει μεγάλη έκταση, μπορούν να μεταφερθούν σε σημαντικές αποστάσεις από το σημείο δημιουργίας τους με "βαλλιστικό διασκορπισμό", ενώ αν αυτό το φαινόμενο έχει μικρή έκταση, μπορούν να μεταφερθούν παθητικά από τον άνεμο. Οι σταγόνες με διάμετρο μικρότερη από 100μm γρήγορα εξατμίζονται, εκτός αν η σχετική υγρασία είναι κοντά στο 100%, και αφήνουν τα συγκρατημένα σπόρια να διασκορπιστούν με τον άνεμο. Πιθανόν τότε, να επιτευχθεί μεγάλης απόστασης διασκορπισμός. Ωστόσο, για τα αερομεταφερόμενα σπόρια, η μεταφορά σε μεγάλο υψόμετρο αποτελεί κίνδυνο λόγω της ηλιακής ακτινοβολίας, ξήρανσης και ψύχους [1].

Μεγάλοι αριθμοί από μυκητιακούς πολλαπλασιαστές υλικών και φυτών στο αέρα εξωτερικών χώρων, διαφέρουν σε πολύ μεγάλο βαθμό ανάλογα με το είδος, την τοποθεσία, το υψόμετρο, την εποχή, τις κλιματολογικές συνθήκες και την χρονική στιγμή της μέρας. Για παράδειγμα, τα σπόρια από τους μύκητες *Cladosporium*, *Alternaria* και *Ustilago*, είναι πολυπληθή νωρίς το απόγευμα, τα σπόρια από τον μύκητα *Sporobolomyces* είναι πολυπληθή πριν το ξημέρωμα ενώ τα σπόρια από τον μύκητα *Phytophthora* μετά το ξημέρωμα. Μετά την βροχή, κοντά στο επίπεδο του εδάφους

υπάρχει συχνά αέρας με πολύ υγρασία που κατακλύζεται από ποικίλα είδη ασκοσπορίων, των οποίων η ενεργός απελευθέρωση εξαρτάται από το κανονικό φούσκωμα κυττάρων των ασκών στο οποίο διαμορφώνονται. Αυτός ο αέρας με πολύ υγρασία αντικαθιστά τον ξηρό αέρα, επιτρέποντας την ύπαρξη σπορίων από τους μύκητες *Cladosporium*, *Alternaria*, καπνιά(αρρώστια φυτών) και σκωρίαση, τα οποία έχουν ξεπλυθεί από τον αέρα με την ίδια βροχή που επέτρεψε την δημιουργία της υγρασίας.

Τα αποτελέσματα μετρήσεων σπορίων μυκήτων, έδειξαν την ύπαρξη χιλιάδων ανά κυβικό μέτρο, όμως, έχουν καταγραφεί αποτελέσματα μετρήσεων που έδειξαν εκατομμύρια ανά κυβικό μέτρο. Παρότι σε δειγματοληψίες με βάση την ίδια διαδικασία σε διαφορετικούς εξωτερικούς χώρους, για παράδειγμα σε ακτίνα 10 χιλιομέτρων, αποδόθηκαν μεγάλες διαφορές στην συγκέντρωση των σπορίων, οι μέσες τιμές για τα δεδομένα της δειγματοληψίας σε αυξανόμενες χρονικά περιόδους, τείνουν να μειώσουν τέτοιες διαφορές μέχρι το σημείο που θα μπορούν να θεωρηθούν μη υπολογίσιμες. Οι συγκεντρώσεις των αερομεταφερόμενων μυκήτων, είναι συνήθως μικρότερες στα κατοικήσιμα κτίρια σε σχέση με τους εξωτερικούς χώρους, αλλά μπορούν να είναι μεγαλύτερες αν έχουν υγρασία και έχουν μολυνθεί από ανάπτυξη μούχλας, ειδικά την περίοδο του χειμώνα. Οι συγκεντρώσεις ποικίλουν ευρέως και μπορούν να φτάσουν τα $4 \cdot 10^5$ σπόρια ανά κυβικό μέτρο αέρα σε ακραίες περιπτώσεις. Συγκριτικά μεγάλες, είναι στις βιομηχανικές εγκαταστάσεις και στα αγροκτήματα [1].

Οι ακτινομύκητες είναι βακτήρια αλλά όπως τα περισσότερα βακτήρια, είναι ικανά να αναπτύσσονται με νηματοειδή διακλάδωση και μπορούν να παράγουν ξηρά αερομεταφερόμενα σπόρια. Για τον λόγο αυτό στις αεροβιολογικές μελέτες αναλύονται μαζί με τους μύκητες. Η εμφάνιση θερμόφιλων ακτινομυκήτων είναι συχνή στα λιπάσματα, τα οποία έχουν θερμανθεί στην διάρκεια ζύμωσης και είναι σημαντικοί λόγω του ότι αποτελούν αίτιο πρόκλησης αλλεργιών στην αναπνευστική οδό και συχνά απαντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον αέρα όταν το λίπασμα έχει αναταραχθεί. Οι συγκεντρώσεις που έχουν καταγραφθεί φτάνουν ως τα $2 \cdot 10^9$ σπόρια ανά κυβικό μέτρο αέρα στην διάρκεια εργασιών σε αγρόκτημα με μουχλιασμένα υλικά και περίπου $1,6 \cdot 10^9$ σπόρια ανά κυβικό μέτρο αέρα μετά από την μετακίνηση δεμάτων χόρτου (ζωοτροφή). Τα σπόρια των ακτινομυκήτων είναι μικρότερα σε μέγεθος από εκείνα των μυκήτων, με μέση διάμετρο περίπου 1μm. Λόγω του μικρού τους μεγέθους, μπορούν να φτάσουν την περιοχή των πνευμόνων με την αναπνοή. [1].

Οι μυξομύκητες είναι μια ομάδα μικροοργανισμών που κατά παράδοση σχετίζονται με τους πραγματικούς μύκητες, αλλά πιθανόν να έχουν μεγαλύτερη σχέση με τα πρωτόζωα. Υπάρχουν περίπου 500 γνωστά είδη που κυρίως βρίσκονται στο έδαφος, στο πάνω τμήμα του στρώματος του δάσους, στο αποσαθρωμένο ξύλο και σε άλλα υλικά φυτών. Στα στάδια αναπαραγωγής τους παράγουν σπόρια καλά προσαρμοσμένα για αερομεταφερόμενη διασπορά. Τα σπόρια τους είναι περίπου σφαιρικά, μονοκυτταρικά σώματα με διάμετρο 10μm και απελευθερώνονται στον αέρα με εξειδικευμένα σποριάγγεια. Έχουν καταγραφθεί σε δείγματα αέρα και αποτελούν αίτιο της ανθρώπινων αλλεργιών [1].

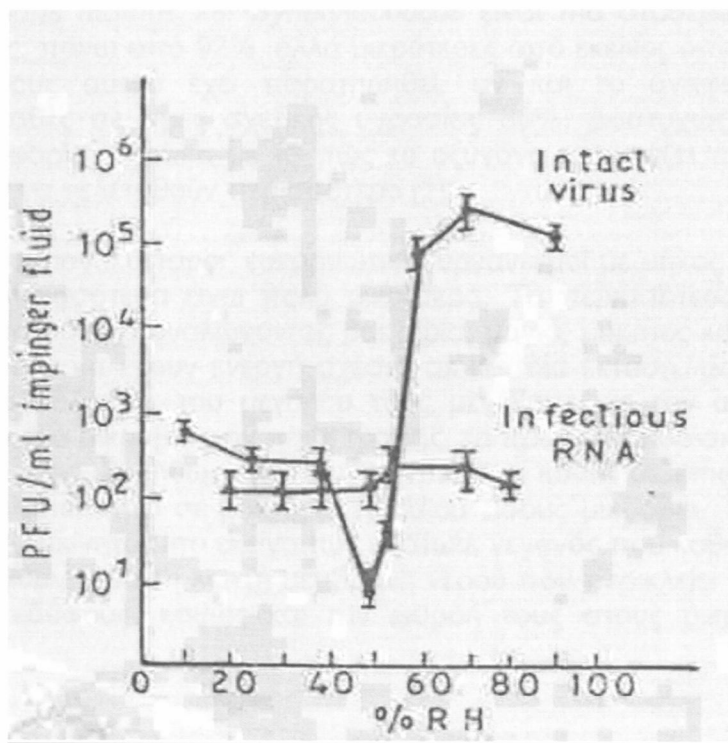
1.2.7.4 IOI

Στα τέλη της δεκαετίας 1960 και αρχές της δεκαετίας 1970, βρέθηκε ότι ο *menzovirus*, ο ιός της πολιομυελίτιδας, ο ιός ποδιού και στόματος(FDM) και ο ιός της εγκεφαλομυοκαρδίτιδας (EMC), είναι ασταθείς στο αεροζόλ όταν αυτό ήταν υγρό

διασκορπισμένο και αποθηκευμένο σε ατμόσφαιρες κάτω από περίπου 70% σχετική υγρασία, λόγω της αλλοιωμένης δομής της επιφάνειάς του. Αυτή η προσέγγιση επέτρεπε την σύγκριση της επιδραστικότητας του συνολικού ιού με αυτήν του απομονωμένου μεταδοτικού RNA. (εικόνα 7) [2]

Για τους ιούς EMC, υπήρχε ένδειξη απώλειας της ενεργότητας αιμοσυγκόλλησης και των σχετικών ανασταλτικών αντισωμάτων αιμοσυγκόλλησης, καθώς η ενεργότητα του προερχόμενου από ιό RNA παρέμεινε άθικτη. Θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, ότι αυτά τα αποτελέσματα βρέθηκαν μέσω δειγματοληψίας αν και για τα πειράματα για τον ιό EMC χρησιμοποιήθηκε μια σχετικά απλή μέθοδος δειγματοληψίας [2].

Μια πρόβλεψη είναι, ότι τα επικαλυπτικά στρώματα λιπιδίων που προέρχονται από ιό, θα επηρεάσουν την αντίδραση στη ξήρανση. Σε αντίθεση με τους παραπάνω ιούς που αναφέρθηκαν, οι οποίοι είναι πιο σταθεροί σε υψηλή σχετική υγρασία, διάφοροι άλλοι ιοί με κατασκευασμένα λιπίδια όπως, ο *Langat*, ο *Semliki forest*, ο ιός της κυστικής στοματίτιδας, ο ιός της δαμαλίτιδας των βοοειδών και ο ιός της γρίπης, βρέθηκαν να είναι ελάχιστα σταθεροί σε υψηλή σχετική υγρασία. Παρόλαυτα τουλάχιστον για τον ιό *Semliki forest*, η απώλεια της επιδραστικότητας στην διάρκεια δημιουργίας του βιοαεροζόλ επισέρχεται μέσω της φθοράς, στα επικαλυπτικά στρώματα του ιού και όχι στα νουκλεϊκά οξέα. Πιθανόν, η αλλοίωση της φύσης των λιποπρωτεϊνών γίνεται πιο εύκολα σε μέση ως υψηλή σχετική υγρασία αν και η αλλοίωση της φύσης των πρωτεϊνών συμβαίνει πιο εύκολα σε χαμηλή σχετική υγρασία. [2].

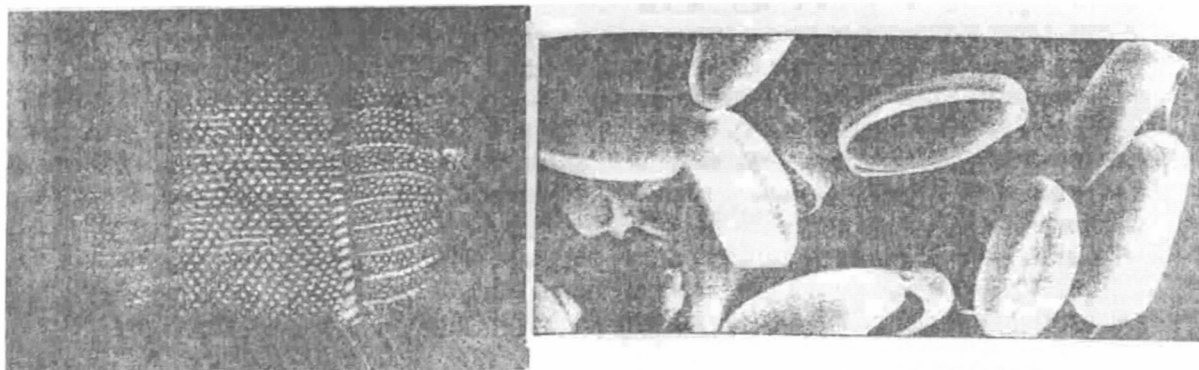


Εικόνα 7: Αεροζόλ επιβίωση του ιού mengos

1.2.7.5 ΑΛΛΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑ

Πολύ λιγότερο πρακτικό ενδιαφέρον δείχνει να έχει η απώλεια βιωσιμότητας, επιδραστικότητας, των μικροβίων της ψιττάκωσης, της χλαμύδας, του μικροοργανισμού τύφου ρικέτσια, της γύρης των λουλουδιών κτλ. Τέτοια είδη μελετούνται σε άλλα

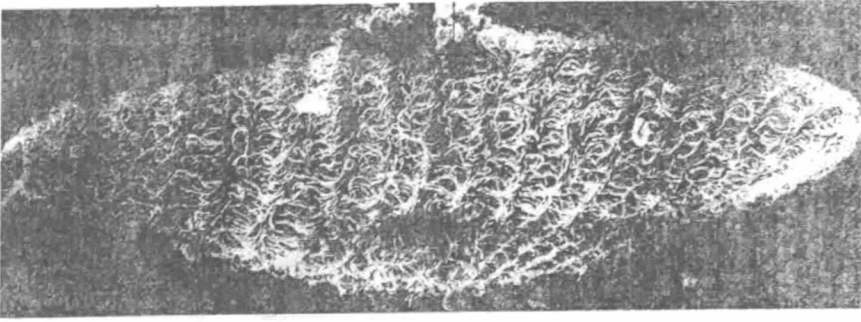
περιβάλλοντα. Το αεριογενές μυκόπλάσμα, η L-φόρμα των βακτηριδίων και τα φύκη έχουν τύχει μικρής προσοχής ενώ τα σπόρια των μυκήτων και των ακτινομύκητων θεωρούνται ανθεκτικά στη ξήρανση [1].



Εικόνα 8: Μορφές ευκαρυωτικών οργανισμών-φύκη

Τα μυκοπλάσματα *pneumoniae* και *M. galliseptm*, δεν έχουν κυτταρικά τοιχώματα και εμφανίζονται πιο ασταθή ως βιοαεροζόλ στον αέρα σε εύρος σχετικής υγρασίας 40-60 %. Η συμπεριφορά αυτή είναι όμοια με το γένος *coli*. Το αεριογενές στρεπτοκοκκικό L-φόρμας (π.χ ένα Gram-θετικό βακτήριο χωρίς κυτταρικό τοίχωμα) είναι επίσης ελάχιστα σταθερό σε σχετική υγρασία 40% και πολύ σταθερό σε σχετική υγρασία 20%. Τα είδη φυκιών *Nannochloris atomus* και *Synechococcus* είναι πιο σταθερά σε υψηλές τιμές σχετικής υγρασίας, πάνω από 92%, αλλά μικρότερες από εκείνες όπου κανένα βιώσιμο κύτταρο του είδους αυτού έχει παρατηρηθεί, αν και το αναφερθέν είδος είναι περισσότερο ασταθές σε τιμές σχετικής υγρασίας 80%. Δυστυχώς, ως σήμερα δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με το πώς το οξυγόνο επηρεάζει την επιβίωσή τους, ώστε να μπορούν να μελετηθούν περισσότερο [1].

Τα πρωτόζωα είναι μονοκύτταροι, ευκαρυωτικοί οργανισμοί με μήκος που φτάνει τα 5,5 mm, αν και τα περισσότερα είναι πολύ μικρότερα. Τα περισσότερα πρωτόζωα είναι ετερότροφα και επιζούν καταναλώνοντας βακτήρια, μαγιά, μύκητες και φύκη. Αυτό είναι ένδειξη, ότι μπορούν να έχουν ενεργή σχέση, σε κάποια έκταση, με την αποσύνθεση οργανικών υλικών. Εξαιτίας του μεγάλου τους μεγέθους και την απαίτησή τους για πολυπληθή μικρότερα μικρόβια σαν πηγή τροφής, τα πρωτόζωα βρίσκονται σε ύψος 15-20 cm από το έδαφος. Συνήθως είναι συγκεντρωμένα κοντά σε επιφάνειες ριζών που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε βακτήρια ή άλλου είδους μικρόβια. Τα πρωτόζωα του εδάφους, είναι πιο ευκίνητα από εκείνα των υδάτων, γεγονός που καθιστά πιο εύκολη τη μετακίνησή τους γύρω από τη λεπτή μεμβράνη νερού που περικλείει τις επιφάνειες των σωματιδίων του εδάφους, καθώς και την εισροή τους στους μικρούς πόρους του εδάφους [3].



Εικόνα 9: : Μορφές ευκαρυωτικών οργανισμών-πρωτόζωα

1.3 ΠΗΓΕΣ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ

Οι πηγές των βιοαεροζόλ μπορούν να οριστούν ως αεροβιολογικές και έχουν σχέση με διαφορετικά βιολογικά σωματίδια ή διαφορετικά υποστρώματα. Οι πηγές μπορούν να είναι σημειακές, ευθύγραμμες ή πηγές περιοχών ανάλογα με το μέγεθος και το σχήμα και σε σχέση με το μέγεθος της περιοχής δειγματοληψίας. Οι σημειακές πηγές μπορούν να θεωρηθούν από ένα φυτό ή δέντρο ως ένα αγροτεμάχιο ή έναν αγρό, αν η ενδιαφέρουσα περιοχή είναι αρκετά μεγάλη. Οι ευθύγραμμες πηγές αντιπροσωπεύονται από έναν φυσικό φράκτη από θάμνους ή μια σειρά από εμβολιασμένα φυτά σε πείραμα σχετικά με τις ασθένειες των φυτών. Οι πηγές περιοχών περιλαμβάνουν ένα αγροτεμάχιο εσωτερικά μέσα σε έναν αγρό ή έναν αγρό ή μια μεγαλύτερη περιοχή μιας περιφέρειας [1].

Τα περισσότερα αερομεταφερόμενα σπόρια γύρης λουλουδιών προέρχονται από ανεμόφιλα φυτά και σε μεγάλους αριθμούς προκαλούν σημαντικές περιπτώσεις αλλεργιών. Σε πολλά σπόρια γύρης λουλουδιών έχουν οριστεί εποχές υπερβολικής αύξησης του αριθμού τους, αντίστοιχα με τις περιόδους άνθησης των λουλουδιών από τα οποία προέρχονται, αν και υπάρχουν περιπτώσεις που έχουν τροποποιηθεί λόγω καιρικών συνθηκών. Τα χόρτα διαμορφώνουν τα περισσότερα είδη υπεράριθμων σπορίων σε πολλά μέρη της γης, όμως αυτά που προέρχονται από δέντρα και άλλα φυλλώδη φυτά μπορούν να είναι πάρα πολλά και συχνά εμπλέκονται στην εμφάνιση αλλεργίας. Το εύρος τιμών της μέσης εποχιακής συγκέντρωσης διαφόρων ειδών γύρης λουλουδιών είναι περίπου 5-300 σπόρια ανά κυβικό μέτρο αέρα, ενώ της μέσης ωριαίας συγκέντρωσης, ειδικά των χόρτων και της *Urtica*, έχουν εύρος τιμών 1500-8000 σπόρια ανά κυβικό μέτρο αέρα. Η αλλαγή στις γεωργικές χρήσεις πιθανόν να επηρεάσει το φάσμα της αερομεταφερόμενης γύρης λουλουδιών. Παρόλη την ύπαρξη εξάπλωσης, λόγω ανέμου, στον αέρα, τα βρύα έχουν μελετηθεί κατά πολύ λιγότερο από τη γύρη λουλουδιών. Τα σπόρια των φτερών απελευθερώνονται σε μεγάλο βαθμό, όταν διαρρέουν σποριάγγεια καθώς στεγνώνουν τις πρώτες πρωινές ώρες της ημέρας. Τα σποριάγγεια και τα σπόρια μπορούν να αναλυθούν στο μικροσκόπιο, με τα δεύτερα να υπερέχουν αριθμητικά [1].

Τα φύκη προέρχονται από τα βράχια, τα δέντρα, το έδαφος και το νερό μέσω μεταφοράς σε σωματίδια εδάφους παρασυρόμενα από τον άνεμο, τα σπόρια βρύων από το ξέπλυμα του εδάφους λόγω βροχής, από το ψεκασμό φουσκαλών από την θάλασσα, τα ποτάμια και των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, καθώς και από την μεταφορά στον αερομεταφερόμενο αφρό. Τουλάχιστον 40 είδη φυκιών, μεταξύ τους και τα *Chlorococum*, *Chlorella*, *Pleurococcus* και *Navicula*, έχουν παρατηρηθεί σε 20 m³ στην



Ολλανδία, ενώ το *Gloeocapsa* ή άλλα μέλη του *Chroococcaceae*, βρέθηκαν σε συγκεντρώσεις ως και 110 διασκορπισμένα μέρη, με το καθένα να αποτελείται από 8 κύτταρα, ανά κυβικό μέτρο αέρα [1].

Οι μύκητες είναι κατά πολύ λιγότεροι εν συγκρίσει με τη γύρη λουλουδιών, αλλά το μικρότερο μέγεθος τους σημαίνει ότι η ένταση της συμβολής τους στο βιοαεροζόλ είναι συχνά της ίδιας τάξης. Οι μέγιστες συγκεντρώσεις τους ανέρχονται περίπου σε 10^6 σπόρια ανά m^3 , αλλά το πιο σύνηθες είναι 10^4 - 10^5 ανά m^3 . Στα περισσότερα μέρη του κόσμου, ο *Cladosporium* είναι το επικρατέστερο είδος στην διάρκεια της ημέρας και ο *Sporobolomyces* στην διάρκεια της νύχτας. Πολλά είδη έχουν χαρακτηριστικές ημερήσιες περιοδικότητες που επηρεάζονται από την αλληλεπίδραση μεταξύ των μηχανισμών απελευθέρωσης των σπορίων και των κλιματολογικών συνθηκών. Λόγω αυτού, μερικά είδη έχουν σπόρια τα οποία απαιτούν νερό, με μορφή σταγόνων υγρασίας ή βροχής, για την απελευθέρωση τους, ενώ άλλα απαιτούν ξηρές συνθήκες ή απελευθερώνονται μέσω μηχανισμών αναταραχής καθώς ο άνεμος φυσά τα φύλλα. Τέλος, άλλα απελευθερώνονται μόνο από το ξέπλυμα της βροχής. Οι εποχιακές περιοδικότητες επηρεάζονται από τα στάδια ανάπτυξης της σοδειάς ή από τις κλιματολογικές συνθήκες. Οι μύκητες είναι ευρέως διαδεδομένοι στα περιβάλλον, όμως οι κύριες πηγές των σπορίων, αναμφισβήτητα είναι η ανάπτυξη των φυτών και η αποσύνθεση υλικών, οργανικών ή μη. Ο *Cladosporium* και ο *Alternaria*, αποικούν κατά κύριο λόγο στις επιφάνειες των φυτών και στα υπολείμματα της αποσύνθεσης τους.

Το έδαφος περιέχει μικρόβια, συμπεριλαμβανομένων και των μυκήτων, αλλά μπορούν να γίνουν αερομεταφερόμενα, μόνο εφόσον πνέει δυνατός άνεμος και το έδαφος είναι στεγνό. Τα σωματίδια του εδάφους, ειδικά το οργανικό κλάσμα με διάμετρο 30-100 μm , μπορούν να παρασυρθούν από τον άνεμο μόνο όταν η ταχύτητα του είναι πάνω από 0,2 m/s. Συνάμα με τον άνεμο, τις ίδιες επιρροές στο έδαφος προκαλούν και οι αναταράξεις από τα μηχανοκίνητα και από τους εκσκαφείς. Έχειδειχθεί ότι τα παραπάνω έχουν σημαντικό ρόλο στην επιδημιολογία μιας ασθένειας που προκαλείται από τον *Coccidioides immitis* και έχει επίδραση στην αναπνευστική οδό [1].

Τα βακτήρια στον αέρα είναι λιγότερα στον αριθμό από ότι οι μύκητες και παρά το γεγονός ότι μερικές φορές είναι αερομεταφερόμενα ως ένα κύτταρο, συχνά μεταφέρονται σε επιπλέουσες συμπαγής μάζες υλικών φυτού ή στους πυρήνες σταγόνων, προστατευμένα από διαλύτες ή βλένα. Η μέση συγκέντρωση των βακτηρίων τείνει να είναι πιο μεγάλη στις πόλεις (850 σε $4000 m^3$), παρά σε αγροτικές περιοχές (99 σε $3400 m^3$). Όπως και οι μύκητες, τα βακτήρια αποικούν τις επιφάνειες των φυτών και είναι πολυάριθμα στο έδαφος, αλλά εκτός από τους ακτινομύκητες που τα σπόρια τους διασκορπίζονται μηχανικά και σχετικά εύκολα, τα περισσότερα δεν έχουν ειδικούς μηχανισμούς για να γίνουν αερομεταφερόμενα. Πολλά βακτήρια στον περιβάλλοντα αέρα, πιθανό να προέρχονται από φυτά των οποίων τα φύλλα μεταφέρουν μια ποικιλία από είδη, εκ των οποίων μερικά είναι παθογόνα. Γίνονται αερομεταφερόμενα στην διάρκεια βροχής και άρδευσης και στην διάρκεια μηχανικής διαλογής και συγκομιδής της σοδειάς. Άλλες πηγές περιλαμβάνουν το έδαφος κατά την καλλιέργεια του, τα σπίτια των ζώων και τα απόβλητα των αγροκτημάτων. Τα περισσότερα βακτήρια που συναντάμε στο έδαφος βρίσκονται σε ύψος 5-45 cm και ειδικά το *Streptomyces* μπορεί εύκολα με τη σκόνη να γίνει αερομεταφερόμενο.

Πολλές πηγές αερομεταφερόμενων βακτηρίων προέρχονται από τον άνθρωπό και οι πιο σημαντικές από αυτές είναι τα λύματα και οι εγκαταστάσεις διάθεσης αποβλήτων ζώων. Οι διαδικασίες διάσπασης και χώνεψης συχνά παράγουν βιοαεροζόλ, τα οποία

περιέχουν βακτήρια, συμπεριλαμβανομένων των κοπρωδών κολοβακτηριδίων, των κοπρωδών στρεπτοκοκκικών και των βακτηριοφάγων. Τέτοιου είδους αεροζόλ, μαζί με αυτά που σχετίζονται με φάρμες ζώων, μπορεί να περιέχουν ενδοτοξίνες, συστατικά λιποπολυσακχαριδίων των κυτταρικών τοιχωμάτων των Gram-αρνητικών βακτηριδίων που απελευθερώνονται από την διάλυση. Σε πιθανή εισπνοή μπορούν να προκαλέσουν πυρετό [1].

Οι ιοί και οι βακτηριοφάγοι απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα από πηγές ανθρώπων, ζώων, από τα λύματα, και μόνο περιστασιακά από υλικά φυτών. Εν τούτοις, σπάνια βρίσκονται στον αέρα σαν ξεχωριστά σωματίδια. Η δειγματοληψία τους και η ανάλυση τους παρουσίαζε πολλά προβλήματα πριν τη διαθεσιμότητα της αναγνώρισης ύλης ως αντιγόνου και οι περισσότερες αποδείξεις για την ύπαρξή τους στα βιοαεροζόλ προέρχονται από την κτηνιατρική επιδημιολογία. Ωστόσο, ιοί της λύσσας έχουν εντοπιστεί σε σπηλιές κατοικημένες από νυχτερίδες, και *echoviruses*, ιοί της πολιομυελίτιδας και *coxsackie*, προς τον πνέοντα άνεμο σε τοποθεσίες άρδευσης παραπόταμων. Τα αεροζόλ που περιέχουν *Heliothis* και *Neodiprion sertifer*, δημιουργήθηκαν τεχνητά για να ελέγχουν τους ξενιστές οργανισμούς. Οι ιοί των φυτών μπορούν να γίνουν αερομεταφερόμενοι όταν τα μολυσμένα φυτά έχουν υποστεί φθορά. Οι ιοί μπορούν να μεταφερθούν πάνω σε σπόρια μυκήτων ή νηματόζωα διασκορπισμένα από το έδαφος με την βοήθεια του ανέμου [1].

Τα αερομεταφερόμενα πρωτόζωα έχουν μελετηθεί πολύ λίγο λόγω έλλειψης εύκολων τεχνικών. Εντούτοις, 0.1-0.2 κύστες πρωτόζωων ανά m^3 βρέθηκαν στον αέρα στο Παρίσι. Οι πηγές τους είναι κυρίως το νερό και το έδαφος [1].

1.4 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Η παρουσία του βιοαεροζόλ στους εξωτερικούς χώρους εργασίας έχει δύο ειδών επιπτώσεις. Η πρώτη είναι η επίδρασή τους στην ποιότητα των υλικών. Η αερομεταφερόμενη διασπορά των μικροοργανισμών, μπορεί να προκαλέσει των αποικισμό των υλικών με αποτέλεσμα την χειροτέρευση της ποιότητας των υλικών και άρα της κατασκευής, με συνέπεια πιθανές οικονομικές απώλειες. Η δεύτερη επίπτωση είναι οι πιθανοί κίνδυνοι υγείας που εγκυμονεί η έκθεση των εργαζομένων. Τα βιοαεροζόλ παρουσιάζουν στους εξωτερικούς χώρους εργασίας τους εξής κινδύνους υγείας: [1]:

- Μικροβιακή μόλυνση
- Αλλεργική αντίδραση ή ευαισθητοποίηση της αναπνευστικής οδού στους μικροοργανισμούς.
- Αλλεργική αντίδραση ή ευαισθητοποίηση σε μη μικροβιακά πρωτεϊνούχα υλικά.
- Τοξικολογική αντίδραση. [1].

1.4.1 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΜΟΛΥΝΣΗ

Τα μολυσματικά υλικά με τα οποία έρχεται σε επαφή ο άνθρωπος, γενικά μπορούν να θεωρηθούν ότι βρίσκονται στα νοσοκομεία ή στους εργαστηριακούς χώρους, αλλά υπάρχει και το ενδεχόμενο μόλυνσης και σε αυτούς τους εργαζόμενους που δεν βρίσκονται σε αυτούς τους χώρους. Όπως για παράδειγμα, το προσωπικό στις εγκαταστάσεις διαχείρισης αποβλήτων ή προσωπικό στην συλλογή και διάθεση στερεών αποβλήτων που έρχονται σε επαφή με μολυσματικά υλικά [1].

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που η παρουσία τους είναι φυσική ή ως μολύνον υλικό, στο περιβάλλον εργασίας υπό κανονικές συνθήκες δεν προκαλούν προβλήματα στον εκτεθειμένο αλλά υγιή εργαζόμενο. Παρόλαυτα, αν ένα ευπαθές άτομο έρθει σε επαφή με τους παθογόνους αυτούς μικροοργανισμούς, θα μολυνθεί. Χαρακτηριστική περίπτωση αυτού του φαινομένου είναι η νόσος των λεγεωνάριων, που προκλήθηκε από αεροζόλ που περιείχε το βακτήριο *Legionella pneumophila*. Αυτό το βακτήριο είναι παρόν σε μικρούς αριθμούς σε πολλά συστήματα θερμού νερού, όπου πολλοί άνθρωποι εκτείνονται σε χαμηλά επίπεδα αερομεταφερόμενων σταγονιδίων που διατρέφουν βακτηριακά κύτταρα. Αν και η δόση που προκαλεί μόλυνση δεν είναι ακόμα γνωστή, οι ενδείξεις από πρόσφατες μελέτες δείχνουν, ότι για την μόλυνση χρειάζονται λίγα βιώσιμα κύτταρα εφόσον κατακαθίσουν στον πνεύμονα ενός ευπαθούς ατόμου. Η πιθανότητα μόλυνσης αυξάνεται σημαντικά στους ηλικιωμένους άντρες, στους καπνιστές, σε αυτούς που καταναλώνουν αλκοόλ, στους διαβητικούς ή σε αυτούς που υποβάλλονται σε θεραπεία ανοσοκατασταλτική, όπου και η άμυνα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι αδύναμη [1].

Οι μολύνσεις που μεταδίδονται από τα ζώα στον άνθρωπο λαμβάνουν χώρα κυρίως σε αγροκτήματα, συμπεριλαμβανομένων των μικροβιακών αεροζόλ των σπιτιών των ζώων, αλλά σε άλλες εγκαταστάσεις όπου τα παράγωγα των ζώων τυγχάνουν διαχείρισης, όπου και υπάρχει το ενδεχόμενο για τους εργαζόμενους εκεί να εκτεθούν σε αερομεταφερόμενους μικροοργανισμούς ικανούς να προκαλέσουν ζωνόσο. Ιστορικά αυτό περιλαμβάνει το βακτήριο *Bacillus anthracis* ή άνθραξ. Παρά το γεγονός ότι σήμερα στις αναπτυγμένες χώρες οι μολύνσεις είναι σπάνιες, έχουν καταγραφεί περιπτώσεις μόλυνσης όχι μόνο σε εργαζόμενους σε αγροκτήματα και σε κτηνίατρους, αλλά και σε όσους ήρθαν σε επαφή με αίμα, κόκαλα, δέρματα ή μάλλινα υφάσματα. Σε χώρους που είναι συγκεντρωμένα πολλά πουλερικά υπάρχει ο κίνδυνος της ασθένειας ornithosis, που προκαλείται από το βακτήριο *Chlamydia psittaci* [1].

1.4.2 ΑΛΛΕΡΓΙΑ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΑΕΡΟΜΕΤΑΦΕΡΟΜΕΝΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Συνήθως γίνεται δειγματοληψία στον περιβάλλοντα αέρα, για να προσδιοριστεί η ύπαρξη αερομεταφερόμενης γύρης λουλουδιών που προκαλεί αλλεργία και σπορίων μυκήτων, με σκοπό τη διάγνωση και τη θεραπεία. Πολλές μέθοδοι έχουν εφαρμοστεί από τη στιγμή που πρώτος ο Pasteur έδειξε την παρουσία των μικροοργανισμών στον αέρα και οι Blackley και Gadham έδειξαν κατ'ακολουθία ότι η αερομεταφερόμενη γύρη λουλουδιών και τα σπόρια μυκήτων προκαλούν αλλεργία [1].

Η αλλεργία της αναπνευστικής οδού που οφείλεται στους εισπνεόμενους μικροοργανισμούς, περιλαμβάνει τις αλλεργικές ρινίτιδα, βρογχίτιδα, άσθμα και τον αλλεργική αλβεονίτιδα (υπερευαίσθητη πνευμονίτιδα). Επιπρόσθετα, το τοξικό σύνδρομο οργανικής σκόνης (ODTS), μπορεί να προέλθει από έντονη έκθεση σε σπόρια και σε αερομεταφερόμενη σκόνη. Κυρίως το ODTS, μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την εισπνοή σπορίων μυκήτων ή ακτινομυκήτων και η επικρατούσα πηγή είναι η δραστηριότητες σε αγροκτήματα ή όμοιους χώρους. Ένα γνωστό παράδειγμα, είναι η ασθένεια των πνευμόνων, ένα είδος αλλεργικής αλβεονίτιδας που προκαλείται κυρίως από την εισπνοή του ακτινομύκητα *Faenia rectivirgula*. Εν τούτοις, οι αερομεταφερόμενοι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν επίσης κίνδυνο αλλεργίας της αναπνευστικής οδού και σε άλλες δραστηριότητες όπως στην παραγωγή τροφών, στις αποθήκες, στις περιοχές βιοτεχνολογίας και στους χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων (ΧΥΤΑ). [1]

Η αλλεργία στον *Betula* είναι πιο συχνή τον Μάρτιο-Απρίλιο, στη γύρη γρασιδιού τον Μάιο-Ιούνιο, στον *Artica* τον Ιούνιο-Αύγουστο και στον *Ambrosia* τον Αύγουστο-Σεπτέμβριο [1].

1.4.3 ΑΛΛΕΡΓΙΑ ΠΡΟΚΑΛΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΪΝΟΥΧΑ ΥΛΙΚΑ (ΜΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ)

Η ευαισθησία της αναπνευστικής οδού επισέρχεται και σαν αποτέλεσμα της εισπνοής και έκθεσης σε πρωτεϊνούχα υλικά (μη μικροβιακά), παρόντα ως βιοαεροζόλ στους χώρους εργασίας. Κυρίως αυτοί προκαλούνται από τον χειρισμό μηχανημάτων, που δημιουργεί αεροζόλ από υλικά εργασίας. Τυπικά παραδείγματα, είναι το αερομεταφερόμενο αλεύρι στα αρτοποιεία και τα ρινίσματα στις αποθήκες ξύλων. [1]

1.4.4 ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ

Οι ενδοτοξίνες είναι σταθερά λιποπολυσακχαρούχα πρωτεϊνικά σύμπλοκα, τα οποία είναι αναπόσπαστα μέρη της εξωτερικής μεμβράνης των Gram-θετικών βακτηρίων. Απελευθερώνονται στο περιβάλλον μετά τη διάλυση των βακτηριακών κυττάρων ή κατά την διάρκεια ανάπτυξης ενεργού κυττάρου. Τα ανέπαφα βακτηριακά κύτταρα μπορούν να καταναλωθούν από μεγάλα φαγοκύτταρα και ταυτόχρονα απελευθερώνονται ενδοτοξίνες με αυξημένη τοξικότητα. Τα συστήματα μεσολάβησης ξενιστών των σωματικών υγρών και των κυττάρων, προσβάλλονται σε μεγάλο βαθμό από τις ενδοτοξίνες. Τα συστήματα συμπλήρωσης και θρόμβωσης μολύνονται καθώς αποτελούνται από εκατομμύρια κατηγορίες ανθρώπινων κυττάρων. Τα κύρια κύτταρα-στόχοι που φέρουν τη ζημιά της ενδοτοξίνης μετά την εισπνοή, είναι τα μεγάλα φαγοκύτταρα στην περιοχή του πνεύμονα. Επίσης, τα ανθρώπινα κυψελιδικά μεγάλα φαγοκύτταρα είναι υπερβολικά ευαίσθητα στις επιδράσεις τις ενδοτοξίνης σε τεχνητό περιβάλλον. Οι συστηματικές ενδείξεις και συμπτώματα που έχουν αναφερθεί από εργαζόμενους σε εγκαταστάσεις διαχείρισης λυμάτων, χοιροστάσια, εργοστάσια πουλερικών και υποδηλώνουν πιθανή έκθεση σε αερομεταφερόμενη ενδοτοξίνη, είναι σφίξιμο στο στήθος, δυσφορία στην αναπνοή, πυρετός και πνευστίαση [1]. Επίσης, τελευταίες μελέτες έδειξαν ότι απόρροια της παρατεταμένης έκθεσης σε ενδοτοξίνη είναι η ναυτία, καθώς και η διάρροια. Ο αριθμός των κρουσμάτων και για τα δύο συμπτώματα μειώνεται καθώς μειώνεται ο χρόνος έκθεσης[5].

Σε ελεγχόμενη έκθεση εθελοντών ανθρώπων σε σκόνη από βαμβάκι που περιείχε ενδοτοξίνη, σε πείραμα που έγινε, παρατηρήθηκε σχέση μεταξύ της έντονης μείωσης της πνευμονικής λειτουργίας και των επιπέδων της αερομεταφερόμενης ενδοτοξίνης στην σκόνη. Επίσης, έχει αναφερθεί σχέση μεταξύ χρόνιας ασθένειας των πνευμόνων και της συγκέντρωσης της ενδοτοξίνης στον αέρα. Τα Gram-αρνητικά βακτήρια και οι ενδοτοξίνες τους είναι ευρέως διαδεδομένα και βρίσκονται στο χώμα, στο νερό και σε πολλούς ζώντες οργανισμούς. Η πιο συνηθισμένη εμφάνιση τους είναι σε διάφορα υλικά σε γεωργικές περιοχές, όπου δημιουργούνται μεγάλα ποσά οργανικής σκόνης. Εν τούτοις, μπορούν να βρεθούν και σε άλλου είδους περιβάλλοντα, όπως σε κτίρια γραφείων και βιβλιοθήκες [1].

Οι μυκοτοξίνες είναι δευτερεύοντα προϊόντα μεταβολισμού, τα οποία μπορεί να αποβούν καρκινογόνα στον άνθρωπο και παράγονται από μύκητες σε ειδικές περιβαλλοντικές

συνθήκες. Έχει αναφερθεί επισήμως, ότι η απορρόφηση τους μπορεί να προκαλέσει αρρώστιες ή ακόμα και θάνατο. Ενδεχομένως να είναι παρόντα όπου υπάρχει ανάπτυξη μυκήτων και να συμβάλουν στα προβλήματα χρόνιων ασθενειών, όμως λίγα είναι γνωστά για την τοξικότητα τους μέσω της εισπνοής. Ο καρκίνος του συκωτιού αποδίδεται στην έκθεση αφλατοξίνης της μυκητοξίνης, που παράγεται από τον μύκητα *Aspergillus flavus* σε μολυσμένα φιστίκια, όμως είναι δύσκολος ο διαχωρισμός ανάμεσα στον εμβολιασμό εισπνεέμενης σκόνης και στην απορρόφησης της [1].

Τα αναπνευστικά συμπτώματα που σχετίζονται με φλεγμονώδεις αντιδράσεις, όπως ερεθισμός, μόλυνση και άσθμα είναι πιο συχνά από τις αλλεργίες. Ωστόσο, δεν έχουν ακόμα αναγνωριστεί οι ακριβείς κυτταρικοί μηχανισμοί αυτών των ασθενειών. Μεγάλη ποικιλία κυτάρων που βρίσκονται στον αέρα, μπορεί να προκαλέσει φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Έχει δειχθεί, ότι μερικά αεροζόλ, ειδικά αυτά που περιέχουν στρεπτομύκητες και μυκητοβακτήρια, είναι ικανά να προκαλέσουν παραγωγή ROS, NO και κυτοκίνες, που οδηγούν στην κυτταροτοξικότητα, καθώς και να προκαλέσουν κυτταρική θανάτωση στα μεγάλα κυτταροφάγα και στα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα. Οι αναφορές που σχετίζονται με τους στρεπτομύκητες, είναι ανεξάρτητες της βιωσιμότητας των σπορίων αυτών των μικροβίων. [6].

Τέλος, μεγάλης συχνότητας εμφάνισης γαστρεντερικών προβλημάτων έχουν πρόσφατα αναφερθεί για τους συλλέκτες αποβλήτων. Τα γαστρεντερικά αυτά προβλήματα, σχετίζονται με της μετρήσεις του βιοαεροζόλ, στο οποίο εκτέθηκαν οι συλλέκτες αποβλήτων, κατά την διάρκεια εργασίας τους [5].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2 ΤΡΟΠΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μέτρηση εκπομπής του βιοαεροζόλ, εγκυμονεί σημαντικές δυσκολίες σε αυτούς που ανέλαβαν την αποτίμηση των περιβαλλοντικών αντίκτυπων τέτοιων πηγών. Αν και επί του παρόντος έχουν γίνει σημαντικές πρόοδοι όσον αφορά την εξέλιξη των μη επιδρομικών τεχνικών, αυτοί οι αναλυτές είναι πολύ ακριβοί και τα δεδομένα απαιτούν προσεκτική ερμηνεία πριν μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν. Οι μέθοδοι μέτρησης στον φυσικό τόπο όπου παρατηρείται το φαινόμενο, είναι σχεδόν πάντα βασιζόμενες στην οπτική και στις περισσότερες περιπτώσεις(η προφανής εξαίρεση είναι οι μετρητές διάθλασης) παρέχουν πληροφορίες για το μέγεθος βασιζόμενες σε αριθμούς ως ανεπεξέργαστα δεδομένα. Οι μετρήσεις που βασίζονται στην ισχύ και μάζα συνήθως προτιμούνται, αφού τέτοια δεδομένα μπορούν να συγκριθούν απευθείας με όρια καθορισμένα από τις ρυθμιστικές αρχές. Σε αντίθεση, οι περισσότερες από τις παραδοσιακές μεθόδους ανάλυσης αεροζόλ, όπως η συλλογή με φίλτρα και με συσκευές πακτώματος, παρέχουν απευθείας μετρήσεις βασιζόμενες στη μάζα. Εν τούτοις, με τέτοιου είδους μεθόδους, η δειγματοληψία του αεροζόλ είναι τόσο σημαντική όσο και η μέτρηση, ενώ μια λανθασμένη διαδικασία δειγματοληψίας μπορεί να προκαλέσει αποτυχία σε έναν διαφορετικά εμπεριστατωμένο προσδιορισμό διανομής μεγέθους [1].

2.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΤΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΑΕΡΟΖΟΛ

2.2.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Οι τεχνικές μέτρησης του μεγέθους των σωματιδίων του αεροζόλ, υπάγονται σε πέντε κύριες κατηγορίες:

1. ιζηματοποίηση/ αναλυτές αδράνειας
2. οπτικές τεχνικές
3. τεχνικές ηλεκτρικής κινητικότητας
4. μέθοδοι διάχυσης
5. ανάλυση εικόνας μικροσκοπίου

Το κατά προσέγγιση εύρος μεγέθους της κάθε κατηγορίας αναλυτή παρέχεται στον παρακάτω πίνακα [1].

Πίνακας 2: Τεχνικές μέτρησης της διανομής μεγεθών των σωματιδίων

Αρχή	Τεχνική	Εύρος μεγέθους
Ιζηματοποίηση λόγω βαρύτητας	Οριζόντιοι και κατακόρυφοι εξαγωγείς	1-100 μm διαμέτρου Stokes
Διαχωρισμός λόγω αδράνειας	Συσκευές διαδοχικού πακτώματος	0,5-15 μm αεροδυναμικής διαμέτρου(η σχεδιασμοί χαμηλής πίεσης εκτείνουν το κάτω όριο του εύρους στα 0,05 μm
	Διαδοχικοί κυκλώνες	0,5-15 μm αεροδυναμικής διαμέτρου
	Φυγοκεντρητές	0,08-5 μm αεροδυναμικής διαμέτρου
	Prodi inspec	0,5-10 μm αεροδυναμικής διαμέτρου
	TSI Inc.APS33B	0,5-30 μm αεροδυναμικής διαμέτρου
	Αερομετρητής μεγέθους API	0,5-200 μm αεροδυναμικής διαμέτρου
Διασκορπισμός φωτός	Κοντινής-διαβίβασης, σωστής γωνίας και ανοικτής γωνίας OPC	0,5-100 μm διαμέτρου
Μικροσκοπία	Οπτική SEM/TEM	2-1000 μm διαμέτρου ισοδύναμου όγκου (οπτική), 0,01-100 διαμέτρου ισοδύναμου όγκου

2.2.2 ΚΑΤΑΚΑΘΙΣΗ/ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΔΡΑΝΕΙΑΣ

Η ιζηματοποίηση και οι τεχνικές αδράνειας, δημιουργούν αναλυτές αεροζόλ απλής ταξινόμησης, οι οποίοι προσδιορίζουν απευθείας την αεροδυναμική διάμετρο του σωματιδίου. Οι συσκευές ιζηματοποίησης, χρησιμοποιούνται σε περιορισμένο αριθμό εφαρμογών, όπως η υγιεινή των εργαζομένων, όπου είναι αποδεκτοί μικροί ρυθμοί ροής αεροζόλ. Εν τούτοις, οι γενικής επιδίωξης αδρανειακοί ταξινομητές αεροζόλ, είναι με διαφορά το πιο ευρέως χρησιμοποιημένο είδος αναλυτή σωματιδίων. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει όργανα διαχωρισμού, όπως συσκευές διαδοχικού πακτώματος, πολυστρωματικούς κυκλώνες και φυγόκεντρους μετρητές δείκτη διάθλασης. Οι προαναφερόμενες τεχνικές, διατηρούν ολόκληρο το διαχωρισμένο, ανάλογα με το μέγεθος του, σωματίδιο σε ένα υπόστρωμα, χαρακτηριστικό που υπάρχει στα περισσότερα είδη των ιζηματομετρητών [1].

Οι απλούστεροι δειγματολήπτες ιζηματοποίησης, αποτελούνται από έναν θάλαμο, όπου τα αεροζόλ εισάγονται με καλά καθορισμένο ρυθμό στρωτής ροής. Τα σωματίδια διαχωρίζονται ανάλογα με το μέγεθος, υπό την επίδραση της βαρύτητας, σύμφωνα με τον νόμο του Stokes [1].

Ένα σωματίδιο σε μια περιοχή ακίνητου αέρα πέφτει λόγω του πεδίου βαρύτητας, με ταχύτητα που εξαρτάται από τη μάζα. Καθώς η ακτίνα της πτώσης αυξάνεται ομοίως

αυξάνεται και η αντίσταση αέρα ή η ιξώδης δύναμη λόγω τριβής που ενεργεί στο σωματίδιο. Όταν οι δύο δυνάμεις είναι ίσες, το σωματίδιο επιτυγχάνει την τελική ή αλλιώς τερματική του ταχύτητα [1].

Ο νόμος του Stokes συσχετίζει την τερματική ταχύτητα με το μέγεθος του σωματιδίου, την μάζα του και λοιπά μεγέθη και παράγεται εξισώνοντας την επιτάχυνση λόγω βαρύτητας με την ιξώδη δύναμη λόγω αντίστασης του αέρα. Για ένα σφαιρικό σωματίδιο η τερματική ταχύτητα v (cm/sec) είναι :

$$v = \frac{\rho * d^2 * g * C}{18 * \eta}$$

όπου ρ = η πυκνότητα του σωματιδίου, g/cm³

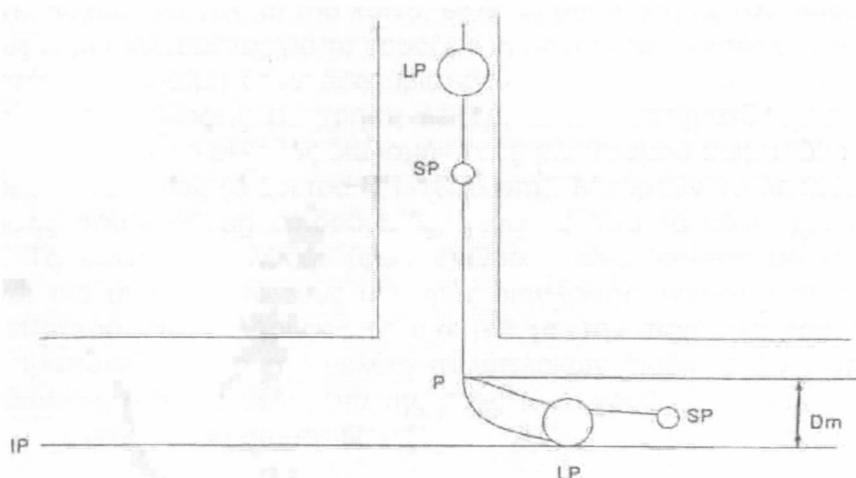
d = η διάμετρος του σωματιδίου, cm

g = επιτάχυνση λόγω βαρύτητας, cm/s²

η = το ιξώδες του αέρα, g/cm s⁻¹

C = ο συντελεστής διόρθωσης λάθους Cunningham [1]

Η σύγκρουση λόγω αδράνειας θα περιγραφθεί μέσω του τρόπου που λειτουργούν οι συσκευές συλλογής δείγματος. Αυτές οι συσκευές αποτελούνται από στενό άνοιγμα εκροής, στο οποίο μπορεί σταδιακά να μειώνεται η διάμετρος του και η διατομή τους είναι ορθογώνια ή κυκλική. Κάτω από το άνοιγμα υπάρχει ο δίσκος καλλιέργειας μικροβίων. Τα σωματίδια που υπάρχουν στον αέρα που εισρέει καθώς πλησιάζουν τον δίσκο αλλάζουν κατεύθυνση. Τα εισερχόμενα σωματίδια λόγω της ορμής τους και της αδράνειας, περνούν τις γραμμές ρεύματος και κατευθύνονται προς την επιφάνεια του δίσκου [1].



Εικόνα 10: Εξιδανικευμένη πάκτωση σωματιδίου σε στενό άνοιγμα εισροής

Η απόσταση (D) που διανύεται δίνεται από τη σχέση:

$$D = v * t$$

όπου $t = \frac{L}{V}$

όπου L = το μήκος της κυρτής τροχιάς
V = η ταχύτητα του αέρα

2.2.3 ΟΠΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Μια μεγάλη ομάδα αναλυτών του αεροζόλ λειτουργούν με βάση την αλληλεπίδραση του φωτός με τα σωματίδια. Αυτά τα όργανα, διαχωρίζονται σε πέντε υποκατηγορίες:

1. Συσκευές κλασικής και ενεργής-κοιλότητας διασκορπισμού φωτός με τη χρήση λέιζερ (οπτικοί μετρητές σωματιδίων).
2. Αναλυτές διάθλασης με τη χρήση λέιζερ (Fraunhofer/Mie).
3. Τεχνικές λέιζερ (φάσης)-Dopler
4. Αναλυτής απώλειας της περιελικτικής έντασης φωτός
5. Αναλυτής του χρόνου διάρκειας της διάθλασης Galai CIS [1]

Οι τέσσερις πρώτοι τύποι του συστήματος χρησιμοποιούνται ευρέως. Το τελευταίο σύστημα έχει αρχίσει να γίνεται πιο κοινό, αλλά οι δυνατότητες του παραμένουν να μην είναι πλήρως εκμεταλλευμένες για το αεροζόλ. Η μονοσωματιδιακή διάθλαση του φωτός, είναι περισσότερο χρήσιμη στον διαχωρισμό σωματιδίων με εύρος διαμέτρου 0,1-100 μm . Οι μετρητές διάθλασης με χρήση λέιζερ, είναι συστήματα διαχωρισμού πεδίου (μετρούν ταυτόχρονα το μέγεθος διανομής ενός πληθυσμού σωματιδίων) και έχουν πιο μεγάλο εύρος λειτουργίας (διάμετρο 0,1-1000 μm). Μπορούν να λειτουργήσουν με ένα τρόπο δράσης που είναι μη επιδρομικός, γεγονός που τα κάνει χρήσιμα σε πολλές εφαρμογές. Τα συστήματα λέιζερ (φάσης)-Dopler είναι επίσης μη επιδρομικά, αλλά γενικώς είναι πιο ακριβά από τους μετρητές διάθλασης. Παρόλαυτα, τέτοιοι αναλυτές παρέχουν επιπρόσθετες πληροφορίες σχετικά με την ταχύτητα του σωματιδίου και συχνά χρησιμοποιούνται για την μελέτη πολύπλοκων διαδικασιών, όπως ψεκασμός, καύση και διύλιση, όταν τα δεδομένα της ροής του υγρού είναι τόσο σημαντικά όσο οι μετρήσεις του μεγέθους του σωματιδίου [1].

2.2.3.1 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Οι ηλεκτρικής κινητικότητας αναλυτές αεροζόλ βασίζονται στην κίνηση των αεριομεταφερόμενων σωματιδίων, που μεταφέρουν γνωστό ηλεκτρικό φορτίο προς την κατεύθυνση αντίθετα φορτισμένου ηλεκτροδίου. Αυτές οι τεχνικές, χρησιμοποιούνται ευρέως στα εργαστήρια, ειδικά σε μελέτες της δομής του σωματιδίου, για τον λόγο ότι έχουν την δυνατότητα για πολύ ικανοποιητικό διαχωρισμό μεγέθους, στο εύρος διαμέτρου 0,01-1,0 μm . Παρόλαυτα, η εφαρμογή τους στο πεδίο, είναι απαγορευτική για την μέτρηση χαμηλών συγκεντρώσεων σταθερών αεροζόλ, όπως αυτά που μπορούν να

βρεθούν σε χώρους με υπό παρακολούθηση περιβαλλοντικούς ρύπους. Η αγορά ηλεκτρικής κινητικότητας αναλυτών κοστίζει πολύ και όπως πολλές τεχνικές οπτικής, απαιτούν ικανότητα στον χειρισμό και ερμηνεία των δεδομένων [1].

2.2.4 ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΔΙΑΔΟΧΙΚΟΥ ΠΑΚΤΩΜΑΤΟΣ, ΚΟΣΚΙΝΑ ΚΑΙ ΕΠΑΛΛΗΛΑ ΚΟΣΚΙΝΑ

Η αρχή που βασίζεται η συλλογή με συσκευές πακτώματος είναι η τάση ενός σωματιδίου να αποκλίνει από το ρεύμα αέρα, εξαιτίας της αδράνειας, όταν ρεύμα της ροής του αέρα κλίνει για να παρακάμψει μια στερεή ή ημιστερεή επιφάνεια. Συνεπώς, τα σωματίδια που εγκαταλείπουν το ρεύμα, συγκρούονται στην επιφάνεια. Οι δειγματολήπτες αυτού του είδους, μπορούν να υποκατηγοριοποιηθούν σε κόσκινα, επάλληλα κόσκινα, δειγματολήπτες διαχωρισμού και συσκευές διαδοχικού πακτώματος [1].

2.2.4.1 ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΔΙΑΔΟΧΙΚΟΥ ΠΑΚΤΩΜΑΤΟΣ

Η αρχή που βασίζεται η συλλογή με συσκευές πακτώματος, οι οποίες περιγράφηκε παραπάνω, σημαίνει ότι είναι δυνατή η διάκριση του μεγέθους. Ο αέρας μπορεί να εισρεύσει μέσω μιας σειράς σχισμών, με διαδοχικά μειούμενο μέγεθος, ώστε να αυξάνεται η ταχύτητα του αέρα από το ένα στρώμα στο άλλο. Αρκετής μάζας σωματίδια, θα εναποθετηθούν στο πάνω στρώμα, ενώ τα μικρότερα σωματίδια, που είναι ικανά να παραμείνουν στο ρεύμα αέρα με μια μικρότερη ταχύτητα, θα εγκαταλείψουν το ρεύμα αέρα σε υψηλότερες ταχύτητες, για να συγκρουστούν τελικά στις επιφάνειες συλλογής. Αυτό το είδος δειγματολήπτη είναι γνωστό ως συσκευές διαδοχικού πακτώματος [1].

Διαθέσιμες είναι επίσης οι συσκευές διαδοχικού πακτώματος που συλλέγουν σωματίδια με προσωπική δειγματοληψία στην ζώνη αναπνοής. Πρωταρχικά σχεδιασμένοι για να μετρούν την έκθεση των εργατών στη σκόνη από κάρβουνα στα ορυχεία, αυτοί οι δειγματολήπτες είναι αρκετά μικροί. Οι δειγματοληψία των αερομεταφερόμενων σωματιδίων γίνεται με ρυθμό 2 lt/min, με αναρρόφηση που παρέχεται από μια αντλία που λειτουργεί με μπαταρία. Οι διαθέσιμες εκδόσεις που συλλέγουν σωματίδια σε τέσσερα, έξη ή οκτώ κλάσματα σε υποστρώματα συλλογής είναι τρεις και αποτελούνται από μεταλλικούς ή Myral πλαστικούς δίσκους. Ο αέρας περνάει διαμέσω έξη ακτινωτών σχισμών σε κάθε στρώμα, οι οποίες προοδευτικά στενεύουν ώστε να διευκολύνουν τον διαχωρισμό με βάση το μέγεθος. Τα υποστρώματα συλλογής, έχουν αντίστοιχες σχισμές που μετατοπίζονται, ώστε οι επιφάνειες συλλογής ανάμεσα στις σχισμές, να είναι κατευθείαν κάτω από το στενό άνοιγμα εκροή του προηγούμενου στρώματος [1].

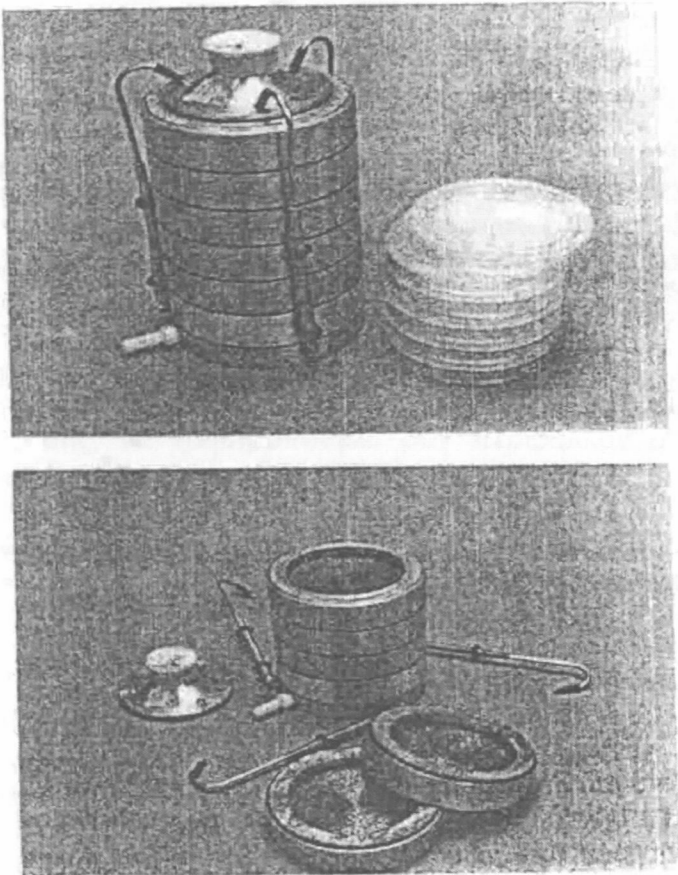
Τα σωματίδια που εναποθέτονται σε μεμβράνες Myral, μπορούν να παρατηρηθούν απευθείας με μικροσκόπιο. Τα βιώσιμα σπόρια ανακτώνται από τα κατάλοιπα προς μια μορφή αιώρησης, με σκοπό τον εμβολιασμό των τριβλίων άγαρ ή την τροποποίηση του πρωταρχικού δειγματολήπτη όγδοου στρώματος. Αν και η αποδοτικότητα του σημείου εισαγωγής είναι μικρή για σωματίδια με αεροδυναμική διάμετρο μεγαλύτερη από 20 μm , η έκδοση του όγδοου στρώματος, έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την συλλογή αέριου υλικού που προκαλεί αλλεργία, ταυτόχρονα με την εξαγωγή δεδομένων για την διανομή του μεγέθους των σωματιδίων [1].

2.2.4.2 ΚΟΣΚΙΝΑ

Όπως και με τους οι δειγματολήπτες διαχωρισμού, έτσι και οι δειγματολήπτες με κόσκινα έχουν την δυνατότητα συλλογής μεγέθους μονού κλάσματος ή υποδιαίρεσης του προσκρουσμένου σε διαφορετικά κλάσματα. Για αεροβιολογική δειγματοληψία, οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι είναι οι δειγματολήπτες επάλληλων κόσκινων [1].

2.2.4.3 ΕΠΑΛΛΗΛΑ ΚΟΣΚΙΝΑ

Η αρχή που βασίζεται η συλλογή με διαδοχικές συσκευές πακτώματος σε κολλώδεις επιφάνειες, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να αναρροφήσει αέρα διαμέσω μιας σειράς διάτρητων δίσκων, οι οποίοι έχουν καθορισμένη διάμετρο. Η αρχή αυτή, είναι ή ίδια που ισχύει στους δειγματολήπτες με σχισμές, αλλά υπάρχουν περισσότερα μέρη εναπόθεσης και το υπόστρωμα συλλογής, μπορεί να είναι επίπεδος μεταλλικός δίσκος, επικαλυμμένος με αυτοκόλλητο, συνήθως χρησιμοποιούμενο μόνο για συλλογή μη βιώσιμης σκόνης ή δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών με άγαρ. Ο πιο διαδεδομένος τύπος συσκευής πακτώματος και πιθανά ο πιο χρησιμοποιημένος από όλους τους αεροβιολογικούς δειγματολήπτες, είναι η βιώσιμη συσκευή πακτώματος Andersen (εικόνα 11) [1].



Εικόνα 11: Μικροβιακή συσκευή πακτώματος Andersen

Η αναρρόφηση γίνεται με ρυθμό 28.3 lt/min. Τα σωματίδια με αεροδυναμική διάμετρο, από 1->15 μm , διαχωρίζονται σε έξη υποστρώματα με βάση το μέγεθος, καθώς το ρεύμα αέρα περνάει διαμέσω των διάτρητων δίσκων, που αποτελούνται από 400 τρύπες, στις οποίες διαδοχικά μειώνεται το μέγεθος. Έπειτα, προσκρούουν στην

επιφάνεια των δίσκων που περιέχουν άγαρ, οι οποίοι είναι τοποθετημένη κάτω από κάθε δίσκο κόσκινου. Ο δειγματολήπτης είναι σχεδιασμένος για γυάλινους δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών, με καπάκι από αλουμίνιο (παρέχεται από την κατασκευάστρια εταιρία του δειγματολήπτη). Η χρήση πλαστικών δίσκων καλλιέργειας μικροοργανισμών, θα μπορούσε να επιτρέψει την δράση ηλεκτροστατικών δυνάμεων, με αρνητικές συνέπειες, όμως θα μπορούσε να αμφισβητηθεί το γεγονός ότι οι απώλειες από τα τοιχώματα μπορούν να αντισταθμιστούν από την πρακτικότητα της χρήσης. Προς χρήση, είναι η έκδοση δύο-στρωμάτων της Andersen μικροβιακής συσκευής πακτώματος. Κάθε στρώμα έχει 200 τρύπες, ρυθμό δειγματοληψίας 28.3 lt/min. Τα σωματίδια διαχωρίζονται πριν την πρόσκρουση, σε αναπνεύσιμα και μη αναπνεύσιμα στρώματα. Το πάνω στρώμα περίπου αντιστοιχεί στην εναπόθεση των στρωμάτων ένα και δύο της έκδοσης έξη-στρωμάτων, και το κάτω στρώμα περίπου αντιστοιχεί στην εναπόθεση των στρωμάτων τρία έως έξη. Παρόλαυτα, η σύγκριση με την έκδοση έξη-στρωμάτων, έδειξε έναν χαμηλότερο ρυθμό ανάκτησης, εκτός από την περίπτωση που στην δειγματοληψία υπήρχαν μικρές συγκεντρώσεις (<1000 σωματίδια/ m^3) ή μεγαλύτερα σε μέγεθος σωματίδια ($>1 \mu m$). Αυτές οι διαφορές μπορούν εν μέρει να ελαχιστοποιηθούν χρησιμοποιώντας διορθωτικούς παράγοντες, υπολογισμένοι ειδικά για δειγματοληπτική συσκευή πάκτωσης δύο-στρωμάτων με 200 τρύπες. Όμως, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ανάκτηση των βακτηριδίων από την δύο-στρωμάτων συσκευή πάκτωσης, περίπου 40% μικρότερη από την έκδοση έξη-στρωμάτων [1].

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Μετά την συλλογή, οι δίσκοι που περιέχουν άγαρ, επωάζονται προς καλλιέργεια μικροβίων και σχηματισμό αποικιών. Για μικροβιακές συσκευές πάκτωσης Andersen έξη-στρωμάτων, ένας διορθωτικός παράγοντας επιτρέπει τον υπολογισμό του αριθμού των σωματιδίων που εναποθέτονται ανά μονάδα όγκου του δειγματοληπτούμενου αέρα, λαμβάνοντας υπόψη την συμπίπτων εναπόθεση των σωματιδίων στο ίδιο σημείο εναπόθεσης στα κατώτερα στρώματα, όταν γίνεται δειγματοληψία από μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αερομεταφερόμενων κυττάρων. Εναλλακτικά, μετά την έκθεση, το άγαρ μπορεί να αφαιρεθεί από τους δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών, να ομογενοποιηθεί και να διαλυθεί για να εμβολιάσει περαιτέρω δίσκους με άγαρ. Μπορεί επίσης, να χρησιμοποιηθεί σαν περιβάλλον συλλογής στους δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών ζελατίνη, η οποία να λιώσει σε ζεστό νερό για να προετοιμάσει εμβόλιο για δίσκους άγαρ. Αυτές οι μέθοδοι, έχουν χριστεί με επιτυχία για δειγματοληψία από περιβάλλοντα με μεγάλη μόλυνση, όπου η επώαση των δίσκων με άγαρ των συσκευών πάκτωσης κατευθείαν από την εναπόθεση με σκοπό την καλλιέργεια τους, οδήγησε σε υπερανάπτυξη.

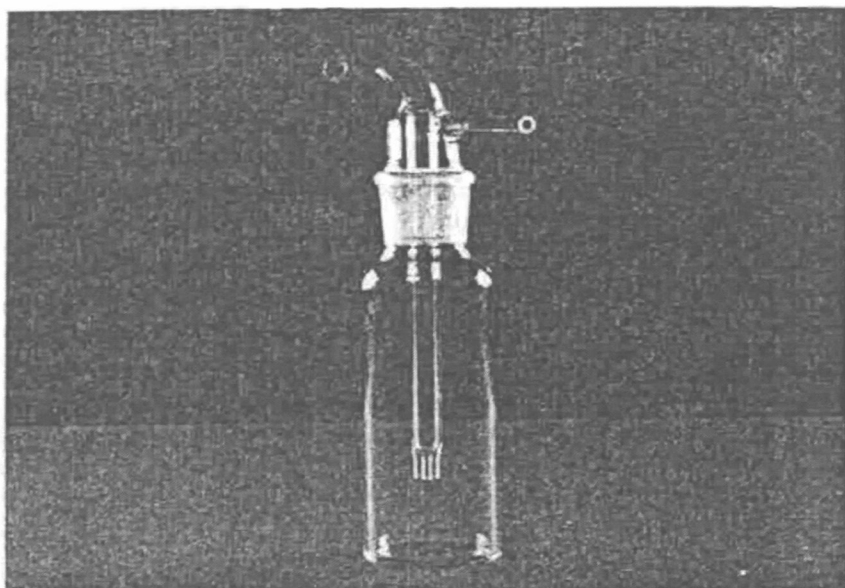
Πρέπει να σημειωθεί ότι, εν συγκρίσει με την συνήθη χρήση του δειγματολήπτη Andersen, η ανάπτυξη καλλιιεργειών θα είναι μεγαλύτερη, επειδή η συμπαγής μάζα των κυττάρων θα έχει διασπαστεί. Άλλη πιθανή χρήση, είναι να επικαλυφθούν οι δίσκοι με φίλτρα, από τα οποία τα ιζήματα μπορούν να επαναιωρηθούν και να παρέχουν εμβόλιο. Παρόλαυτα, αυτό οδηγεί στην αναπήδηση των σωματιδίων και επανεισαγωγή τους στο ρεύμα αέρα, προκαλώντας φαινομενικές διαφορές στα χαρακτηριστικά του μεγέθους και σε πιθανές απώλειες [1].

2.2.5 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΠΤΕΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

Ο αναρροφούμενος αέρας που περνάει διαμέσω σχισμής που στενεύει, επιταχύνεται κινούμενος προς τους δίσκους καλλιέργειας μικροβίων, οι οποίοι περιέχουν άγαρ, σε μια περιστρεφόμενη πλατφόρμα. Οι αερομεταφερόμενοι μικροοργανισμοί συγκρούονται στην επιφάνεια του άγαρ και διασκορπίζονται χωροταξικά, λόγω περιστροφής του δίσκου. Αυτός ο δειγματολήπτης, ήταν από τους πρώτους που χρησιμοποιήθηκε ειδικά για την συλλογή αερομεταφερόμενων μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε εκτεταμένα για συλλογή μικροοργανισμών σε μεγάλο εύρος περιβαλλόντων, συμπεριλαμβανομένων υψηλά μολυσμένων γεωργικών, σε εγκαταστάσεις διαχείρισης λυμάτων και σε οικιακούς χώρους, με πολλές φορές αλλαγές στην επιτρεπόμενη αυτόματη επώαση. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς στην συλλογή αερομεταφερόμενων ιών [1].

2.2.6 ΠΡΟΣΚΡΟΥΤΕΣ

Σε έναν προσκρουτή, ο αέρας αναρροφάτε από έναν χώρο με αέριο χαμηλής πίεσης διαμέσω ενός σώματος με υγρό. Τα σωματίδια εγκαταλείπουν το ρεύμα αέρα και συλλέγονται λόγω πρόσκρουσης τους στο υγρό. Ο υγρός προσκρουτής πρωτοπεριγράφηκε, από τους Greenburg και Smith, ως ένα δειγματολήπτης σκόνης και αργότερα προσαρμόστηκε για χρήση ως δειγματολήπτης βακτηριακού αεροζόλ. Οι περισσότεροι προσκρουτές είναι κατασκευασμένοι από γυαλί, έχουν ένα θάλαμο συλλογής και η αναρρόφηση εφαρμόζεται σε έναν επιπρόσθετο βραχίονα. Ο αέρας αναρροφάτε διαμέσω ενός καμπυλώδους σωληνάριου που εισάγει νερό σε δοχείο και ακολουθείται από έναν στενό άνοιγμα εισροής, το οποίο ενεργεί ως το κρίσιμο άνοιγμα που καθορίζει την ταχύτητα και συνεπώς και τον ρυθμό ροής. Στα αρχικά σχέδια, η απόσταση ανάμεσα στον κινητήρα αναρρόφησης και την βάση του δειγματολήπτη ήταν 4 mm, με αποτέλεσμα ο αέρας στο στενό άνοιγμα εισροής να εκτοπίζει το υγρό πρόσκρουσης και να επιτρέπει στα σωματίδια να χτυπούνε στην βάση του δειγματολήπτη, η οποία μπορεί να έχει επιτηδευμένη βιωσιμότητα για μερικούς μικροοργανισμούς. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη εναλλακτικών συσκευών, όπως ο δειγματολήπτης Shipe, στον οποίο ο αέρας στο στενό άνοιγμα εισροής εισάγεται στον θάλαμο υπό γωνία και ο δειγματολήπτης Porton ή AGI-30, στον οποίο στενό άνοιγμα εισροής ανυψώθηκε 30 mm από την βάση του δειγματολήπτη (εικόνα 12) [1].



Εικόνα 12: Υγρός προσκρουτής AGI-30

Αυτό συνέβαλε στην αύξηση της απόδοσης για τα βιώσιμα κύτταρα, μειώνοντας την ταχύτητα με την οποία τα σωματίδια προσκρούανε και ελαττώνοντας την φθορά που προκαλούσε η επαφή με την βάση του δειγματολήπτη. Όπως η βιώσιμη συσκευή πάκτωσης Andersen, έτσι και ο AGI-30, υιοθετήθηκε ως δειγματολήπτης αναφοράς για την συλλογή βιώσιμων αερομεταφερόμενων μικροοργανισμών. Ο ρυθμός δειγματοληψίας που πετυχαίνεται από την αντλία αερίου χαμηλής πίεσης είναι 12,5 lt/min και συλλέγεται συνήθως σε 20 mL υδαρούς υγρού. Κατάλληλες διαλύσεις του μικροβιακού αιωρήματος στο υγρό συλλογής, μπορούν να απλωθούν στην επιφάνεια του άγαρ και επωάζονται προς δημιουργία αποικιών από βιώσιμα κύτταρα [1].

Η πρόσκρουση σαν μέσο συλλογής δια αντιπροσώπου AGI-30, έχει δείξει καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά την απόδοση συλλογής βακτηριακών αεροζόλ, εν συγκρίσει με τον δειγματολήπτη με σχισμές, ενώ στην ανάκτηση των αερομεταφερόμενων ιών είναι ίδια. Επίσης, η απόδοση στην συλλογή των αερομεταφερόμενων ιών "ποδιού και στόματος", βρέθηκε να είναι καλύτερη από την συλλογή με διύλιση [1].

Για τον λόγο ότι τα αεροζόλ συλλέγονται με αιώρηση σε υγρό, δεν υπάρχει αυστηρώς περιορισμός στην διάρκεια της δειγματοληψίας (εκτός από το χρονικό όριο εξάτμισης του υγρού συλλογής), καθώς το υγρό συλλογής-πρόσκρουσης μπορεί να διαλυθεί πριν επικαλυφθεί. Συνεπώς, αυτή η μέθοδος συλλογής έχει ένα πλεονέκτημα απέναντι στις άλλες μεθόδους, όπως η πάκτωση όπου το σημείο εναπόθεσης μπορεί να υπερφορτωθεί [1].

2.2.7 ΔΙΥΛΙΣΗ

Η δειγματοληψία με διύλιση, είναι μακράν η πιο ευρέως χρησιμοποιημένη μέθοδος για την συλλογή μη βιολογικών αερομεταφερόμενων μικροοργανισμών, όπως η ανόργανη σκόνη. Συνεπώς, υπάρχει μεγάλη ποικιλία συσκευών δειγματοληψίας και περιβάλλοντα συλλογής, μερικές από τις οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί ή έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν για την συλλογή βιοαεροζόλ. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της διύλισης ως μέθοδος συλλογής, είναι ότι ο εξοπλισμός που απαιτείται είναι απλός και

σχετικά φθηνότερος από άλλες συσκευές δειγματοληψίας. Επίσης, η συλλογή και ο χειρισμός του δείγματος είναι συνεχώς προοδευτικός. Ο εξοπλισμός που απαιτείται για την δειγματοληψία, συνήθως είναι λιγότερο ογκώδης και περισσότερο ανθεκτικός από αυτών που χρησιμοποιούνται σε άλλες μεθόδους, καθώς επίσης και τα δείγματα μπορούν να ληφθούν συνεχόμενα σε μεγάλες περιόδους, είτε σε καθορισμένα σημεία, είτε από προσωπική δειγματοληψία.

Παρόλαυτα, για τα βιοαεροζόλ, η διύλιση έχει δύο μεγάλα μειονεκτήματα. Πρώτον, τις επιδράσεις της αφυδάτωσης που προκαλούνται από τον μεγάλο όγκο αέρα που περνάει πάνω από το σωματίδιο, αφού αυτό έχει καθιζάνει σε ουσιωδώς ξηρό περιβάλλον συλλογής. Δεύτερον, για τις επακόλουθες αναλύσεις, μπορεί να είναι αναγκαία η μετακίνηση από τα φίλτρα του υλικού που έχει καθιζάνει, καθώς και σε μερικά είδη φίλτρων η αποδοτική ανάκτηση των ιζημάτων μπορεί να είναι πολύ δύσκολη. Εν τούτοις, τα προηγούμενα μπορούν να ξεπεραστούν, επιλέγοντας το σωστό φίλτρο. Επίσης, για τα πιο ανθεκτικά βιοαεροζόλ (όπως αυτά των σπορίων από ακτινομύκητες και μύκητες και των αερίων υλικών που προκαλούν αλλεργία παρευρισκόμενο ως συστατικό σε ξηρή σκόνη), η αφυδάτωση κατά την διάρκεια της δειγματοληψίας, μπορεί να μην επιδράσει σημαντικά στην βιωσιμότητα και την ακεραιότητα τους.

2.2.7.1 ΦΙΛΤΡΑ ΑΠΟ MEMBRANΗ

Τα φίλτρα από μεμβράνη αποτελούνται από εστέρα κυτταρίνης (κυταρινικό οξικό άλας ή εστέρα, νιτρικός εστέρας), PVC, PTFE, gel από νάilon ή ζελατίνη ανακατεμένα με διαλύτες και εφαρμοσμένα σε ένα λεπτό κάλυμμα. Οι πόροι δημιουργούνται από εξάτμιση του διαλύτη. Εκ νέου, το ρεύμα αέρα διαμέσω του φίλτρου ακολουθεί έναν τυχαία μεταβαλλόμενο ρυθμό και τα σωματίδια μπορεί να παγιδευτούν εντός του φίλτρου, καθώς και στην επιφάνειά του. Τα φίλτρα εστέρα κυτταρίνης, χρησιμοποιούνται ευρέως για μικροβιολογικές αναλύσεις, ειδικά για υγρά, ενώ τα φίλτρα πορώδους ζελατίνης, έχουν επιτυχώς συλλέξει αερομεταφερόμενους μικροοργανισμούς.

Τα νάilon φίλτρα, επιτρέπουν την συγκέντρωση μικροβιακών κυττάρων από δείγματα νερού, για παράδειγμα για ανάλυση *Legionella*, επειδή το υλικό του φίλτρου είναι μηχανικά δυνατό και μπορεί να απολυμανθεί σε πολύ ζεστό νερό και τα σωματίδια να επαναιωρηθούν εύκολα από την επιφάνεια του φίλτρου. Για αυτούς τους λόγους, είναι επίσης κατάλληλοι για την συλλογή αερομεταφερόμενων μικροοργανισμών, όμως αυτή η χρήση δεν έχει τεκμηριωθεί.

2.2.8 ΘΕΡΜΙΚΗ ΚΑΘΙΖΗΣΗ

Περνώντας αέρα που περιέχει σκόνη από ένα σωλήνα που στενεύει και στον οποίο συντελείται βαθμωτή μεταβολή της θερμοκρασίας, κάθετη προς την διεύθυνση του ρεύματος του αέρα, τα σωματίδια μπορούν να συλλεχθούν. Τα αερομεταφερόμενα σωματίδια που εισέρχονται σε αυτή την βαθμωτή μεταβολή της θερμοκρασίας, κινούνται με φορά προς την περιοχή με την μικρότερη θερμοκρασία (φαινόμενο γνωστό ως κίνηση θερμοφόρησης). Για να μπορεί να συλλέγει αερομεταφερόμενους μικροοργανισμούς, η συσκευή σχεδιάστηκε με βάση την αρχή κατά την οποία ο αέρας αναρροφάτε στον θάλαμο, ανάμεσα από δύο μεταλλικούς δίσκους. Ο άνω δίσκος είναι θερμαίνεται στους 125 °C, ενώ ο κάτω δίσκος ψύχεται από έναν εναλλάκτη θερμότητας με ανακυκλώνει νερό. Καθώς το αεροζόλ περνάει μέσα από τον θάλαμο, τα σωματίδια

απομακρύνονται από θερμαινόμενο δίσκο και καθιζάνουν στον ψυχρό δίσκο. Η μικροσκοπική ανάλυση των συλλεγμένων ιζημάτων είναι δυνατή, εάν ένα γυάλινο κάλυμμα μικροσκοπίου τοποθετηθεί στην επιφάνεια συλλογής ή εάν ένα χάρτινο φίλτρο συλλέξει ιζήματα και μετά αυτά μεταφερθούν και τοποθετηθούν στην επιφάνεια ενός δίσκου με άγαρ, ώστε να επιτραπεί στα καθιζάμενα μικροβιακά κύτταρα να αναπτυχθούν σε αποικίες. Αν επιτευχθεί στον θάλαμο βαθμωτή μεταβολή της θερμότητας, αυτού του είδους ο δειγματολήπτης είναι πολύ αποδοτικός για την συλλογή μικρών σε μέγεθος σωματιδίων ($<0,01\ \mu\text{m}$ - $5\ \mu\text{m}$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

3.1 COLONY FORMING UNITS)

Η μέτρηση σε βιώσιμη ετεροτροφική καλλιέργεια, είναι μια τεχνική που βασίζεται στην ανάπτυξη μικροοργανισμών σε θρεπτικό υλικό (άγαρ) και ανάλογα με την παρουσία ή απουσία θρεπτικών (που βοηθούν στην ανάπτυξη κάποιων βακτηρίων) ή αναστολέων, γίνεται επιλογή συγκεκριμένης κατηγορίας μικροοργανισμών [8].

Αρχικά γίνεται εμβολιασμός δειγμάτων εδάφους διαφορετικής διαλυτότητας σε στέρεο θρεπτικό υλικό, και στη συνέχεια αυτά επωάζονται σε κατάλληλη θερμοκρασία και αφού έχουν σχηματιστεί μακροσκοπικές αποικίες, γίνεται η μέτρηση. Για την τεχνική ανάλυση χρησιμοποιείται ο όρος Colony Forming Units (CFUs) και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε όρους μικροοργανισμού ανά γραμμάριο χώματος ξηραμένου σε φούρνο, με την προϋπόθεση ότι μια αποικία προέρχεται από ένα οργανισμό. Ο μέσος όρος από τα τρία όμοια χρησιμοποιείται για παραπέρα υπολογισμούς. Επίσης, αν οι μικροοργανισμοί που επωάστηκαν και προέρχονται από δείγμα αέρα και όχι χώματος, τα αποτελέσματα εκφράζονται σε όρους μικροοργανισμού ανά κυβικό μέτρο αέρα. [8]

3.2 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

Ο φθορισμός είναι ένα είδος φωτοβολίας στην οποία το φως εκπεμφθίζεται από διεγερμένα μόρια για ένα μικρό χρονικό διάστημα, ακολουθώντας την απορρόφηση του φωτός, όπου η καθυστέρηση ανάμεσα στην απορρόφηση και στην εκπέμφθιση είναι περίπου 10^{-8} s. Ποικίλες κυτταρικές συνιστώσες παρουσιάζουν αυτοφθορισμό, ειδικά όταν διεγείρονται στο UV και στις μπλε περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, παρότι αυτό έχει περιορισμένη ισχύ σε σχέση με τη χρήση σύγχρονων εξωγενή φθορίζον ακροσωλήνιο και βαφική ύλη χρωμάτων μικροσκοπίου [1].

Πιθανά το πιο κοινό φθορόχρωμα που χρησιμοποιείται για το χρωματισμό των μικροοργανισμών του βιοαεροζόλ με σκοπό την καταμέτρηση είναι το πορτοκαλί, όμως αυτός ο χρωματισμός δεν είναι ειδικός για DNA και RNA. Επίσης χρησιμοποιείται πράσινο και κόκκινο ανάλογα με την λαμβανόμενη ποσότητα και άλλους παράγοντες. Επίσης χρησιμοποιούνται βρομίδιο του ethidium (χρωματισμός του DNA και RNA). Αυτά τα μόρια απορροφούν και εκπέμπουν φως σε ακριβή μήκη κύματος, ώστε να διεγερθούν και να ανιχνευθούν σε πολύπλοκες μείξεις μορίων. Είναι πιθανό να ανιχνευθούν 50 φθορίζον μόρια σε $1\mu\text{m}^2$ κυττάρου χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο φθορισμού [1].

Πολλές φθορίζον βαφές, έχουν εξελιχθεί με σκοπό την χρήση ως περιβάλλοντα όπου γίνονται πειράματα σε μικροοργανισμούς, μελετώντας τον μεταβολισμό των νατρίου, χλωρίου και καλίου σε διαλυμένα θηλαστικά κύτταρα στην καλλιέργεια, καθώς και στο ενδοκυτταρικό pH και στις αλλαγές στο δυναμικό των μεμβρανών. Ειδικευμένα συστήματα ανάλυσης εικόνας έχουν σχεδιαστεί με σκοπό να εκμεταλλευτούν αυτήν την τεχνολογία, όπως τα συστήματα δυναμικής τηλεοπτικής εικόνας MagiCal, συναλλασσόμενα στην αγορά από την Applied Imaging (Southshields, UK) [1].

Με την εφαρμογή των μονοκλωνοποιημένων αντισωμάτων, είναι πιθανή η συγκεκριμένη ανοσολογική ανίχνευση μικροβιακών ειδών και γενών. Αυτά τα αντισώματα είναι μαρκαρισμένα με φθοροχρώματα (FITC) ή είδος πορφυρής βαφής B και συνεπώς είναι ικανά να παρατηρηθούν στο φθορίζον μικροσκόπιο. Παρόλαυτα, χάρις στην υψηλή ακρίβεια της αντιγόνο-αντισωματικής αντίδρασης, η τεχνική αυτή δεν είναι προς το παρόν κατάλληλη για γενικές έρευνες αεροζόλ, καθώς πρώτα πρέπει προκαταβολικά να επιλεγθεί ποια αντιγόνα θα δοκιμαστούν [1]

Το μικροσκόπιο φθορισμού έχει όμοιες οπτικές διαδρομές με το κανονικό μικροσκόπιο ακτινοβολώντας πεδίου και είναι σχεδιασμένο για να αυξάνει την συλλογή φθορίζοντος φωτός και να μειώνει την συλλογή του διεγερμένου φωτός. Αν και τα συστήματα διάδοσης φθορισμού διατίθενται προς χρήση, τα προτιμώμενα συστήματα είναι τα συστήματα επιφωταψίας. Οι πηγές φωτός, είναι το ηλεκτρικό τόξο υδραργύρου, το ηλεκτρικό τόξο ξένου, αλογόνο λίθου χαλαζία και λαμπτήρας βολφραμίου. Η επιλογή του λαμπτήρα εξαρτάται από τον φασματικό ακροδέκτη της συσκευής και την απαιτούμενη σταθερότητα της πυκνότητας ροής της ακτινοβολίας. Με την επιφωταψία, μια χρωματισμένη δέσμη φωτός διαχωριστήρα ή ένας διχρωματικός καθρέπτης τοποθετείται πάνω στο αντικείμενο και το φως παρέχεται σε αυτό, μέσω φίλτρου διέγερσης το οποίο έχει ανεξάρτητο ευρύ άνω όριο μετάδοσης στο μήκος κύματος της περιοχής ενδιαφέροντος. Η δέσμη φωτός διαχωριστήρα ή ο διχρωματικός καθρέπτης, είναι σχεδιασμένα να αντανakλάνε το φως κάτω από τα επίπεδα του απομονωμένου μήκους κύματος προς το αντικείμενο, το οποίο λειτουργεί ως συμπυκνωτής επάνω στο δείγμα. Αυτό διεγείρει το φθορόχρωμα στο δείγμα και το μεταδιδόμενο φως από το δείγμα γυρίζει πίσω διαμέσω του αντικειμένου. Αυτό που είναι πάνω από το απομονωμένο μήκος κύματος της δέσμης φωτός διαχωριστήρα, δεν αντανakλάται αλλά περνάει διαμέσω του διαχωριστήρα στον προσοφθάλμιο φακό ή ανιχνευτή. Ένα φράζον φίλτρο τοποθετείται ανάμεσα στον προσοφθάλμιο φακό και στην δέσμη φωτός διαχωριστήρα. Το φίλτρο διέγερσης, η χρωματισμένη δέσμη φωτός διαχωριστήρα και το φράζον φίλτρο, συνήθως τοποθετούνται σε μια περιστρεφόμενη συσκευή συγκράτησης φίλτρου πάνω από το αντικείμενο, καθώς διαφορετικά φθοροχρώματα έχουν διαφορετική διέγερση και φάσμα μετάδοσης [1].

Συγκρινόμενη με το υπάρχον φως, η διάδοση της φθορίζον ακτινοβολίας θα έχει χάσει ενέργεια και το μήκος κύματος της θα είναι μεγαλύτερο από εκείνο του υπάρχοντος φωτός. Συνεπώς, μια ουσία φθορισμού μπορεί να διεγερθεί από το φως στην κοντινή αόρατη ακτίνα UV και να φανερωθεί στην ορατή ακτίνα [1].

Μια διαεργαστηριακή (τριών Σκανδιναβικών εργαστηρίων) σύγκριση των αποτελεσμάτων μέτρησης μικροοργανισμών με μικροσκόπιο φθορισμού, που έγινε για να αποτιμηθούν τα λάθη στα αποτελέσματα μετρήσεων των μικροοργανισμών βιοαεροζόλ, κατέληξε στα εξής: η κύρια πηγή λάθους ήταν η αναγνώριση των βακτηρίων, τα οποία είχαν σχετική απόκλιση της τάξης του 37%, αν και είχε υιοθετηθεί για την καταμέτρηση τους ένα κατώτερο όριο μεγέθους 0,75 μm . Για τον λόγο αυτόν κρίθηκε απαραίτητη η ύπαρξη και χρησιμοποίηση περισσοτέρων φθοροχρωμάτων για τα μικροσκόπια φθορισμού. Τα σπόρια μυκήτων αναγνωρίστηκαν με πολύ καλύτερη ακρίβεια (σχετική απόκλιση 9%) [7]

3.3 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), μια τεχνική που χρησιμοποιείται για την ενίσχυση της ποσότητας του επιλεγμένου DNA 10^6 φορές ή και περισσότερο, έφερε επανάσταση στις μεθοδολογίες της μοριακής βιολογίας. Από την στιγμή που ανακαλύφθηκε (1985), το PCR έγινε βασικό πρωτόκολλο σε πολλά εργαστήρια βιολογίας, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που σχετίζονται με την περιβαλλοντική μικροβιολογία. Η ικανότητα να ενισχύει μικρές ποσότητες DNA που μπορεί να είναι παρούσες στο περιβάλλον, κάνει την ανίχνευση πολύ ευαίσθητη. Για παράδειγμα, η ανίχνευση 100 κυττάρων του μικροβίου *Salmonella* σε 1 γραμμάριο χώματος είναι πολύ δύσκολο. Η ανίχνευση αυτή όμως μπορεί να γίνει δυνατή με τη χρήση PCR [3]

Η PCR είναι μια σχετικά απλή ενζυματική αντίδραση, η οποία χρησιμοποιεί ένα DNA ένζυμο πολυμεράσης για να αντιγράψει τη ακολουθία του επιλεγμένου DNA επανειλημμένα στην διάρκεια μιας σειράς από 25-30 κύκλους. Σε κάθε κύκλο της PCR η ποσότητα του επιλεγμένου DNA διπλασιάζεται, με αποτέλεσμα την εκθετική αύξηση της ποσότητας του DNA. Στην θεωρία, οι 25 κύκλοι συντελούν στην ενίσχυση κατά 2^{25} φορές, αλλά πρακτικά πετυχαίνετε περίπου αύξηση κατά 10^6 φορές στην ποσότητα της παρούσας επιλεγμένης ακολουθίας. Αυτό συμβαίνει επειδή η απόδοση της ενίσχυσης δεν είναι 100%. Το προϊόν PCR τυπικά οπτικοποιείται με το πήκτωμα αгарόζης ηλεκτροφόρησης και το μέγεθος εκτιμάται συγκρίνοντας το με πρότυπα DNA γνωστών μεγεθών [3].

Ένας τυπικός κύκλος ενός PCR έχει τρία βήματα. Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει την απονιτροποίηση του ds-DNA σε δύο μονούς κλώνους μοριακής αλυσίδας του στοχευόμενου ή μορίου γενετικού κώδικα DNA (ssDNA). Επιπρόσθετα στο αντιδρών μείγμα είναι δύο διαφορετικά μικρά μέρη ενός μονού-πλεγμένου DNA που ονομάζονται μόρια θεμελίωσης μορίων (ΜΘΜ), που έχουν επιλεχθεί προσεκτικά και έχουν συντεθεί για εκπόρευση. Σε ειδικές αντιδράσεις PCR, όπως την αυθαίρετη θεμελίωση μορίων PCR (AP-PCR), προστίθεται μόνο ένα μόριο θεμελίωσης μορίων. Τα μόρια θεμελίωσης μορίων είναι ολιγονουκλεοτίδια, τα οποία έχουν συμπληρωματικές ακολουθίες σε σύγκριση με του στοχευόμενου ssDNA μορίου γενετικού κώδικα, οπότε μπορούν να διασταυρωθούν ή να ισχυροποιηθούν ως προς αυτό το DNA, προσδιορίζοντας την περιοχή της ενίσχυσης. Το ένα μόριο θεμελίωσης μορίων περιγράφεται ως κινούμενο αντίθετα στο ρεύμα και το άλλο στην κατεύθυνση του ρεύματος. Αυτή η περιγραφή απλά προσδιορίζει τις περιοχές όπου τα ΜΘΜ ισχυροποιούνται στο ssDNA μορίου γενετικού κώδικα. Το δεύτερο βήμα του κύκλου της PCR είναι η ισχυροποίηση των ΜΘΜ, η οποία συμφωνεί με την διασταύρωση των ΜΘΜ με σκοπό την κατάλληλη στοχευόμενη ακολουθία. Το τρίτο και τελευταίο βήμα είναι η επέκταση. Στο βήμα αυτό, ένα DNA πολυμερές συνθέτει ένα κλώνο μοριακής αλυσίδας συμπληρωματικό ως προς το πρωταρχικό ssDNA, προσθέτοντας τις κατάλληλες βάσεις στα ΜΘΜ τα οποία έχουν ήδη διασταυρωθεί προς τα στοχευόμενα. Το τελικό αποτέλεσμα μετά το πέρας ενός κύκλου, είναι δύο διπλά πλεγμένα μόρια DNA, πανομοιότυπα με τα πρωταρχικά διπλά πλεγμένα μόρια DNA. Η επανάληψη αυτής της διαδικασίας αποφέρει την ενίσχυση του DNA και την εκθετική αύξηση του αριθμού αντιγράφων του παρόντος πρωταρχικού DNA [3].

Η θερμοκρασία είναι ένα κρίσιμο μέρος της διαδικασίας PCR. Η απονιτροποίηση της στοχευόμενης ακολουθίας ή μορίου γενετικού κώδικα λαμβάνει χώρα σε μια θερμοκρασία μεγαλύτερη από την θερμοκρασία λωσίματος του DNA. Οι περισσότεροι αντιδραστήρες PCR είναι κανονισμένοι να λειτουργούν στους 94 °C για 1,5 λεπτό,

επειδή είναι εγγυημένη η ολοκληρωτική απονιτροποίηση όλων των μορίων του DNA. Η ισχυροποίηση των μορίων θεμελίωσης μορίων λαμβάνει χώρα σε μικρότερη θερμοκρασία, τυπικά μεταξύ 50 και 70 °C για ένα λεπτό, ανάλογα με τη βασική σύνθεση του ΜΟΜ. Είναι πιθανό για ένα ΜΟΜ να ισχυροποιηθεί σε μια ακολουθία DNA, η οποία είναι όμοια με την σωστή ακολουθία που περιέχει όμως λίγες λανθασμένες βάσεις. Αυτό συντελεί στην λανθασμένη ενίσχυση του DNA, που χαρακτηρίζεται ανακριβής ενίσχυση και δίνει ψευδοθετικό αποτέλεσμα. Όσο πιο μεγάλη είναι η θερμοκρασία της διαδικασίας ενίσχυσης όσο ακριβής είναι και η έκταση της ανακριβής ενίσχυση μειώνεται. Παρόλαυτα, όσο η θερμοκρασία της διαδικασίας ενίσχυσης αυξάνει, η ευαισθησία της PCR μειώνεται [3].

3.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η παρακολούθηση και έλεγχος της έκθεσης σε γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς (GMMs) στους χώρους εργασίας, απαιτεί απλές, ακριβείς, ευαίσθητες και γρήγορες διαδικασίες ανίχνευσης, ικανές για αεροβιολογική δειγματοληψία. Οι πιο κοινές στην χρήση μέθοδοι για την μικροβιακή ανίχνευση στα βιοαεροζόλ, έχουν βασιστεί στην καλλιέργεια κυττάρων, την ATP-εκπομπή φωτός από ζώντα όντα και το μικροσκόπιο επιφθορισμού. Παρόλαυτα είναι αποδεδειγμένο ότι ο ψεκασμός και η δειγματοληψία αποτελούν σφοδρές συνθήκες για πολλά μη καλλιεργήσιμα βακτηριακά κύτταρα, ενώ και η ATP-εκπομπή φωτός από ζώντα όντα και το μικροσκόπιο επιφθορισμού έχουν περιορισμένη ευαισθησία και δεν είναι ακριβή όσον αφορά τους μικροοργανισμούς. Η ικανότητα και των τριών τεχνικών για την συγκεκριμενοποιημένη ανίχνευση GMMs ή την διάκριση ανάμεσα σε οργανισμούς με γενικό ανασυνδυασμό και των μη γενετικά τροποποιημένων δημιουργών τους, είναι περιορισμένη. Αντίθετα, οι μέθοδοι για την ανίχνευση των μικροοργανισμών που βασίζονται στο DNA, είναι πολύ ακριβείς, σχετικά γρήγορες, αρκετά ευαίσθητες και μπορούν να ανιχνεύσουν μικροοργανισμούς καλλιεργήσιμους και μη [4].

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης χρησιμοποιείται στην περιβαλλοντική μικροβιολογία για την συγκεκριμενοποιημένη ανίχνευση γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών και παθογόνων βακτηριδίων, αλλά οι αναφορές για χρήση της PCR για την αποτίμηση των βιοαεροζόλ είναι σχετικά λίγες. Ο Alvarez et al.(1994,1995) ανέφερε την επιτευξιμότητα του PCR για δειγματοληψίες περιβαλλοντικού αέρα και την τονισμένη ευαισθησία στην ανίχνευση σε σχέση με τις μεθόδους που είναι βασισμένες στην καλλιέργεια. Αυτό το συμπέρασμα υποστηρίχθηκε από τον Mukoda et al.(1994) αφού σύγκρινε την PCR, χρησιμοποιώντας το EnviroAmpTM Legionella kit, τις μετρήσεις τριβλίων (Colony Forming Units) και την απευθείας μέτρηση με πορτοκαλί φθορόχρωμα (AODC), για την ανίχνευση του αερομεταφερόμενου *Legionella pneumophila*. Παρατηρήθηκε λοιπόν, ότι οι τεχνικές μετρήσεις βιώσιμων τριβλίων υποτίμησαν τις συγκεντρώσεις του αερομεταφερόμενου *Legionella*, συγκριτικά με τις άλλες δύο αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης, ότι ενώ το AODC είναι κατάλληλο για μη καλλιεργήσιμα κύτταρα σε αεροζόλ που έχουν βρεθεί σε σφοδρές για αυτά συνθήκες, είναι εφαρμόσιμο χωρίς περιορισμούς για την παρακολούθηση και έλεγχο του περιβάλλοντος και της υγείας, λόγω της μη συγκεκριμένης φύσης του. Συμπέραναν ότι ενώ είχαν επιδείξει την επιτευξιμότητα του PCR για την ανάλυση του βιοαεροζόλ, ήταν απαραίτητες περαιτέρω μελέτες, ειδικά στην εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης του PCR για βιοαεροζόλ [4].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4 ΧΩΡΟΙ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαχείριση των απορριμμάτων είναι ένα κομμάτι της προστασίας του περιβάλλοντος, υπηρετεί την δημόσια υγιεινή και συμβάλλει στην εξοικονόμηση πρώτων υλών και ενέργειας. Σκοπός της διαχείρισεως των απορριμμάτων είναι:

A) η συλλογή, εναπόθεση, επεξεργασία ή καταστροφή των απορριμμάτων κατά τον ευνοϊκότερο για τον περιβάλλον τρόπο

B) η ελαχιστοποίηση της παραγωγής τους

Γ) η ανάκτηση, επαναφορά και η επαναχρησιμοποίηση διαφόρων υλικών.[9]

Τα απορρίμματα δεν μπορούν να εξαφανισθούν, αλλά μετατρέπονται με φυσικές ή με τεχνικές μεθόδους σε άλλη στέρεα, υγρή ή αέρια μορφή. Αυτή η τελική τους μορφή πρέπει να είναι τέτοια, ώστε να μην προκαλούν ρύπανση στον αέρα, τα νερά ή το έδαφος. Η σύσταση και η ποσότητα των απορριμμάτων εξαρτάται από την βιομηχανική ανάπτυξη και το βιοτικό επίπεδο στην περιοχή από όπου προέρχονται. Έτσι, σε διαφορετικές περιοχές υπάρχουν διαφορετικά προβλήματα και αντιμετωπίζονται με διαφορετικές μεθόδους διαθέσεως των απορριμμάτων, όπως η υγειονομική ταφή, θερμική επεξεργασία με καύση ή πυρόλυση και ο διαχωρισμός των απορριμμάτων με σκοπό την ανάκτηση χρησίμων υλικών, καθώς επίσης και η παραλλαγές αυτών των μεθόδων [9].

4.2 ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΤΑΦΗ

Η ελεγχόμενη εναπόθεση των απορριμμάτων είναι μια από τις κυριότερες μεθόδους διάθεσης τους και η πλέον διαδεδομένη. Η υγειονομική ταφή δεν πρέπει να αντιμετωπίζεται μόνο σαν τεχνολογικά σχετικά εύκολη, απλή και οικονομικά συμφέρουσα "βολική" λύση, αλλά σαν μια ρεαλιστική προσέγγιση, μια αναπόφευκτη επέμβαση στο οικοσύστημα, που στοχεύει στο να αντιμετωπίσει θετικά μέχρι τον βαθμό που καθορίζουν οι τεχνοοικονομικές δυνατότητες το πρόβλημα της διάθεσης απορριμμάτων [9].

Ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στις οικολογικές επιπτώσεις και τα υγειονομικά προβλήματα που μπορούν να δημιουργηθούν από τις ανεξέλεγκτες αποθέσεις και στον τρόπο αντιμετώπισης τους(εξυγίανση) [9].

Η ελεγχόμενη εναπόθεση ή Υγειονομική ταφή είναι η μέθοδος κατά την οποία τα απορρίμματα διαστρώνονται, συμπίεζονται και καλύπτονται συστηματικά με κατάλληλο υλικό (ως επί το πλείστον χώμα) (εικόνα 13). Η εξασφάλιση υλικού επικάλυψης αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την σωστή λειτουργία του χώρου της υγειονομικής ταφής, αλλά και την μετέπειτα επανένταξή του στην περιοχή. Το φθηνότερο υλικό επικάλυψης είναι το χώμα ή τα μπάζα από τις οικοδομικές εργασίες [9].



Εικόνα 13: Επιχωμάτωση στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου

Στο τελικό στρώμα των απορριμμάτων δεν πρέπει να υπάρχουν ογκώδη αντικείμενα ή υλικά αρνητικά σε οποιαδήποτε καλλιέργεια. Η ιδανικότερη περίπτωση είναι το τελικό στρώμα να αποτελείται από ανάμεικτα απορρίμματα με χώμα. Η τελική επικάλυψη με χώμα πρέπει να είναι έτσι κατασκευασμένη ώστε να μπορούν να αναπτυχθούν φυτά ή δέντρα. Το πάχος της τελικής επίστρωσης θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1,5-2 μέτρα [9].

Η περίφραξη σαν μέτρο ασφάλειας του χώρου, κρίνεται απαραίτητη για να εμποδιστεί η είσοδος ανθρώπων, που δεν εργάζονται στην εγκατάσταση, ζώων, η διασπορά χαρτιών και γενικά ελαφρών αντικειμένων και για την οριοθέτηση της ιδιοκτησίας του χώρου. Για οικονομικούς λόγους συνηθίζεται η περίφραξη με συρματοπλέγμα ύψους 3-6 μέτρων με τους ανάλογους σιδερένιους πάσσαλους ανάλογα με την μορφολογία της περιοχής. Το άνοιγμα των βρόγχων του συρματοπλέγματος για να εμποδίζει την διέλευση τρωκτικών, πρέπει να είναι μικρότερο των 50mm (εικόνα 14) [9].



Εικόνα 14: Περίφραξη στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου

Τέλος, σήμερα είναι γνωστές τρεις τεχνικές της ελεγχόμενης διάθεσης. Κανονική συμπίεση των απορριμμάτων, συμπίεση σε μπάλες και εναπόθεση χωρίς συμπίεση και κάλυψη τους [9].

4.3 ΑΝΕΞΕΛΕΚΤΗ ΑΠΟΡΡΙΨΗ-ΜΗ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗ ΔΙΑΘΕΣΗ

Ανεξέλεγκτη απόρριψη ονομάζουμε κάθε απόρριψη των απορριμμάτων που γίνεται χωρίς κανένα μέτρο προστασίας του περιβάλλοντος και της υγείας του ανθρώπου. Στην ίδια κατηγορία ανήκουν και οι ελεγχόμενες εναποθέσεις των απορριμμάτων σε κατάλληλους ή μη κατάλληλους χώρους, χωρίς να έχουν την απαραίτητη υποδομή και λειτουργία. Η ανεξέλεγκτη απόρριψη δεν είναι σπάνιο φαινόμενο στην χώρα μας.[20] Χαρακτηριστικό παράδειγμα ανεξέλεγκτης χωματερής μέχρι προσφάτως ήταν η χαράδρα του Κουρουπητού (νομός Χανίων), εξαιτίας της οποίας στις 7 Απριλίου 1992 το Ευρωπαϊκό Δικαστήριο καταδίκασε την Ελλάδα, συγκεκριμένα τον Δήμο Χανίων, και επέβαλε χρηματικό πρόστιμο 15375 ΕΥΡΟ για κάθε μέρα χρήσης της [9].

Τρεις χαρακτηριστικές περιπτώσεις ανεξέλεγκτης απόρριψης είναι:

1. ανεξέλεγκτη απόρριψη σε δάσος
2. ανεξέλεγκτη απόρριψη κοντά σε ποτάμια ή ρυάκια
3. ανεξέλεγκτη απόρριψη σε χαράδρες

Οι αρνητικές επιπτώσεις αυτών των είναι η μόλυνση υπογείων ή επιφανειακών νερών, κίνδυνοι μόλυνσης ανθρώπων και ζώων, ανάπτυξη μολυσματικών εντόμων, διατάραξη ισορροπίας, κακοσμίες και γενικά υποβάθμιση του τοπίου, ζημιές στα δέντρα και πιθανός κίνδυνος πυρκαγιάς [9].

Τα μέτρα προστασίας που μπορούν να ληφθούν για να αποφευχθούν όλα τα παραπάνω είναι καθάρισμα, ανάκτηση και επανένταξη του χώρου [9].

4.4 ΤΑ ΑΕΡΙΑ ΤΩΝ ΧΩΡΩΝ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

Στόχος της λειτουργίας ενός χώρου διάθεσης απορριμμάτων, είναι η κατά το δυνατόν μείωση των αρνητικών επιπτώσεων στο περιβάλλον. Στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος των επιστημόνων που ασχολούνται με την διαχείριση των απορριμμάτων, είναι η διαδικασία μετατροπής των οργανικών ουσιών των απορριμμάτων [9].

Τα αέρια των χώρων διάθεσης είναι ένας παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη τόσο στον σχεδιασμό, όσο και στην λειτουργία και μετέπειτα αξιοποίηση των χώρων διάθεσης απορριμμάτων. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να μειωθεί και να ελεγχθεί ένας μεγάλος αριθμός αρνητικών επιπτώσεων, τόσο στους κατοίκους όσο και στο φυσικό περιβάλλον της γύρω περιοχής [9].

4.4.1 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΕΡΙΩΝ-ΠΟΣΟΤΗΤΕΣ-ΣΥΝΘΕΣΗ

Η διαδικασία αποδομήσεως των απορριμμάτων γίνεται κάτω από αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως η σύνθεση των απορριμμάτων και η τεχνική με την οποία εναποτίθενται τα απορρίμματα [9].

Η μικροβιολογική διεργασία, η εισροή του αέρα στα απορρίμματα και ο αέρας στους πορώδεις χώρους των απορριμμάτων, είναι τα κύρια αίτια δημιουργίας αερίων [9].

Κατά την αερόβιο διαδικασία της αποδομήσεως των οργανικών ουσιών, παράγεται CO₂, νερό και ενέργεια. Υπολογίζεται, ότι η παραγωγή του CO₂ κατά την αποδόμηση των οργανικών ενώσεων του άνθρακα ανέρχεται σε 20,8 Vol %. Από την αποδόμηση των αμινοξέων εκτός του CO₂ παράγεται και NH₃ [9].

Η αποδόμηση των οργανικών ουσιών σε αναερόβιες συνθήκες, γίνεται σε δύο στάδια:

1. την όξινη ζύμωση (μετατροπή σε οξέα των κυτταρινών, λιπών και πρωτεϊνών μέσω ενζυματικών υδρολύσεων) και
2. τη ζύμωση μεθανίου (παραγωγή μεθανίου)

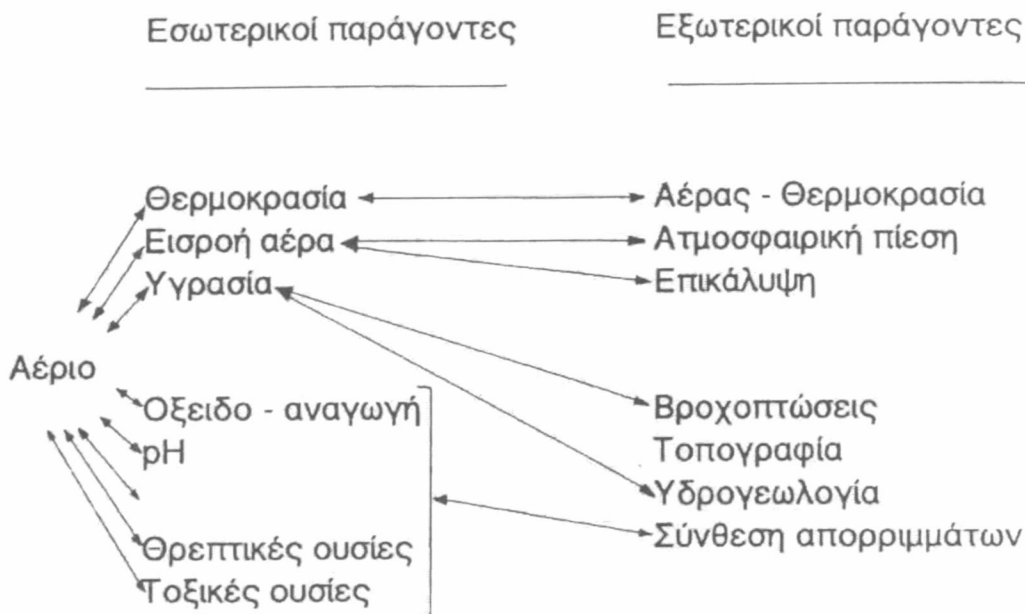
Εκτός από το μεθάνιο παράγονται και άλλα αέρια[9].

Πίνακας 3: Σύσταση των αερίων των χώρων διάθεσης απορριμμάτων

Συστατικά	Χημικός Τύπος	Περιεκτικότητα	
Μεθάνιο	CH ₄	0-85	Vol %
Διοξείδιο του άνθρακα	CO ₂	0-88	Vol %
Μονοξείδιο του άνθρακα	CO	2.8	Vol %
Αμμωνία	NH ₃	0-0.35	ppm
Υδρογόνο	H ₂	0-3.6	Vol %
Οξυγόνο	O ₂	0-31.6	Vol %
Αζωτο	N ₂	0-82.5	Vol %
Υδρόθειο	H ₂ S	0-70	ppm
Ακεταλδεϋδη	CH ₃ CHO	150	ppm
Αιθυλομερκαπτάνη	C ₂ H ₅ SH	0-120	ppm
Ακετόνη	C ₂ H ₆ CO	100	ppm
Βενζόλιο	C ₆ H ₆	0.80	Vol %
Αργό	Ar	0.01	Vol %
Επτάνιο	C ₇ H ₁₆	0.45	Vol %
Νονάνιο	C ₆ H ₅ CH ₃	0.09	Vol %

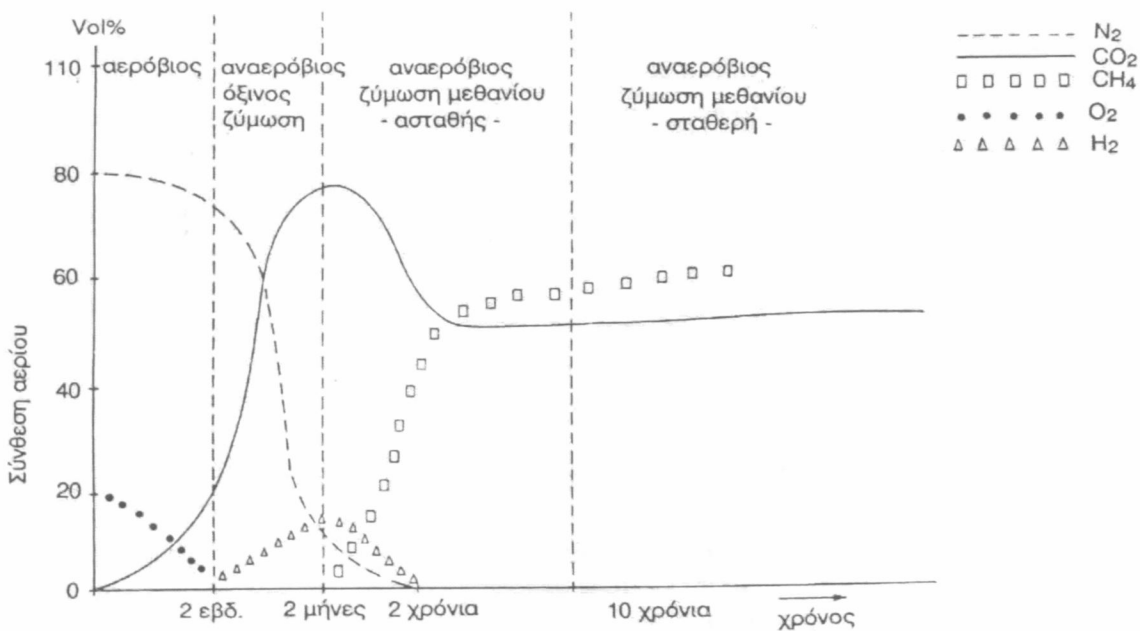
Εκτός από τα παραπάνω συστατικά, υπάρχουν σε ίχνη διοξίνες και φουρνάνες μικρότερες του 0,01ng/m³ και PCB's τα οποία κυμαίνονται από 40-3200 ng/m³, με μέση τιμή 101 μg/ m³ [9].

Οι ποσότητες των παραγόμενων αερίων εξαρτώνται μόνο από τις μικροβιολογικές διεργασίες και περιορίζονται από την σύνθεση των απορριμμάτων και μια σειρά άλλων παραγόντων.



Εικόνα 4. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή αερίων στους χώρους διάθεσης απορριμμάτων

Μετά την εναπόθεση των απορριμμάτων, αρχίζει η παραγωγή του CO_2 , που σταδιακά μειώνεται με μια σύγχρονη αύξηση της παραγωγής του μεθανίου. Μείωση παρατηρείται και στο οξυγόνο που βρίσκεται στον πορώδη χώρο των απορριμμάτων, όσο και στο άζωτο. Κατά την διάρκεια των πρώτων μηνών, υπάρχουν μεγάλες διακυμάνσεις της παραγωγής αερίων, τόσο στην ποσότητα όσο και στην ποιότητα. Στην παρακάτω εικόνα βλέπουμε τη σύνθεση του αερίου κατά την διάρκεια αποδόμησης των απορριμμάτων [9].



Εικόνα 15: Σύσταση αερίων στους χώρους διαθέσεως απορριμμάτων

Το μεγαλύτερο μέρος του αερίου αποτελείται από μεθάνιο και CO₂. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των αερίων παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα

Πίνακας 4: Φυσικοχημικές ιδιότητες βιοαερίου

Συστατικά	Χημικός Τύπος	Πυκνότητα Kg/m ³	Διαλυτότης στο νερό g/l	Γενικές ιδιότητες
Μεθάνιο	CH ₄	0.717	0,0645	Άοσμο, άχρωμο, μη δηλητηριώδες
Διοξείδιο του άνθρακα	CO ₂	1.977	1,688	Άοσμο, άχρωμο, μη δηλητηριώδες σε μικρή περιεκτικότητα
Μονοξείδιο του άνθρακα	CO	1.250	0,028	Άοσμο, άχρωμο, δηλητηριώδες, καίγεται
Υδρογόνο	H ₂	0.090	0,001	Άχρωμο, μη δηλητηριώδες, καίγεται
Οξυγόνο	O ₂	1.429	0,043	Άοσμο, άχρωμο, μη δηλητηριώδες
Αζωτο	N ₂	1.250	0,019	Άοσμο, άχρωμο, μη δηλητηριώδες, δεν καίγεται
Υδρόθειο	H ₂ S	1.539	3,846	Άχρωμο, δηλητηριώδες
Αέρας		1.29		Άοσμο, άχρωμο, μη δηλητηριώδες, δεν καίγεται

4.4.2 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΗΜΙΟΥΡΓΟΥΝ ΤΑ ΑΕΡΙΑ

Τα αέρια που παράγονται από την αναερόβια διάσπαση των απορριμμάτων είναι εύφλεκτα και η καύση τους παρουσία αέρα είναι γρήγορη. Η εξάπλωση των αερίων είναι άμεση, λόγω του ειδικού βάρους του μίγματος που δεν διαφέρει από το ειδικό βάρος του αέρα (το μεθάνιο είναι ελαφρότερο του αέρα σε αντίθεση με το ειδικό βάρος του CO₂). Τα αέρια με τις μικρές ποσότητες δύσσομων ουσιών που περιέχουν, είναι αρκετά ενοχλητικά, τόσο στο προσωπικό που εργάζεται, όσο και στους κατοίκους της γύρω περιοχής. Επενεργούν αποπνικτικά, γιατί εκτοπίζουν οξυγόνο και η ποσότητα των 8 Vol% CO₂ είναι δυνατόν να επιφέρει τον θάνατο στον άνθρωπο. Αποτελούν το κύριο αίτιο αυτανάφλεξης των απορριμμάτων και το εμπόδιο ανάπτυξης των φυτών και των δέντρων. Αυτό συμβαίνει, όχι επειδή είναι δηλητηριώδη για τα φυτά αλλά επειδή εκτοπίζουν το οξυγόνο του εδάφους που βρίσκεται στις ρίζες φυτών και δέντρων.

4.5 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΑΠΟ ΤΑ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΑ

Πριν αναφερθούν τα προβλήματα υγιεινής και τους κινδύνους που προκαλούνται από τα απορρίμματα, θα πρέπει πρώτα να ληφθεί υπόψη το γεγονός, ότι τα οικιακά απορρίμματα αποτελούν ετερογενή συλλογή και περιέχουν κάθε στερεό υλικό που βρίσκεται στη φύση ή που έχει δημιουργηθεί από τον άνθρωπο. Νόμοι και κανονισμοί μπορεί να απαγορεύουν ορισμένα υλικά στα απορρίμματα, αλλά αυτές οι διατάξεις, όπως είναι φυσικό, δεν εγγυώνται ότι περιστασιακά τα υλικά αυτά δεν θα βρεθούν στα απορρίμματα [9].

Τις επιδράσεις των απορριμμάτων μπορούμε να τις διακρίνουμε σε βιογενείς (αίτιο οι παθογόνοι μικροοργανισμοί) και μη βιογενείς (όπως από στραγγίσματα που περιέχουν μέσα βαρέα μέταλλα, οι αυταναφλέξεις, η αντισταθμητική θέα) [9].

Το πρόβλημα της σχέσης μεταξύ Υγιεινής και στερεών απορριμμάτων εξετάζεται:

- A) από την σκοπιά της Δημόσιας Υγιεινής
- B) από τη σκοπιά του περιβάλλοντος, όπου η επίδραση τους είναι κυρίως χημικής φύσης και
- Γ) από την σκοπιά της επιδημιολογίας, όπου τα απορρίμματα δεν είναι συνήθως προβληματικά, εφόσον πρόκειται για οικιακά και μόνο [9].

4.5.1 ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΑΠΟ ΤΗ ΣΚΟΠΙΑ ΤΗΣ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

Μια οργανική ύλη που είναι στείρα μικροβίων, όπως το μαγειρεμένο κρέας, σε μικρό χρονικό διάστημα, σε θερμό περιβάλλον μετατρέπεται σε δυνητικά θανατηφόρα πηγή τοξικών ή παθογόνων οργανισμών. Οι οργανισμοί δεν είναι απαραίτητο να βρίσκονται εξαρχής στο υλικό, διότι το περιβάλλον είναι σε μεγάλο βαθμό εφοδιασμένο με σπόρια βακτηρίων, μυκήτων, ιών και άλλων μικροβίων, καθώς και με έντομα και σκώληκες, για τα οποία αποτελεί το κατάλληλο υπόστρωμα πάνω στο οποίο θα πολλαπλασιαστούν [9].

Για την δημόσια υγιεινή, ουσιαστικό παράγοντα αποτελεί η αντοχή των διαφόρων μικροοργανισμών, όταν αυτοί βρεθούν στα απορρίμματα. Αρκετοί από αυτούς μπορούν να επιζήσουν εκεί για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για παράδειγμα, οι σαλμονέλες τύπου βρέθηκαν να αντέχουν 4-115 μέρες, ενώ οι σαλμονέλες παρατύφου 24-136 μέρες και οι σαλμονέλες εντερίτιδας μέχρι 150 μέρες. Επίσης για την αμοιβάδα, βρέθηκε ότι διατηρείται στα στέρεα απορρίμματα 40 -48 μέρες [9].

Η μετάδοση των μικροοργανισμών που βρίσκονται στα απορρίμματα γίνεται με δύο βασικούς τρόπους. Ο πρώτος τρόπος είναι με το βιοαεροζόλ, όπως και έχει αναλυθεί στα προηγούμενα κεφάλαια. Ο δεύτερος τρόπος είναι μέσω ζώων, όπως μύγες, κουνούπια και ποντικούς. Στον πίνακα 5 αναφέρονται μερικές μεταδιδόμενες ασθένειες από αυτά [9].

Πίνακας 5: Μεταδιδόμενες ασθένειες

Από μύγες	Από κουνούπια και σκνίπες	Από ποντίκια και άλλα ζώα
Τυφοειδής πυρετός	Δάγκειος Πυρετός	Εχينوκοκκίαση
Μικροβιακή δυσεντερία	Εγκεφαλίτις	Αιμορραγική σηψαιμία
Αμοιβαδογενής δυσεντερία	Ελονοσία	Ιστοπλάσμωση
Διάρροιες	Τουλαρεμία	Λεμφοκυτταρική μηνιγγίτις
Ασιατική χολέρα	Λεμφοκυτταρική χοριομηνιγγίτις	Πανώλη
Μολύνσεις από ελμίνθες	Άλλες ιώσεις από τον ιό AR.BOP	Ρικετσιώσεις, ιώσεις από αρουαίο
Μυΐαση	Λεϊσμανίαση	Ρικετσιώσεις

Λειψμανίαση
Τουλαρεμία
Καταρροϊκή επιπεφυκίτης
Τράχωμα
Τριήμερος πυρετός

Σαλμονελώσεις
Τριχίνωση
Ικτεραιμογική Σπειροχαΐτης
Υπόστροφος πυρετός
Εξάνθημα από ρικέτσια,
Ενδημικός εξανθ. τύφος

Για την αντιμετώπιση του προβλήματος της ανάπτυξης εντόμων, μυγών και τρωκτικών στους χώρους αποθήκευσης και διάθεσης των απορριμμάτων, υπάρχουν ορισμένες εναλλακτικές λύσεις επεξεργασίας τους [9].

Μια λύση είναι η συμπίεση. Η σχετικά υψηλή συμπίεση (αυτή που προκαλεί στην πυκνότητα μείωση στα 540 Kg/m³) μειώνει τις περισσότερες σχισμές και κενά όπου τα έντομα μπορούν να αφήσουν τα αυγά τους, μειώνει την απαιτούμενη για διάθεση επιφάνεια και απομακρύνει στραγγίσματα, αφήνοντας την επιφάνεια στεγνή ή χωρίς την απαραίτητη υγρασία ή υψηλή οργανική συγκέντρωση, που είναι αναγκαία για την ανάπτυξη, όπως για παράδειγμα της λάρβας της μύγας [9].

Μια δεύτερη προσέγγιση, περισσότερο επιθυμητή, είναι να καλύπτονται τα απορρίμματα το πολύ σε δύο μέρες μετά την απόρριψή τους, έτσι ώστε π.χ η λάρβα της μύγας να μην έχει τη δυνατότητα να αναπτυχθεί σε τέλειο έντομο (απαιτούμενος χρόνος 2-3 μέρες) [9].

Μια τρίτη προσέγγιση, αφορά στον τεμαχισμό των απορριμμάτων, που βέβαια αυξάνει την επιφάνεια και την πυκνότητα τους [9].

Η ενέργεια που παράγεται στην διάρκεια βιολογικών διεργασιών και λόγω καιρικών φαινομένων, ανεβάζει την θερμοκρασία της μάζας των απορριμμάτων. Η άνοδος αυτή μπορεί να ξεπεράσει τους 50 °C, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν και την αρχική θερμοκρασία της μάζας [9].

Το γεγονός αυτό έχει μεγάλη υγειονομική σημασία, γιατί τα περισσότερα κοινά παθογόνα και παράσιτα, δεν επιζούν σε τέτοιες θερμοκρασίες. Αναλυτικά φαίνεται στον παρακάτω πίνακα

Πίνακας 6: Προκαλούμενες ασθένειες από παθογόνους μικροοργανισμούς και παράσιτα και τα όρια επιβίωσης σε σχέση με την θερμοκρασία

Είδος παθογόνου ή παράσιτου	Προκαλούμενες ασθένειες	Όρια επιβίωσης σε σχέση με την θερμοκρασία
Η σαλμονέλα του τύφου	Προκαλεί τυφοειδή πυρετό	Δεν αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 60 °C.στην θερμοκρασία αυτήν επιζεί για 20 min
Η σαλμονέλα	Προκαλεί γαστρεντερίτιδα	Καταστρέφεται σε μια ώρα στους 55 °C και σε 15-20 min στους 60 °C
Η σαλμονέλα	Προκαλεί δυσεντερία	Καταστρέφεται σε μια ώρα στους 55°C

Η ιστολυτική αμοιβάδα (κύστης)	Προκαλεί αμοιβαδογενή δυσεντερία	Καταστρέφεται σε 5 min στους 45 °C και σε λίγα sec στους 55°C. Σημείο θερμικού θανάτου 68 °C
Η Ένοπλη ταινία	Προκαλεί εντερικές λοιμώξεις	Καταστρέφεται σε λιγότερο από μια ώρα στους 35 °C και σε 5 min στους 71 °C
Ο Νεκάτορ ο Αμερικάνος	Προκαλεί την αγκυλοστομίαση	Καταστρέφεται σε 50 min στους 45 °C
Η Σπειροειδής Τριχινέλλα (προνύμφη)	Προκαλεί τριχινίαση	Επιζεί μια ώρα στους 50 °C. Καταστρέφεται γρήγορα στους 55 °C και στιγμιαία στους 60 °C. Σημείο θερμικού θανάτου: 62-72 °C
Η Εκτρωτική ή χοίρειος Βρουκέλλα	Προκαλεί μελιταίο πυρετό	Καταστρέφεται σε μια ώρα στους 55 °C και σε 3 min στους 63-68 °C
Το Μυκητοβακτηρίδιο του Koch	Προκαλεί φυματίωση	Καταστρέφεται σε 15-20 min στους 66 °C
Το Κορυνοβακτηρίδιο	Προκαλεί διφθερίτιδα	Καταστρέφεται σε 45 min στους 55 °C
Ο πυογεννής Στρεπτόκοκκος	Προκαλεί σηψαιμία	Καταστρέφεται σε 10 min στους 54 °C
Τα αυγά της Ασκαρίδας	Προκαλεί εσωτερικές λοιμώξεις	Καταστρέφεται σε λιγότερο από μια ώρα στους 55 °C

4.5.2 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΣΚΟΠΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Η επίδραση των απορριμμάτων από αυτή την σκοπιά, είναι κυρίως χημική και αφορά το σχηματισμό στραγγισμάτων, κινδύνους από αυταναφλέξεις των απορριμμάτων, παραγωγή βιοαερίου κτλ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΙΟΑΕΡΟΖΩΛ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΙΟΑΕΡΟΖΩΛ

5.1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα πλαίσια αυτής της εργασίας, συλλέχθηκαν συνολικά 74 δείγματα βιοαεροζώλ, από δύο χώρους διάθεσης απορριμμάτων (ΧΥΤΑ Ν.Ρεθύμνου, Κουρουπητός), προκειμένου να αναλυθούν και να προσδιοριστεί η περιεκτικότητά τους σε βακτήρια και μύκητες. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε σε τρεις διαφορετικές χρονικές περιόδους, τον Μάρτιο, τον Απρίλιο και τον Μάιο.

Οι πρώτες δύο δειγματοληψίες έγιναν στον χώρο υγειονομικής ταφής απορριμμάτων του νομού Ρεθύμνου, τον Μάρτιο και Απρίλιο αντίστοιχα. Ο ΧΥΤΑ Ρεθύμνου άρχισε να λειτουργεί πριν από 10 περίπου χρόνια και αναμένεται να λειτουργήσει για περίπου άλλα 5 χρόνια, αν και σχεδιάστηκε για να δέχεται τα απορρίμματα του νομού Ρεθύμνου για 30 χρόνια. Τοπογραφικά, βρίσκεται στην περιοχή Αρκαδίου, 20 χιλιόμετρα Βορειοανατολικά της πόλης του Ρεθύμνου και σε υψόμετρο 300 m. Η έκταση του είναι περίπου 60.000 m². Περιμετρικά της έκτασης του ΧΥΤΑ υπάρχει περίφραξη, γίνεται ελεγχόμενη διάθεση των απορριμμάτων από τα απορριμματοφόρα και ανά τακτά χρονικά διαστήματα γίνεται επιχωμάτωση των απορριμμάτων. Συνεπώς, τηρούνται οι προϋποθέσεις για την σωστή λειτουργία του ΧΥΤΑ, αν και αναμένεται να λειτουργήσει τα μισά χρόνια από ότι είχε σχεδιαστεί.



Εικόνα 16: ΧΥΤΑ Ρεθύμνου

Η τρίτη δειγματοληψία έγινε στον Κουρουπητό. Στις 7 Απριλίου του 1992, το Ευρωπαϊκό Δικαστήριο καταδίκασε την Ελλάδα και συγκεκριμένα τον Δήμο Χανίων για την αντικανονική απόθεση των απορριμμάτων στην χαράδρα του Κουρουπητού. Στην χαράδρα αυτή, που βρίσκεται στην περιοχή του Ακρωτηρίου, γινόταν ουσιαστικά ρίψη των απορριμμάτων χωρίς καμία πρόβλεψη, ούτε για την παραγωγή μεθανίου ή την επεξεργασία των διασταλάζοντων υγρών που κατέληγαν στην θάλασσα. Με βάση την καταδικαστική απόφαση (κωδικός υπόθεσης C-45/91) που στηριζόταν στη παραβίαση του άρθρου 228 της Συνθήκης της Ευρωπαϊκής Ένωσης, αυτή η δραστηριότητα έθετε σε κίνδυνο την υγεία των πολιτών, καταστρέφοντας ταυτόχρονα το φυσικό περιβάλλον. Πριν μερικούς μήνες (2001), βγήκε η τελική απόφαση του δικαστηρίου (μετά το τέλος όλων των ενστάσεων, προσφυγών και ανταλλαγής επιστολών) που διέταξε το κλείσιμο του Κουρουπητού και καταβολή προστίμου, ύψους 38.152.000 ΕΥΡΟ.



Εικόνα 17: Χωμάτερη Κουρουπητού

5.1.2 ΤΡΟΠΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ, ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα πλαστικά τριβλία με το άγαρ, στο χρονικό διάστημα μεταξύ της παραγωγής τους και πριν την χρήση τους, παρέμειναν σε ψυγείο (3 °C). Σε ψυγείο (Frigothermo, Polar, Italy) χωρητικότητας 30 lt και θερμοκρασίας 5 °C παρέμειναν επίσης κατά την μεταφορά τους από και προς το σημείο δειγματοληψίας. Κατά την τοποθέτηση του τριβλίου στο όργανο δειγματοληψίας, το καπάκι και οι τρύπες του οργάνου, καθώς και το καπάκι και το κάτω μέρος του τριβλίου, καθαρίζονταν με αιθανόλη με σκοπό την απολύμανση τους. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για όλα τα δείγματα. Η καταμέτρηση των αναπτυσσόμενων αποικιών, μετά τον επωασμό τους, στους 30 °C στον επωαστήρα Heraeus Instruments, καταμετρήθηκαν στον μετρητή αποικιών Quebec Darkfield Colony Cointer της Leica.

5.1.3 ΣΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

Σε κάθε δειγματοληψία, οι θέσεις δειγματοληψίας επιλέχθηκαν έτσι ώστε η φορά του ανέμου να είναι κάθετη προς το όργανο. Συνεπώς, η συλλογή βιοαεροζόλ του οργάνου, αντιπροσωπεύει τους αερομεταφερόμενους μικροοργανισμούς.

Οι θέσεις δειγματοληψίας ήταν οι εξής

Α. σε απόσταση 1 m και στο επίπεδο του εδάφους, για να υπολογιστεί η συγκέντρωση των μικροοργανισμών μέσα στην χωματερή



Εικόνα 18: Δειγματοληψία σε απόσταση 1 m από την χωματερή, στο έδαφος στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου

Β. σε απόσταση 1 m και σε ύψος 1,5 m, για να υπολογιστεί η συγκέντρωση των μικροοργανισμών μέσα στην χωματερή και συγκεκριμένα στο ύψος ανθρώπου, για να κριθεί η επίδραση των μικροοργανισμών λόγω εισπνοής στους εργαζόμενους.

Γ. σε απόσταση 10 m και στο επίπεδο του εδάφους, για να υπολογιστεί η συγκέντρωση των μικροοργανισμών και να κριθεί η επίδραση τους στους οδηγούς των απορριμματοφόρων.



Εικόνα 19: Δειγματοληψία σε απόσταση 10 m από την χωματερη, στο έδαφος στην χαράδρα του Κουρουπητού

Δ. σε απόσταση 100 m και στο επίπεδο του εδάφους, για να υπολογιστεί η συγκέντρωση των μικροοργανισμών και να κριθεί η επίδραση τους σε ζώα ή τόπους βοσκής ζώων, που πιθανά βρίσκονται στην απόσταση αυτή (όρια περίφραξης χωματερής)



Εικόνα 20: Δειγματοληψία σε απόσταση 100 m από την χωματερή, στο έδαφος στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου

Ε. σε απόσταση 1m και στο επίπεδο του εδάφους (παράλληλα προς το έδαφος)

Στην διάρκεια παρουσίασης αποτελεσμάτων και διαγραμμάτων κατά την συνέχεια της εργασίας, οι θέσεις δειγματοληψίας θα αναφέρονται με το γράμμα που αντιστοιχήθηκαν παραπάνω.

➤ ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Την Δευτέρα 4 Μαρτίου 2002 έγινε δειγματοληψία στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου.

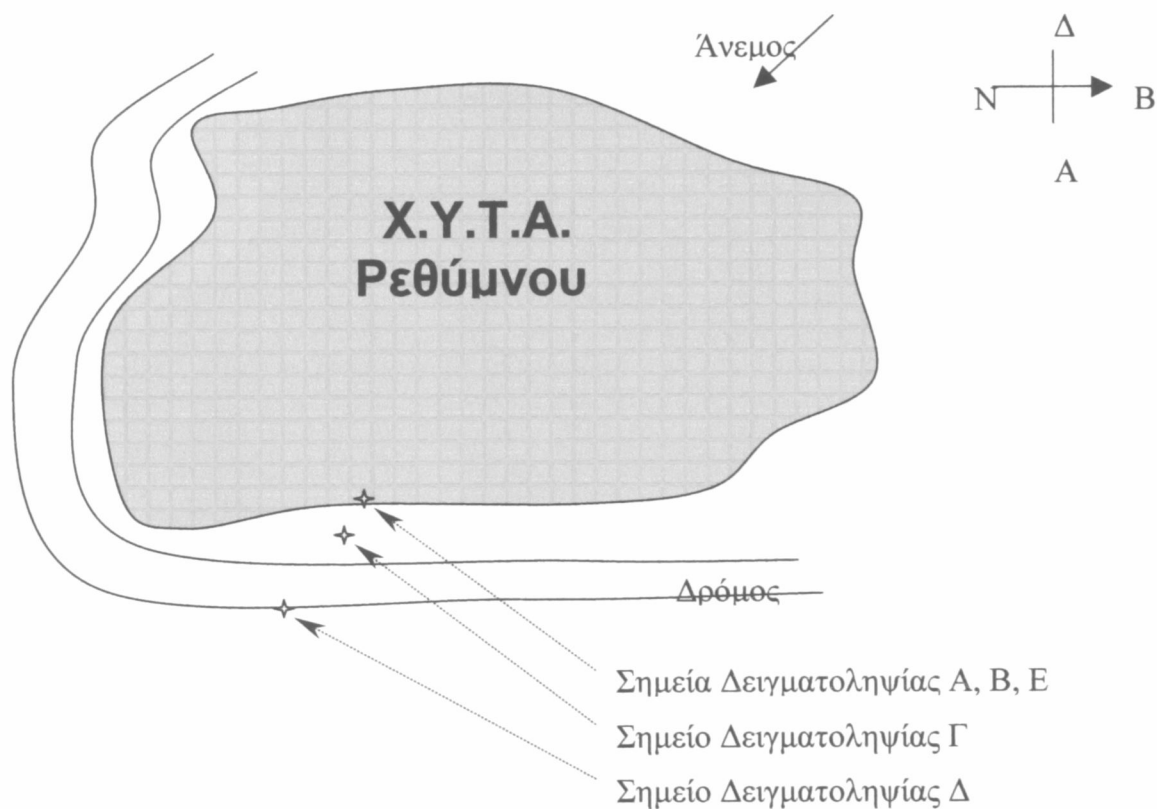
Συνθήκες δειγματοληψίας

άνεμος : βορειοδυτικός
ένταση ανέμου : μέτριος
θερμοκρασία : 25 °C (ηλιοφάνεια)

Την εβδομάδα πριν την δειγματοληψία οι καιρικές συνθήκες που επικρατούσαν ήταν ηλιοφάνεια οπότε υπήρχε μικρή υγρασία

Τα τριβλία τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα και παρατηρήθηκαν την Πέμπτη 7 Μαρτίου 2002.

Τα σημεία και οι συνθήκες δειγματοληψίας φαίνονται αναλυτικά στο σκαρίφημα που ακολουθεί:



➤ ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Την Παρασκευή 5 Απριλίου 2002_έγινε δειγματοληψία στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου.

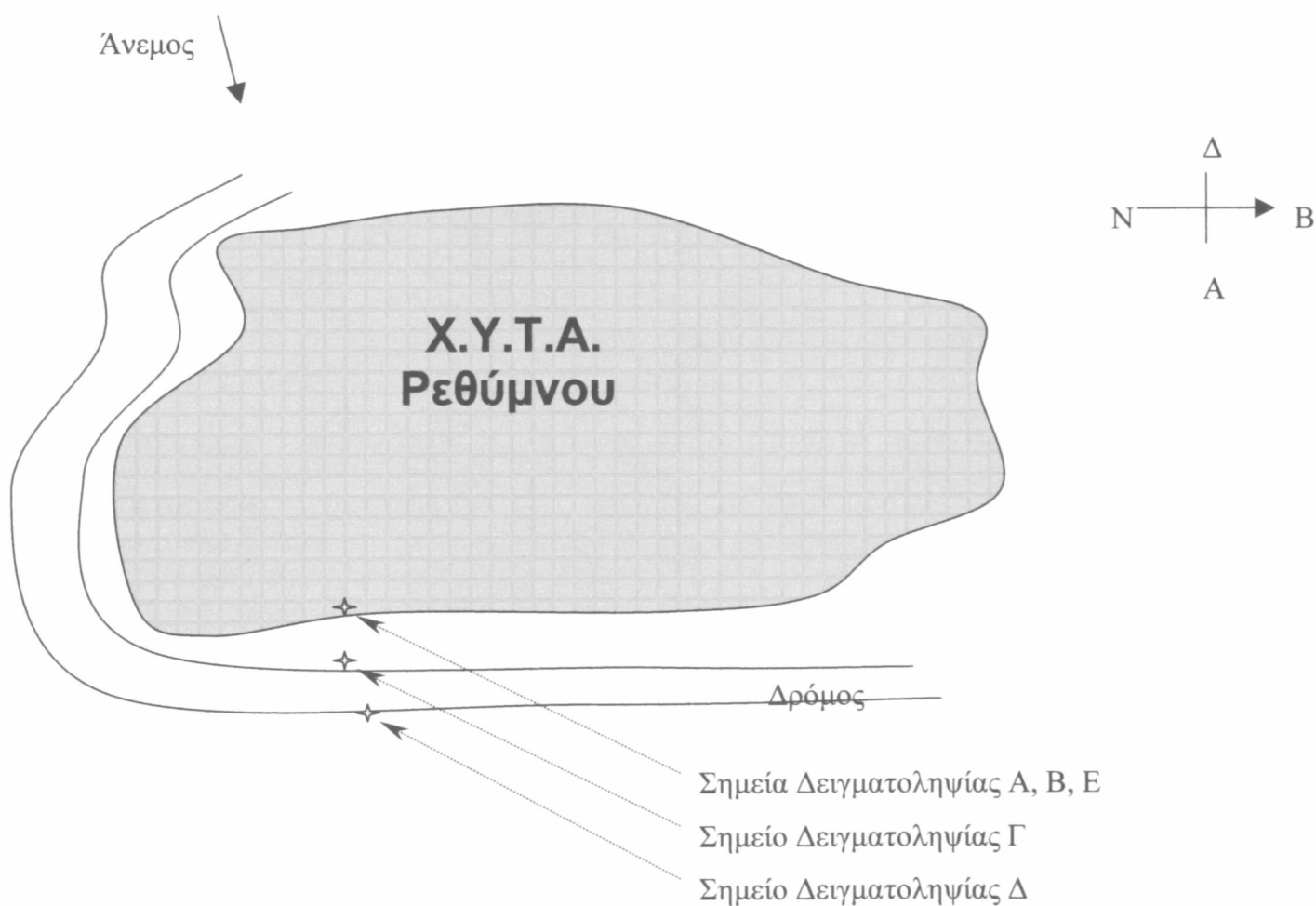
Συνθήκες δειγματοληψίας

άνεμος : νοτιοδυτικός
ένταση ανέμου : ισχυρός
θερμοκρασία : 20 °C (συννεφιά)

Την εβδομάδα πριν την δειγματοληψία οι καιρικές συνθήκες που επικρατούσαν ήταν βροχή οπότε υπήρχε αυξημένη υγρασία

Τα τριβλία τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα και παρατηρήθηκαν την Πέμπτη 11 Απριλίου 2002

Τα σημεία και οι συνθήκες δειγματοληψίας φαίνονται αναλυτικά στο σκαρίφημα που ακολουθεί:



➤ ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Την Τρίτη 28 Μαΐου 2002 έγινε δειγματοληψία στην παράνομη χωματερή του Κουρουπητού.

Συνθήκες δειγματοληψίας

άνεμος : βορειοανατολικός
ένταση ανέμου : μικρή (σχεδόν άπνοια)
θερμοκρασία : 30 °C (ηλιοφάνεια)

Την εβδομάδα πριν την δειγματοληψία οι καιρικές συνθήκες που επικρατούσαν ήταν ηλιοφάνεια οπότε υπήρχε μικρή υγρασία

Τα τριβλία τοποθετήθηκαν στον επωαστήρα και παρατηρήθηκαν την Κυριακή 2 Ιουνίου 2002

5.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.2.1 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για την δειγματοληψία αέρα με σκοπό την μέτρηση βιοαεροζόλ, στα πλαίσια της εργασίας αυτής, είναι ο δειγματολήπτης αέρα MAS 100 της MERCK. Το MAS 100 είναι ένα όργανο τύπου πάκτωσης, που βασίζεται στις αρχές που περιγράφηκαν από τον Andersen. Το τελικό ρεύμα αέρα, που περιέχει τα σωματίδια, κατευθύνεται στην επιφάνεια του άγαρ ενός καθορισμένου δίσκου καλλιέργειας μικροοργανισμών (διαμέτρου 90mm). Μετά τον κύκλο συλλογής, οι δίσκοι αυτοί επωάζονται, καταμετρούνται οι αποικίες και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε μονάδες σχηματισμού αποικιών ανά κυβικό μέτρο αέρα (cfu/m³) [1].

Για την δειγματοληψία χρησιμοποιήθηκε όργανο που λειτουργεί με βάση την μέθοδο Andersen για πολλούς λόγους. Όπως και όλα τα όργανα που λειτουργούν με την ίδια μέθοδο, μετράει μόνο τα βιώσιμα σωματίδια, αυτά που μπορούν να αναπτυχθούν υπό τις συνθήκες περιβάλλοντος που χρησιμοποιήθηκαν. Μετράει μη τροποποιημένα σωματίδια, όπως δηλαδή δημιουργήθηκαν φυσικά. Συλλέγει ογκομετρικά τα σωματίδια, επιτρέποντας την ποσοτική αποτίμηση της ποιότητας του μικροβιακού αέρα και έχει δειχθεί να είναι πιο αποδοτική από δειγματολήπτες άλλου είδους. Επίσης, διαχωρίζει τα σωματίδια με βάση το μέγεθός τους, επιτρέποντας έτσι την εκτίμηση του δυναμικού εισπνοής τους. Οι δειγματολήπτες Andersen είναι αξιόπιστοι, με μεγάλη διάρκεια ζωής και η τεχνική τους είναι σχετικά απλή. Το μεγάλο τους μειονέκτημα, είναι η έλλειψη ευαισθησίας στην μέτρηση σωματιδίων μικρής συγκέντρωσης [10].

Το MAS 100, λειτουργεί με μια υψηλής απόδοσης συσκευή αναρρόφησης, με συνεχή παρακολούθηση της ροής του αέρα. Αυτό το σύστημα μετράει την εισερχόμενη ροή αέρα και ρυθμίζει τον ρυθμό αναρρόφησης σε 100 lt/min ή ταχύτητα αναρρόφησης 11 m/sec (<20 m/sec που δίνει ως μέγιστη η International Stadar για την ταχύτητα πρόσκρουσης). Η ταχύτητα αυτή δεν μπορεί να ξεπεραστεί, όπως επίσης και ο χρόνος δειγματοληψίας που είναι 10 min, οπότε αυτό μεταφράζεται απευθείας ότι ο μέγιστος

δειγματοληπτούμενος όγκος σε μια δειγματοληψία είναι 1000 lt. Τέλος, η οριζόντια ταχύτητα είναι 0,45 m/sec [1].

Μερικά από τα χαρακτηριστικά οργάνου είναι:

- Ύψος: 26 cm
- Διάμετρος: 11 cm
- Βάρος: 2,2 Kg
- Σύνθεση: αλουμίνιο
- Ρύθμιση ροής αέρα: θερμό σύρμα ανεμόμετρου, αριθμητικός έλεγχος [1].

Πλεονεκτήματα του MAS 100

- Χρησιμοποιεί όλους τους διαθέσιμους στο εμπόριο δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών 90 mm
- Ενοποιεί ανεμόπτερο
- Εξισορροπούνται αυτόματα οι διάφοροι όγκοι άγαρ στους δίσκους καλλιέργειας μικροοργανισμών
- Μετράει την πραγματική ροή αέρα
- Ενδείκνυται η πραγματική ημερομηνία και ώρα πριν την κάθε χρήση
- Είναι εύκολο στον χειρισμό και στην χρήση
- Ελέγχεται εύκολα η αξιοπιστία του
- Ρυθμίζεται η κατεύθυνση συλλογής [1].

Πίνακας 7: Ταξινόμηση σύμφωνα με τα Federal Stadard 209E (United States), USP

Τάξη	Max αριθμός σωματιδίων/m ³ ≥ 0.5	Max αριθμός σωματιδίων/m ³ ≥ 5
100	3530	-
10000	353000	2470
100000	3530000	24700

Πίνακας 8: Μικροβιακά όρια σύμφωνα με την USP

Τάξη	Cfu/m ³ αέρα	Επιφάνεια Cfu/24 cm ²	Γάντια προσωπικού Cfu/24 cm ²	Μάσκες προσωπικού Cfu/24 cm ²
100	<3	3	<1	<1
10000	<20	5 10 (πάτωμα)	20	10
100000	<100	-	-	-

5.2.2 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Η δημιουργία άγαρ για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που συλλέχθηκαν από το όργανο, πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο και ήταν σχετικά απλή, αλλά απαιτούσε πολύ συγκέντρωση [1].

Τα αφυδρογονωμένα μέσα ήταν αποθηκευμένα σε ξηρό, σκοτεινό μέρος, σε θερμοκρασία περίπου 15-25 °C. Τα κουτιά μετά από κάθε χρήση, ήταν σφραγισμένα και πολύ καλά κλεισμένα ώστε να αποφευχθεί η είσοδος υγρασίας. Η απορρόφηση νερού οδηγεί στην αλλαγή του pH, αλλά αυτό μπορεί να διορθωθεί [1].

Τα αφυδρογονωμένα μέσα προετοιμάστηκαν με καθαρό, φρέσκο, αποσταγμένο νερό. Η αναλογία κάθε μέσου προς το νερό ήταν συγκεκριμένη και εξαρτιόταν από τον όγκο άγαρ που θέλαμε να φτιάξουμε, καθώς και από το είδος του άγαρ. Τα δοχεία ήταν αρκετά μεγάλα ώστε το μείγμα να μπορεί να αναταραχθεί, με σκοπό την ομογενοποίηση του [1].

Η αποστείρωση των δοχείων με το άγαρ, γινόταν σε έναν κλίβανο. Τα καπάκια των δοχείων στρέφονταν λίγο για την εκτόνωση της πίεσης στο δοχείο και καλύπτονταν με ένα αλουμινόχαρτο. Παρέμεναν στον κλίβανο ωσότου αυτός αναπτύξει θερμοκρασία 121°C (30 min) και παρέμεναν σε αυτήν την θερμοκρασία για 15 min, όπου και αποστειρωνόντουσαν [1].

Στην συνέχεια, τοποθετούνταν σε υδατόλουτρο (Memert) όπου διατηρούσε την θερμοκρασία τους στους 45-55 °C, για να αποφευχθεί ο σχηματισμός συμπυκνωμένου νερού στα καπάκια των δίσκων καλλιέργειας. Σε κάθε δίσκο τοποθετούνταν περίπου 20 ml άγαρ [1].

Μετά την δημιουργίας τους, όπως και έχει προαναφερθεί, οι δίσκοι παρέμεναν σε ψυγείο (όχι κάτω από τους 0 °C γιατί θα καταστρεφόταν η δομή τους), ωσότου χρησιμοποιηθούν για δειγματοληψία.

5.2.2.1 ΕΙΔΗ ΑΓΑΡ

Τα άγαρ που χρησιμοποιήθηκαν στην διάρκεια των δειγματοληψιών για την περάτωση της εργασίας, ήταν τρία.

1. Το ENDO άγαρ, που χρησιμοποιήθηκε εκτενώς και στις τρεις δειγματοληψίες.
2. Το MacCONKEY άγαρ, που χρησιμοποιήθηκε ενδεικτικά μόνο στην δεύτερη δειγματοληψία.

Και τα δύο αυτά άγαρ ευνοούν την ανάπτυξη βακτηριδίων.

3. Το ROSE BENGAL STREPTOMYCIN άγαρ, που χρησιμοποιήθηκε μόνο στην δεύτερη δειγματοληψία και ευνοεί την ανάπτυξη μυκήτων.

Το **ENDO** άγαρ είναι ένα μέσο ανάπτυξης, για την ανίχνευση και την απομόνωση των coliform βακτηριδίων, σε διάφορα υλικά σύμφωνα με τον ENDO (1904). Η ομάδα coliform, περιλαμβάνει όλα τα αερόβια και δυναμικά αναερόβια, gram-αρνητικά, ραβδόμορφα βακτήρια, που σε ορισμένη καλλιέργεια στους 35 °C και σε 48 ώρες ζυμώνουν λακτόζη με την παραγωγή αερίου. Στην κατηγορία των coliform βακτηριδίων συμπεριλαμβάνονται τα *E.coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* και *Klebsiella* [1].

Ο τρόπος δράσης του είναι ο εξής: το θειώδες νάτριο, αναστέλλει την ανάπτυξη των gram-θετικών βακτηριδίων. Τα coliform βακτήρια μεταβολίζουν την λακτόζη με την παραγωγή αλδεύης και οξέως [1].

Το pH είναι ρυθμισμένο στην τιμή $7,4 \pm 0,2$ στους $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η αναλογία άγαρ στο νερό είναι 39 g/l . Η τυπική σύνθεση του σε g/l είναι: πεπτόνη 10, όξινο φωσφορικό κάλιο 2.5, λακτόζη 10, θειώδες νάτριο 0.4, άνυδρος 3.3, pararosanilin 0.3, άγαρ-άγαρ 12.5

Πίνακας 9: Έλεγχος ποιότητας

Είδος	Ανάπτυξη	Αλλαγή χρώματος σε κόκκινο	Μεταλλική λάμψη
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	καλή / πολύ καλή	+	+
<i>Escherichia coli</i> 194	καλή / πολύ καλή	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	καλή / πολύ καλή	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	καλή / πολύ καλή	+ (ελάχιστα)	±
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	καλή / πολύ καλή	+	καθόλου / ελάχιστα
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	καλή / πολύ καλή	+	-
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	καλή / πολύ καλή	+	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	καλή / πολύ καλή	+	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 11700	καθόλου / μέτρια	+	-

Με την έκθεση στο οξυγόνο, το άγαρ των δίσκων γίνεται κόκκινο λόγω της οξειδωσης του άλατος.

Πίνακας 10: Ταυτοποίηση μικροοργανισμών μέσω του χρώματος τους

Εμφάνιση των αποικιών	Μικροοργανισμοί
Κόκκινη	Λακτόζη-θετική
Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	<i>Escherichia coli</i>
Κοκκινωπή	Αερογενή εντεροβακτήρια
Ημισφαιρική, βλενώδης	<i>Klebsiella</i> και άλλα
Άχρωμη, καθαρή	Λακτόζη-αρνητική

Το **MacCONKEY** άγαρ είναι ένα μέσο ανάπτυξης, για την ανίχνευση και την απομόνωση των *Salmonella*, *Shigella* και coliform βακτήρια, από ούρα, τρόφιμα, απόβλητα κτλ, σύμφωνα με τον MacCONKEY (1950) [1].

Ο τρόπος δράσης του είναι ο εξής: το άλας χολικού οξέως εμποδίζει την ανάπτυξη της Gram-θετικής μικροβιακής χλωρίδας. Η λακτόζη και ο κόκκινος δείκτης ουδέτερου pH, χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της χημικής αποικοδόμησης της λακτόζης [1].

Το pH είναι ρυθμισμένο στην τιμή $7,1 \pm 0,2$ στους $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η αναλογία άγαρ στο νερό είναι 50 g/l . Η τυπική σύνθεση του σε g/l είναι: πεπτόνη από καζεΐνη 17.0, πεπτόνη από κρέας 3.0, άλας χολικού οξέως 1.5, χλωριούχο νάτριο 5.0, λακτόζη 10.0, ουδέτερο κόκκινο 0.03, crystal violet 0.0001, άγαρ-άγαρ 13.5 [1].

Πίνακας 11: Έλεγχος ποιότητας

Είδος	Εμβόλιο (cfu/ml)	Ρυθμός ανάκτησης	Χρώμα αποικίας	Χρώμα μέσου	κατακάθιση
Escherichia coli ATCC 8739	10^3 - 10^5	≥ 30	Κόκκινη	κόκκινο	+
Salmonella typhimurium ATCC 14028	10^3 - 10^5	≥ 5	Άχρωμη	κιτρινωπό	+
Salmonella Dublin ATCC 15480	10^3 - 10^5	≥ 30	Άχρωμη	κιτρινωπό	-
Shigella sonnei ATCC 11060	10^3 - 10^5	≥ 30	Άχρωμη	κιτρινωπό	-
Proteus mirabilis ATCC 29906	10^3 - 10^5	≥ 30	άχρωμη	κιτρινωπό	-
Bacillus cereus ATCC 11778	$>10^5$	≤ 0.01			-
Staphylococcus aureus ATCC 6538-P	$>10^5$	≤ 0.01			
Enterococcus hirae ATCC 8043		≤ 0.01			

Πίνακας 12: Ταυτοποίηση μικροοργανισμών μέσω του χρώματος τους

Εμφάνιση των αποικιών	Μικροοργανισμοί
Άχρωμη, ημιδιαφανής Μεγάλη, κόκκινη, περιβαλλόμενη από θαμπή ζώνη Μεγάλη, ροζ, βλεννώδης Πολύ μικρή, αδιαφανής, απομονωμένες αποικίες	Salmonella, Shigella και άλλα Escherichia coli Enterobacter, Klebsiella Enterococci, Staphylococci και άλλα

Το **ROSE BENGAL STREPTOMYCIN** άγαρ, περιέχει στρεπτομυκίνη η οποία είναι ένα αντιβιοτικό που επιτρέπει την σύνθεση πρωτεϊνών και προκαλεί την παρερμηνεία του mRNA στους προκαρυωτικούς μικροοργανισμούς (STRYER 1988). Το ROSE BENGAL είναι ένα φαινολικό συστατικό που όχι μόνο έχει ιδιότητες βαφής, αλλά επίσης επιτρέπει την βακτηριακή ανάπτυξη και την υπερβολική εξάπλωση συγκεκριμένων ειδών μυκήτων. Η στρεπτομυκίνη είναι ασταθής σε σχέση με την θερμότητα

Η τυπική σύνθεση του σε g/l είναι: γλυκόζη 10.0, πεπτόνη 5.0, όξινο φωσφορικό κάλιο 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, Rose Bengal 0.033, άγαρ 15, στρεπτομυκίνη 30 mg/l [1].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα προηγούμενα κεφάλαια περιγράφηκε αναλυτικά ο τρόπος συλλογής των δειγμάτων βιοαεροζόλ (όργανο, μέσα ανάπτυξης των μικροοργανισμών), καθώς και ο τρόπος ανάλυσης των δειγμάτων (Colony Forming Units). Στο κεφάλαιο αυτό θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα για κάθε δειγματοληψία ξεχωριστά. Τα αποτελέσματα περιέχουν ποσοτική εκτίμηση και ταυτοποίηση των βακτηρίων αλλά και των μυκήτων. Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την εκτίμηση αυτή.

6.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

➤ ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Στην δειγματοληψία αυτή λήφθηκαν συνολικά 20 δείγματα βιοαεροζόλ διαφόρων όγκων, σε 5 διαφορετικά σημεία, χρησιμοποιώντας ENDO άγαρ.

Πίνακας 13: Αποτελέσματα πρώτης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)

ΕΙΔΟΣ		ENDO						
ΑΓΑΡ								
ΘΕΣΗ								
A	Όγκοι (lt)	Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	50	100	200	250	
				1	1	0	0	
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	1	1	3	0	
				3	9	0	3	
				1	1	1	2	
				0	0	0	0	
B	Όγκοι (lt)	Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	50	100	150	200	250
				0	8	7	1	5
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια	Κοκκινωπή	3	0	1	3	0
				0	0	1	1	0

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

		<i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	3	1
				0	0	0	0	0
Γ	Όγκοι (lt)			100	350	500	500	750
		Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	2	7	3	1
				2	1	38	32	27
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	6	7	6	8	2
				0	4	12	9	9
				0	0	0	0	0
Δ	Όγκοι (lt)			200	500	750	1000	
		Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	1	0	0	0	
				1	5	1	12	
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	1	3	8	2	
				3	1	0	4	
				0	0	0	0	
Ε	Όγκοι (lt)			50	100			
		Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	0			
				0	0			
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0			
				0	1			
				0	0			

➤ ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Στην δειγματοληψία αυτή λήφθηκαν συνολικά 35 δείγματα βιοαεροζόλ διαφόρων όγκων, σε 5 διαφορετικά σημεία, χρησιμοποιώντας ENDO, MacCONKEY και ROSE BENGAL STREPTOMYCIN άγαρ. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα της πρώτης δειγματοληψίας, στην δεύτερη δειγματοληψία οι όγκοι δειγματοληψίας ήταν εκείνοι στους

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

οποίους αναμενόταν να είχαμε τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα από άποψη ικανοποιητικού αριθμού ευδιάκριτων αποικιών ανά τριβλίο.

Πίνακας 14: Αποτελέσματα δεύτερης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)

ΕΙΔΟΣ ΑΓΑΡ	ENDO							
ΘΕΣΗ								
Α	Όγκοι (lt)	Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη Κοκκινωπή	300	300	300	300	300
				4	5	2	6	0
				9	9	13	5	14
				10	10	9	10	7
				8	8	12	6	6
Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Ημισφαιρική, βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0	0	
Β	Όγκοι (lt)	Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη Κοκκινωπή	300	300	300	300	
				3	2	3	1	
				6	3	7	5	
				3	5	3	8	
				6	8	5	2	
Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Ημισφαιρική, βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0		
Γ	Όγκοι (lt)	Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη Κοκκινωπή	500	500	500	500	
				3	1	2	2	
				5	2	2	2	
				3	3	1	0	
				0	3	2	1	
Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Ημισφαιρική, βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0		
Δ	Όγκοι (lt)	Λακτόζη-θετική	Κόκκινη	1000	1000	1000	1000	1000
				2	7	1	3	4

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

Ε	Είδη βακτηρίων	<i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη Κοκκινωπή	12	6	4	9	5	
		Αερογενή εντεροβακτήρια		7	4	5	5	3	
		<i>Klebsiella</i> και άλλα	Ημισφαιρική, βλεννώδης	7	9	4	6	8	
		Λακτόζη-αρνητική	Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0	0	
	Όγκοι (lt)			300	300				
		Λακτόζη-θετική	Κόκκινη	0	0				
		<i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	5	0				
		Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια	Κοκκινωπή	2	2			
			<i>Klebsiella</i> και άλλα	Ημισφαιρική, βλεννώδης	5	1			
			Λακτόζη-αρνητική	Άχρωμη, καθαρή	0	0			

ΕΙΔΟΣ ΑΓΑΡ	MacCONKEY				
ΘΕΣΗ					
Α	Όγκοι (lt)			300	
		Salmonella, Shigella και άλλα	Άχρωμη, ημιδιαφανής	1	
		<i>Escherichia coli</i>	Μεγάλη, κόκκινη, περιβαλλόμενη από θαμπή ζώνη	14	
	Είδη βακτηρίων	Enterobacter, Klebsiella	Μεγάλη, ροζ, βλεννώδης	20	
		Enterococci, Staphylococci και άλλα	Πολύ μικρή, αδιαφανής, απομονωμένες αποικίες	1	
Β	Όγκοι (lt)			300	
		Salmonella, Shigella και άλλα	Άχρωμη, ημιδιαφανής	0	
		<i>Escherichia coli</i>	Μεγάλη, κόκκινη, περιβαλλόμενη από θαμπή ζώνη	1	
	Είδη				

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΙ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ**

	βακτηρίων	Enterobacter, Klebsiella Enterococci, Staphylococci και άλλα	Μεγάλη, ροζ, βλεννώδης Πολύ μικρή, αδιαφανής, απομονωμένες αποικίες	4 0
Γ	Όγκοι (lt)	Salmonella, Shigella και άλλα Escherichia coli	Άχρωμη, ημιδιαφανής	500 0
			Μεγάλη, κόκκινη, περιβαλλόμενη από θαμπή ζώνη	1
			Μεγάλη, ροζ, βλεννώδης Πολύ μικρή, αδιαφανής, απομονωμένες αποικίες	1 0
Δ	Όγκοι (lt)	Salmonella, Shigella και άλλα Escherichia coli	Άχρωμη, ημιδιαφανής	1000 1
			Μεγάλη, κόκκινη, περιβαλλόμενη από θαμπή ζώνη	0
			Μεγάλη, ροζ, βλεννώδης Πολύ μικρή, αδιαφανής, απομονωμένες αποικίες	2 0
Ε	Όγκοι (lt)	Salmonella, Shigella και άλλα Escherichia coli	Άχρωμη, ημιδιαφανής	300 0
			Μεγάλη, κόκκινη, περιβαλλόμενη από θαμπή ζώνη	0
			Μεγάλη, ροζ, βλεννώδης Πολύ μικρή, αδιαφανής, απομονωμένες αποικίες	7 0

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

ΕΙΔΟΣ ΑΓΑΡ	ROSE BENGAL STREPTOMYCIN							
ΘΕΣΗ								
Δ	Όγκοι (lt)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
	Συνολικοί μύκητες	54	42	41	55	40	47	37
	Όγκοι (lt)	1000	1000					
	Συνολικοί μύκητες	49	48					

➤ ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Στην δειγματοληψία αυτή λήφθηκαν συνολικά 18 δείγματα βιοαεροζόλ διαφόρων όγκων, σε 5 διαφορετικά σημεία, χρησιμοποιώντας ENDO άγαρ.

Πίνακας 15: Αποτελέσματα τρίτης δειγματοληψίας(Κουρουπητός)

ΕΙΔΟΣ ΑΓΑΡ	ENDO							
ΘΕΣΗ								
A	Όγκοι (lt)			300	300	300	300	300
		Λακτόζη-θετική	Κόκκινη	0	1	1	0	0
	Είδη βακτηρίων	<i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	0	1	0	0
		Αερογενή εντεροβακτήρια	Κοκκινωπή	0	0	0	0	0
		<i>Klebsiella</i> και άλλα	Ημισφαιρική , βλεννώδης	1	0	0	0	0
		Λακτόζη-αρνητική	Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0	0
ΘΕΣΗ								
B	Όγκοι (lt)			300	300			
		Λακτόζη-θετική	Κόκκινη	0	0			
	Είδη βακτηρίων	<i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	0			
		Αερογενή εντεροβακτήρια	Κοκκινωπή	0	0			

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ**

<i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0
		0	0

ΘΕΣΗ

Γ	Όγκοι (lt)			500	500	500	500	500
		Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	0	0	1	0
				0	0	0	0	0
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0	0
				0	1	1	0	0
				0	0	0	0	0

ΘΕΣΗ

Δ	Όγκοι (lt)			1000	1000	1000	1000
		Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	0	0	0
				0	0	0	0
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0	0	0
				0	0	0	0
				0	0	0	0

ΘΕΣΗ

Ε	Όγκοι (lt)			300	300
		Λακτόζη-θετική <i>Escherichia coli</i>	Κόκκινη Κόκκινη με μόνιμη μεταλλική λάμψη	0	0
				1	0
	Είδη βακτηρίων	Αερογενή εντεροβακτήρια <i>Klebsiella</i> και άλλα Λακτόζη- αρνητική	Κοκκινωπή Ημισφαιρική , βλεννώδης Άχρωμη, καθαρή	0	0
				0	0
				0	0

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί, ότι η ταυτοποίηση ή αναγνώριση των μυκήτων δεν μπορεί να γίνει με μακροσκοπική μέθοδο (CFUs). Για τον λόγο αυτό καταμετρήθηκε

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

και παρουσιάζεται ο συνολικός αριθμός αποικιών. Για να είναι όμως πιο εμπειριστατωμένη η μελέτη, σε συνεργασία με το Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Οικολογίας και Ταξινόμησης, και με την χρήση φθορίζον μικροσκοπίου επιτεύχθηκε η αναγνώριση (24-4-2002) ορισμένων γενών μυκήτων, όπως και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 16: Αναγνώριση μυκήτων

ΘΕΣΗ ΤΡΙΒΛΙΟΥ	ΟΓΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ (lt)	ΓΕΝΗ ΜΥΚΗΤΩΝ
Δ	1000	Asperrgillus, Penicillium, Alternaria (Δευτερομύκητες) Mucor (Ζυγομύκητας)

Επίσης, παρατηρήθηκαν σποραδικές αποικίες που ανήκουν και σε άλλα γένη Δευτερομυκήτων, καθώς και αποικίες ζυμών.

Οι παραπάνω πίνακες παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών ακριβώς στον όγκο που μετρήθηκαν. Ακολουθώντας την μέθοδο ανάλυσης Colony Forming Units, θα πρέπει να γίνει αναγωγή των αποτελεσμάτων σε CFUs/m³ αέρα. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναγόμενα στην μονάδα αυτή ο συνολικός αριθμός των αποικιών των βακτηρίων για τις τρεις δειγματοληψίες και ο συνολικός αριθμός των αποικιών των μυκήτων, για την δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία. Επίσης αναφέρεται ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση των αποτελεσμάτων στα τριβλία που αντιστοιχούν σε ίδιο όγκο βιοαεροζόλ, στα δείγματα του ίδιου σημείου δειγματοληψίας.

➤ ΠΡΩΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Πίνακας 17: Αποτελέσματα πρώτης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)

ΑΓΑΡ ENDO		ΒΑΚΤΗΡΙΑ		
ΘΕΣΗ	A/A δειγμάτων	Όγκοι	Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³
A	1	50	6	120
	2	100	12	120
	3	200	4	20
	4	250	5	20
Μέσος όρος				70
Τυπική απόκλιση				50
B	1	50	3	60
	2	100	8	80
	3	150	9	60
	4	200	8	40
	5	250	6	24
Μέσος όρος				52,8
Τυπική				21,4

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

απόκλιση				
Γ	1	100	8	80
	2	350	14	40
	3	500	63	126
	4	500	52	106
	5	750	39	52
Μέσος όρος				80,8
Τυπική απόκλιση				35,9
Δ	1	200	6	30
	2	500	9	18
	3	750	9	12
	4	1000	18	18
Μέσος όρος				19,5
Τυπική απόκλιση				7,5
Ε	1	50	0	0
	2	100	1	10
Μέσος όρος				5
Τυπική απόκλιση				7

➤ ΔΕΥΤΕΡΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Πίνακας 18: Αποτελέσματα δεύτερης δειγματοληψίας(ΧΥΤΑ Ρεθύμνου)

ΑΓΑΡ ENDO		ΒΑΚΤΗΡΙΑ			ΜΥΚΗΤΕΣ	
ΘΕΣΗ	A/A δειγμάτων	Όγκοι	Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³	Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³
A	1	300	31	103	31	103
	2	300	32	106	21	70
	3	300	36	120	19	63
	4	300	21	70	23	77
	5	300	27	90	10	34
Μέσος όρος				97,8		69,4
Τυπική απόκλιση				18,8		24,9
B	1	300	18	60	14	47
	2	300	10	34	14	47
	3	300	18	60	16	53
	4	300	16	53	18	60
Μέσος όρος				51,75		51,75

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

Τυπική απόκλιση				12,3		6,18
Γ	1	500	11	22	25	50
	2	500	9	18	32	64
	3	500	7	14	33	66
	4	500	11	22	35	70
	5	500	5	10	21	42
Μέσος όρος				17,2		58,4
Τυπική απόκλιση				5,2		11,8
Δ	1	1000	28	28	46	46
	2	1000	26	26	54	54
	3	1000	14	14	25	25
	4	1000	23	23	34	34
	5	1000	20	20	31	31
Μέσος όρος				22,2		38
Τυπική απόκλιση				5,5		11,7
Ε	1	300	12	39	24	79
	2	300	3	10	22	73
Μέσος όρος				24,5		76
Τυπική απόκλιση				20,5		4,2

ΑΓΑΡ MacCONKEY						
ΘΕΣΗ	Α/Α δειγμάτων	Όγκοι	ΒΑΚΤΗΡΙΑ		ΜΥΚΗΤΕΣ	
			Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³	Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³
A	1	300	34	113	17	57
B	1	300	5	17	7	23
Γ	1	500	2	4	13	26
Δ	1	1000	2	2	18	18
E	1	300	7	23	17	55
ΑΓΑΡ ROSE BENIGAL STREPTOMYCIN						
ΘΕΣΗ	Α/Α δειγμάτων	Όγκοι	ΜΥΚΗΤΕΣ			
			Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³		

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

Δ	1	1000	54	54
	2	1000	42	42
	3	1000	41	41
	4	1000	55	55
	5	1000	40	40
	6	1000	47	47
	7	1000	37	37
	8	1000	49	49
	9	1000	48	48
Μέσος όρος				45,9
Τυπική απόκλιση				6,3

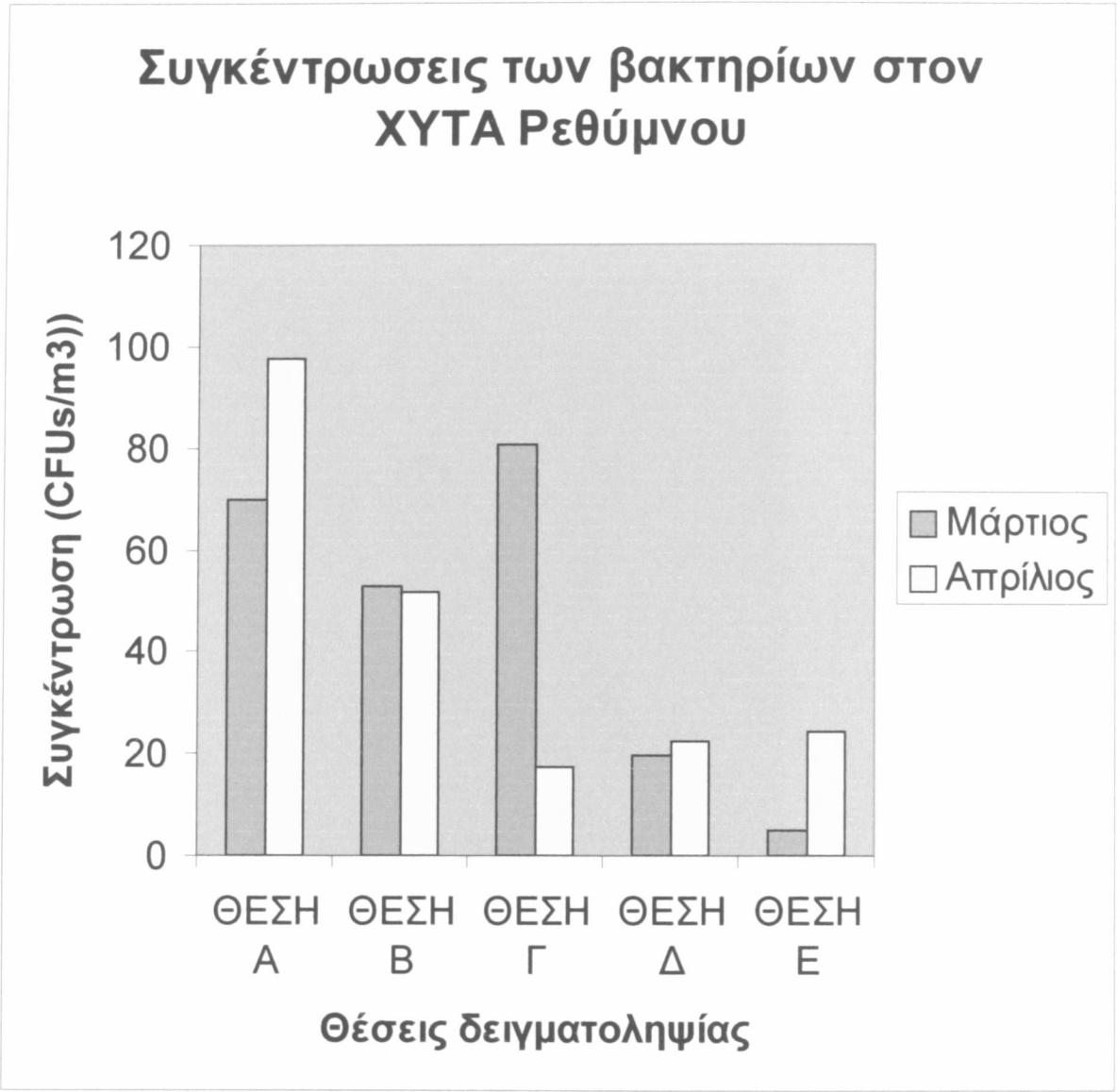
➤ ΤΡΙΤΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Πίνακας 19: Αποτελέσματα τρίτης δειγματοληψίας(Κουρουπητός)

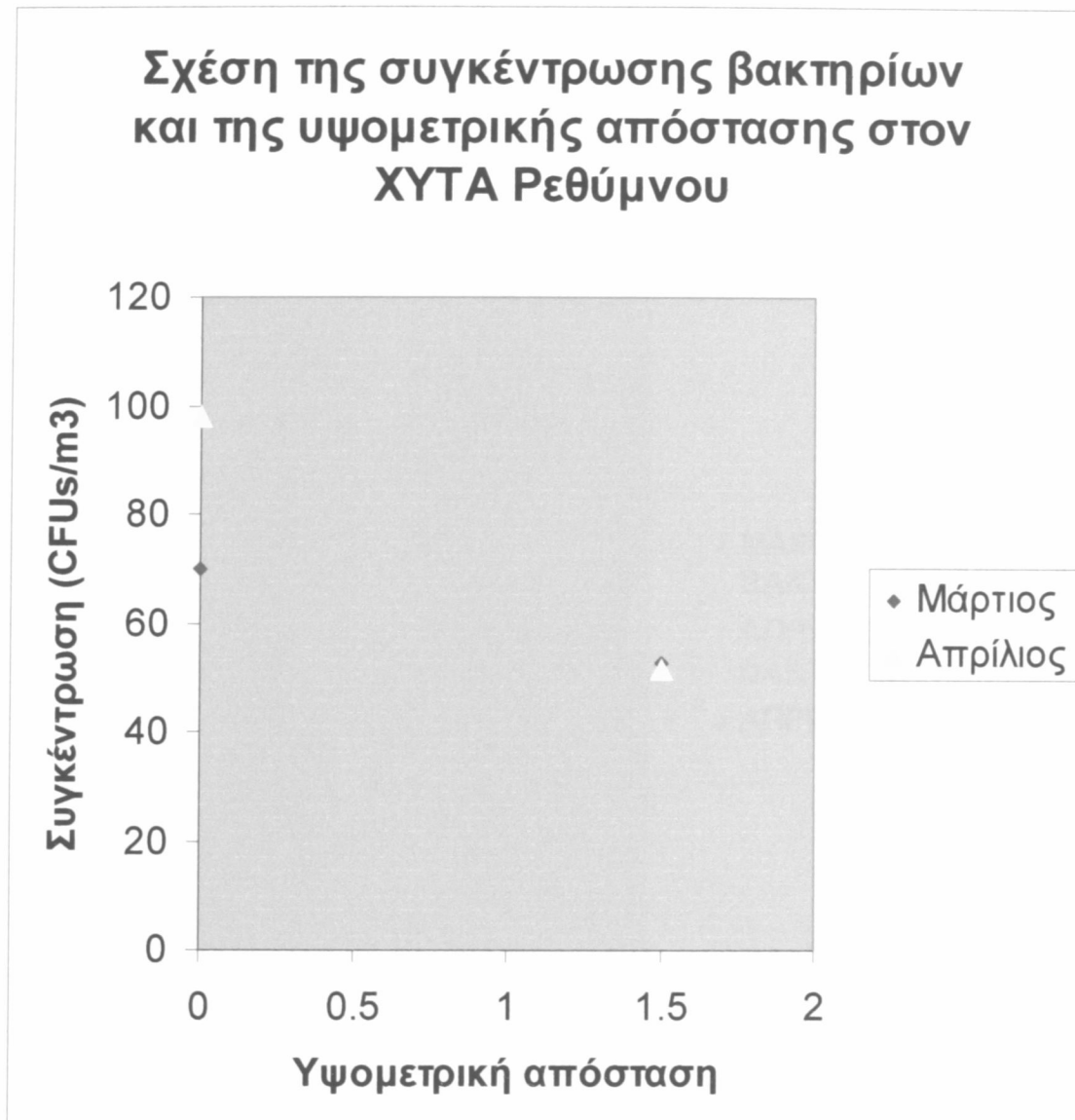
ΑΓΑΡ ENDO						
ΘΕΣΗ	Α/Α δειγμάτων	Όγκοι	ΒΑΚΤΗΡΙΑ		ΜΥΚΗΤΕΣ	
			Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³	Συνολικές αποικίες	Αναγόμενα σε CFUs/m ³
Α	1	300	1	3,3	4	13,2
	2	300	1	3,3	6	19,8
	3	300	2	6,6	2	6,6
	4	300	0	0	0	0
	5	300	0	0	0	0
Μέσος όρος				2,64		7,92
Τυπική απόκλιση				2,76		8,6
Β	1	300	0	0	5	16
	2	300	0	0	2	7
Μέσος όρος				0		11,5
Τυπική απόκλιση				0		6,36
Γ	1	500	0	0	3	6
	2	500	1	2	5	10
	3	500	1	2	29	58
	4	500	1	2	4	8
	5	500	0	0	9	18
Μέσος όρος				1,2		20
Τυπική απόκλιση				1,1		21,7

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

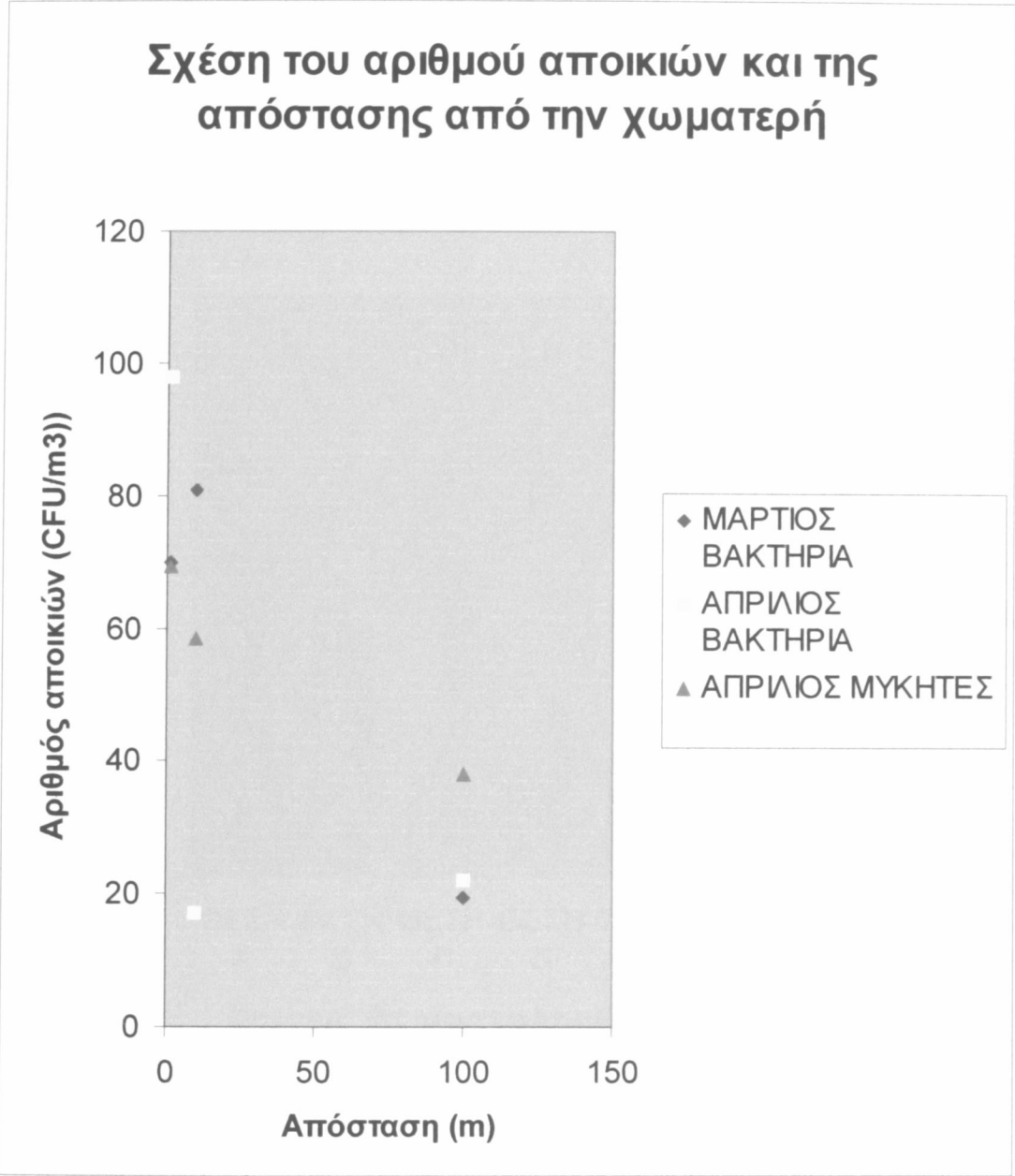
Δ	1	1000	0	0	2	2
	2	1000	0	0	3	3
	3	1000	0	0	3	3
	4	1000	0	0	5	5
Μέσος όρος				0		3,25
Τυπική απόκλιση				0		1,26
Ε	1	300	1	3.3	4	13
	2	300	0	0	3	10
Μέσος όρος				1.65		11,5
Τυπική απόκλιση				2,12		2,12



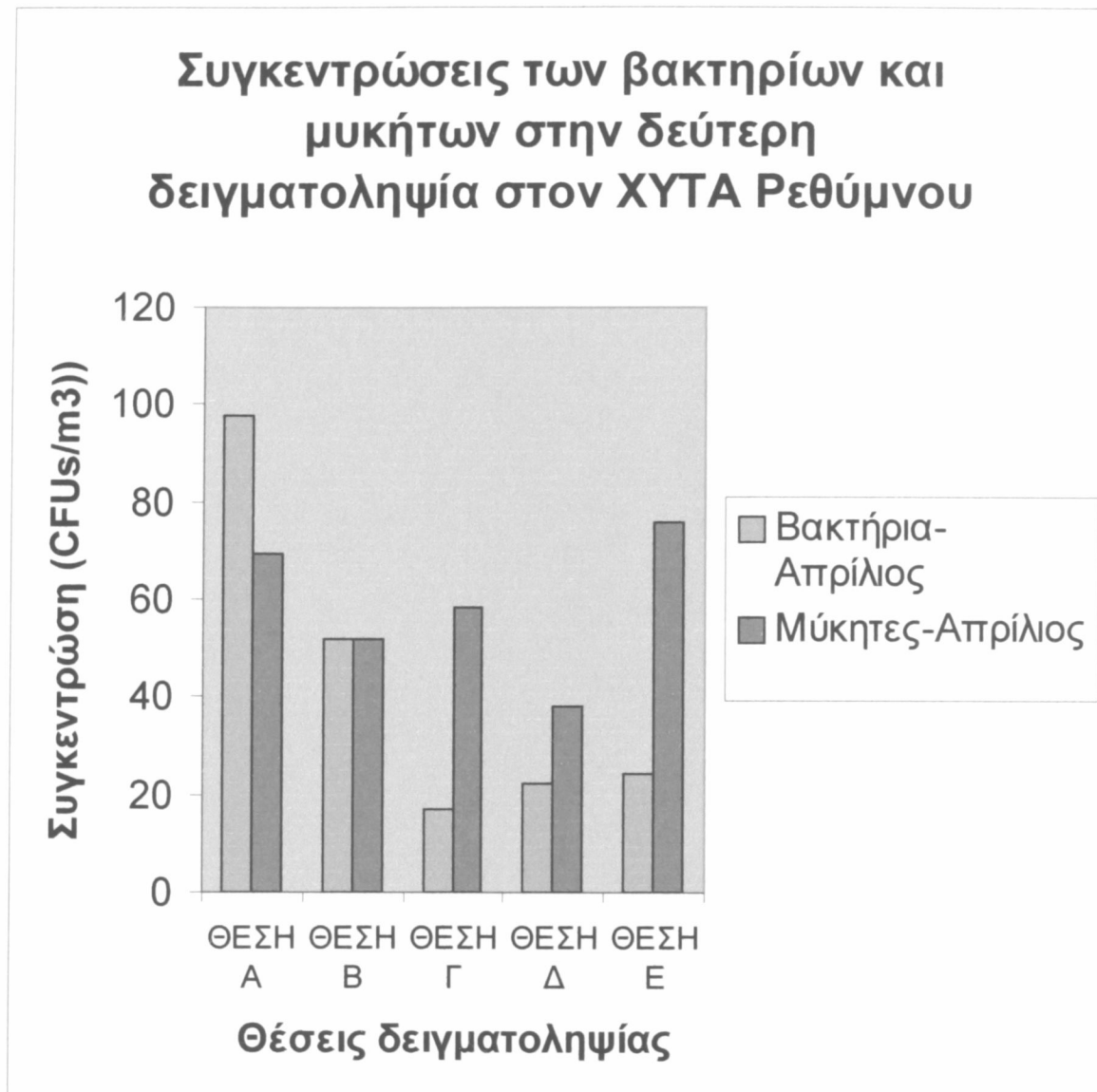
Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO



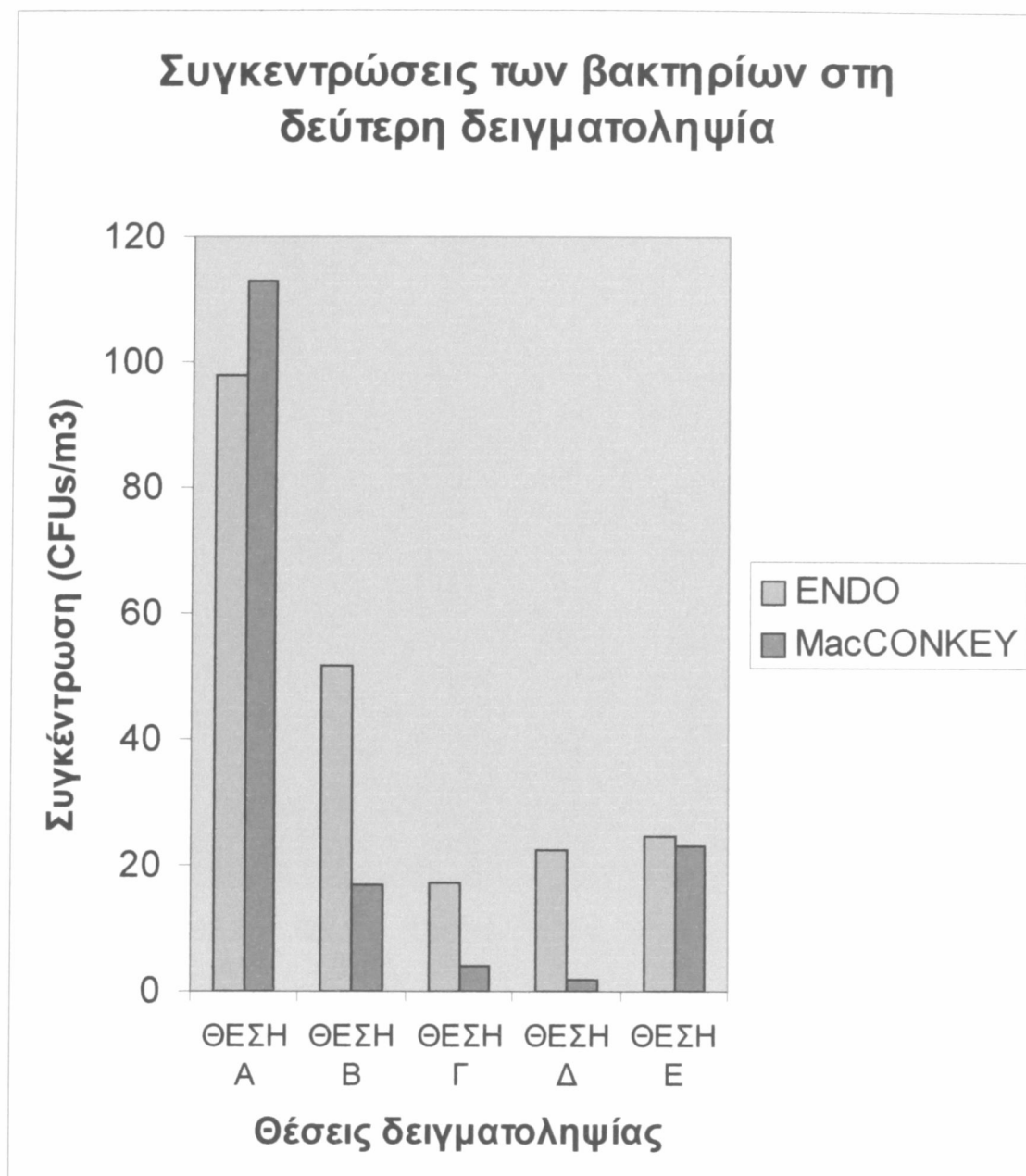
Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO

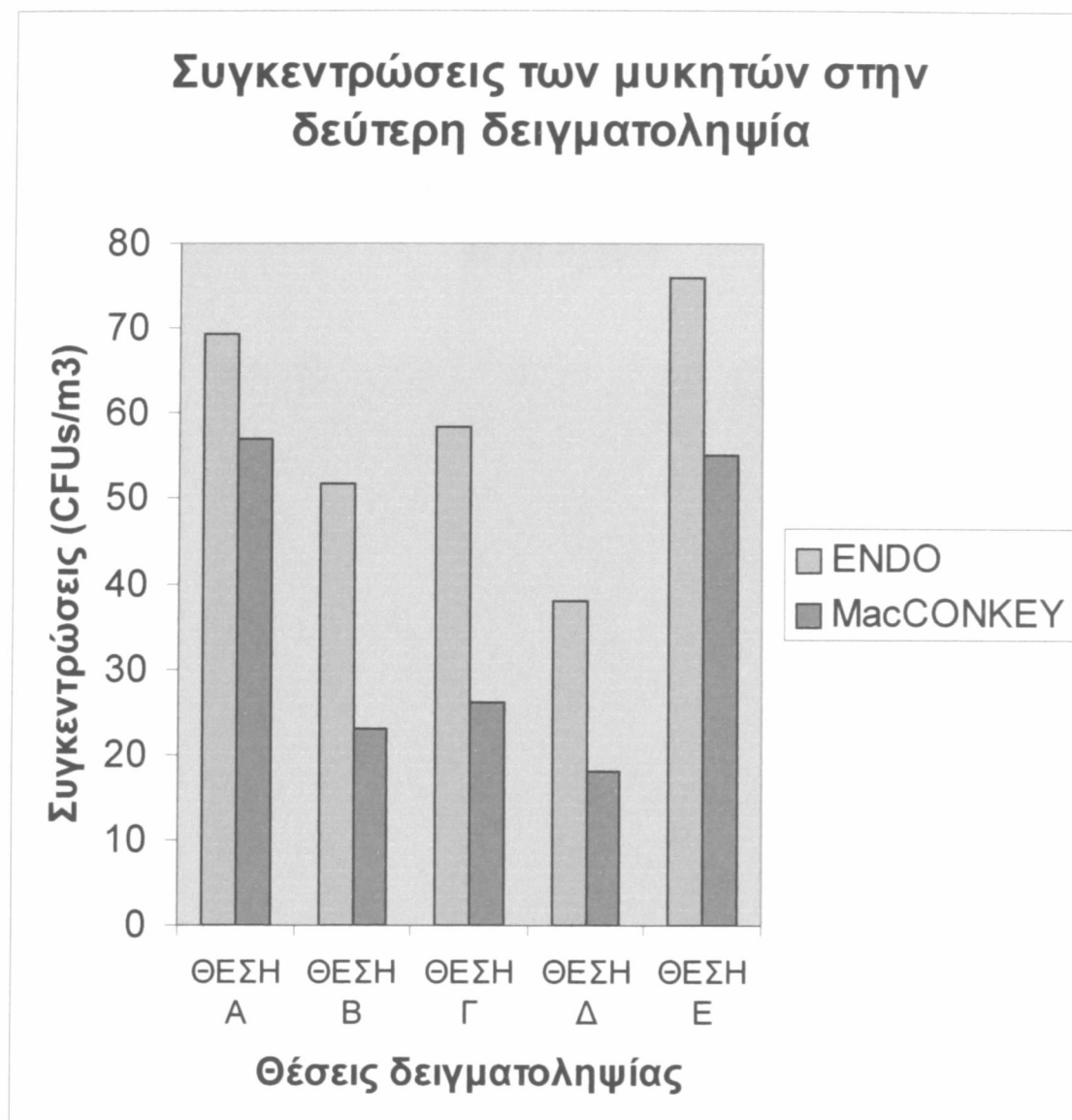


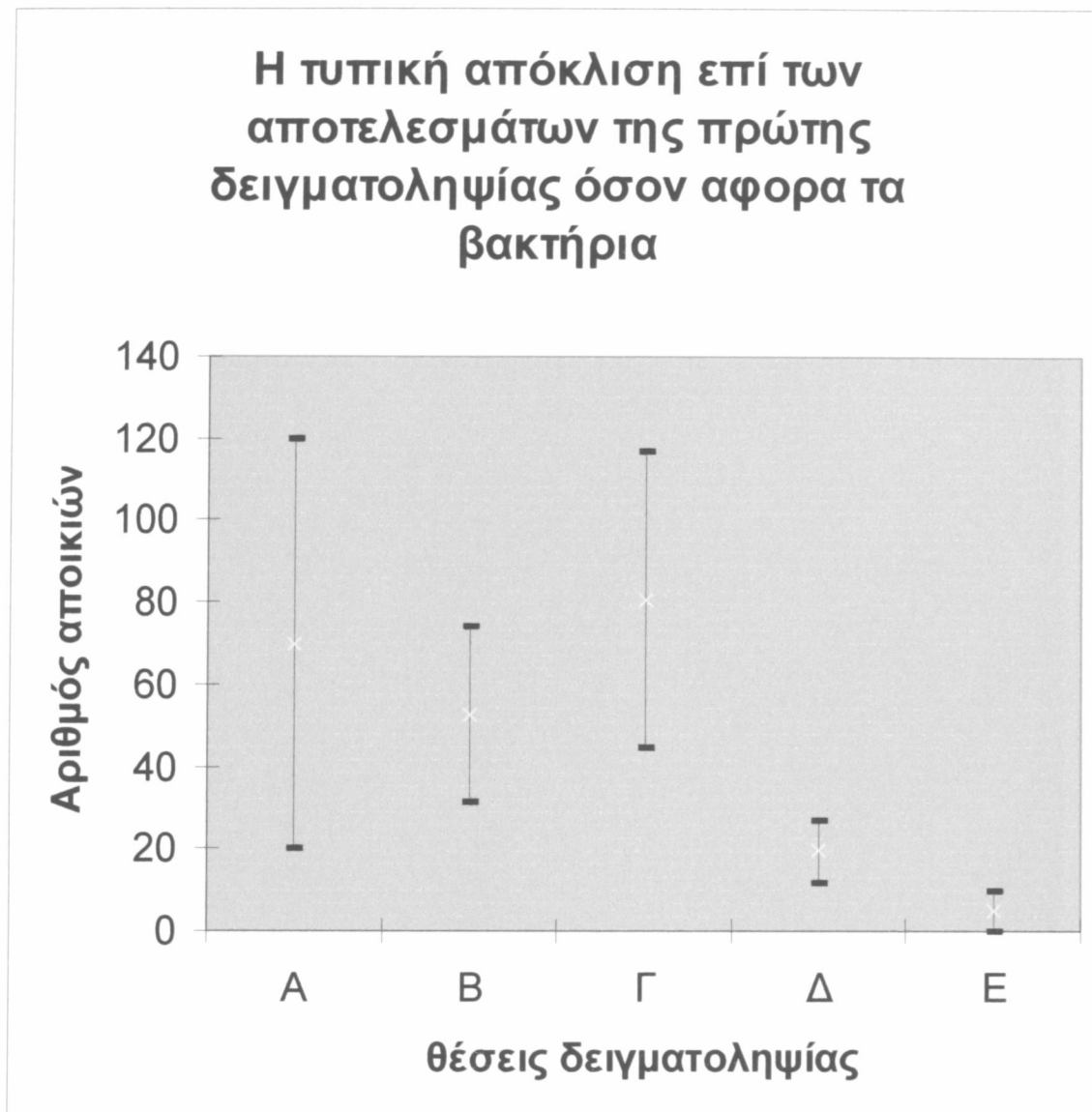
Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO



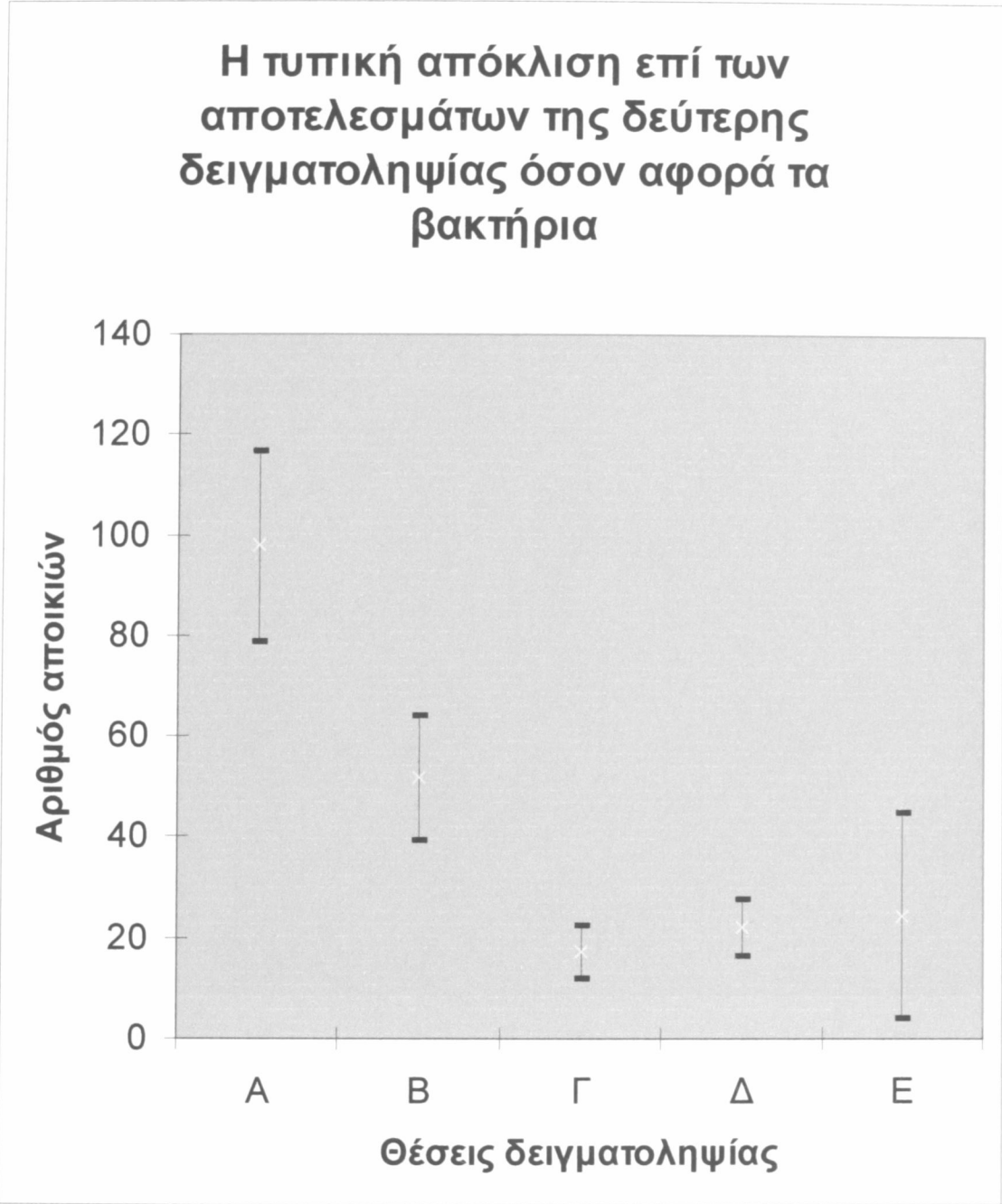
Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO





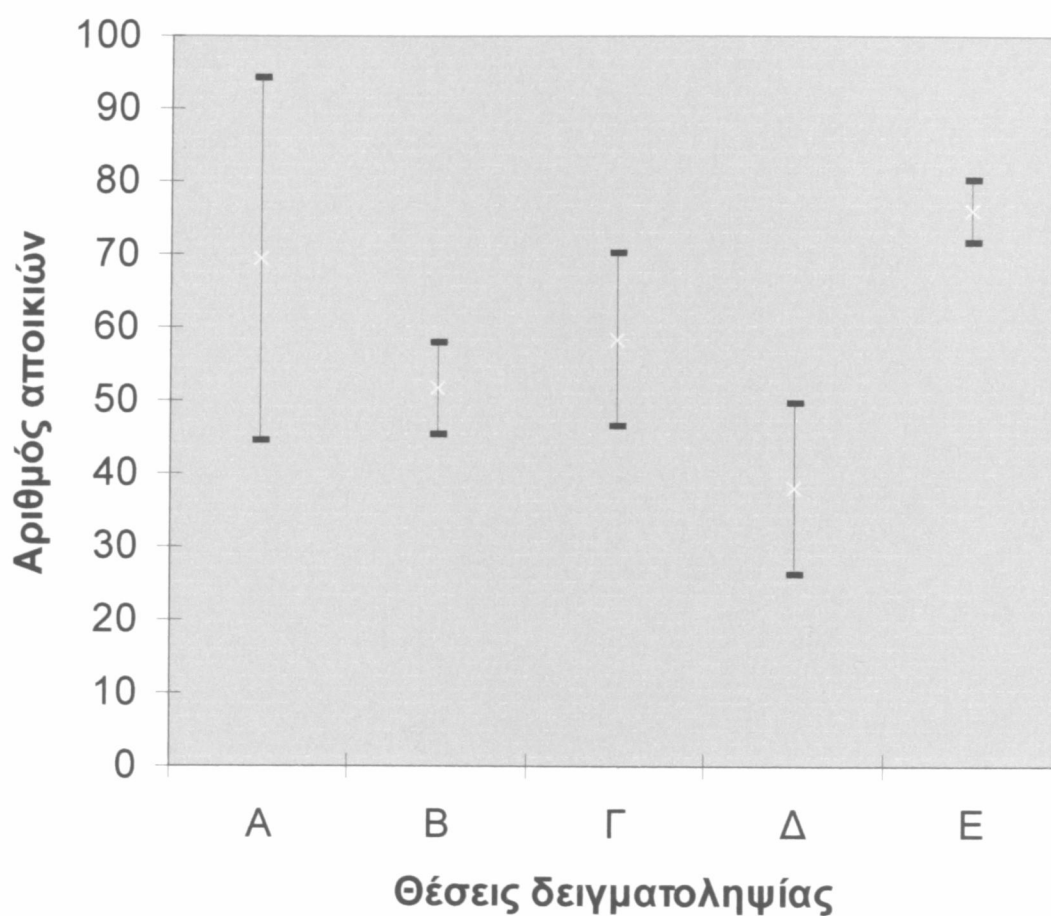


Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO



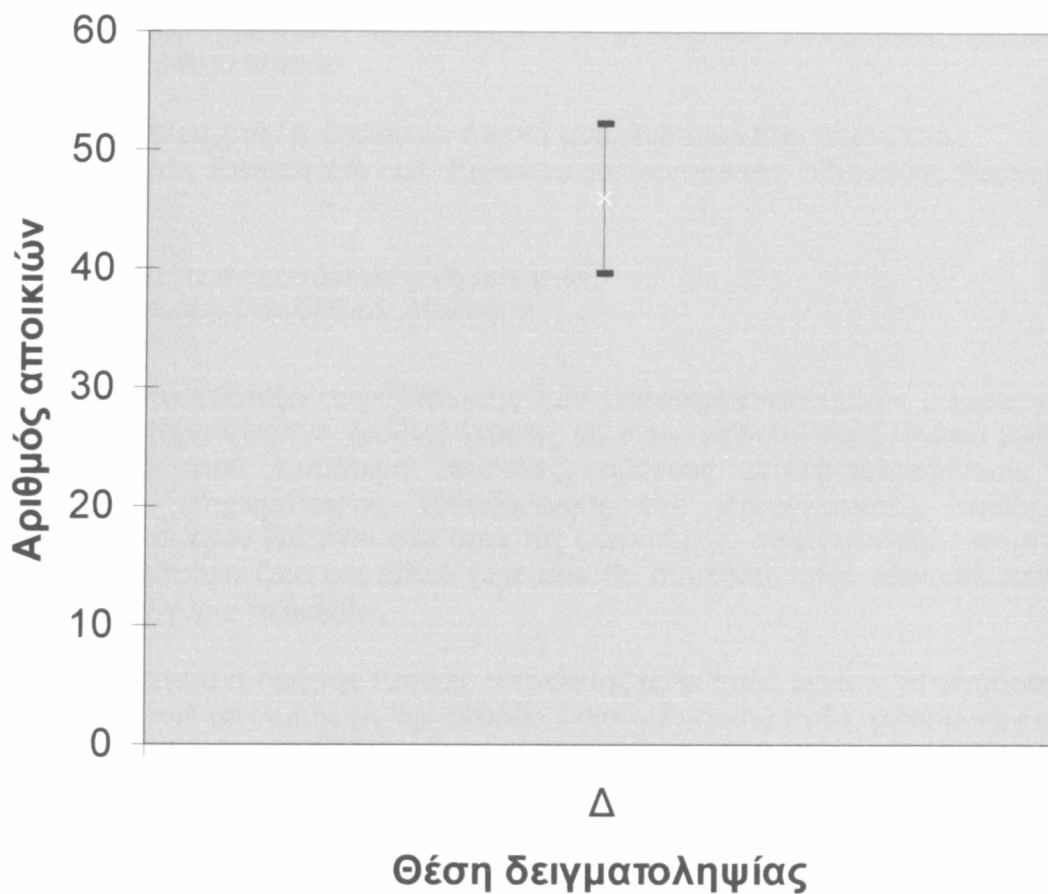
Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO

**Η τυπική απόκλιση επί των
αποτελεσμάτων της δεύτερης
δειγματοληψίας όσον αφορά τους
μύκητες**



Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ENDO

**Η τυπική απόκλιση επί των
αποτελεσμάτων της δευτερης
δειγματοληψίας όσον αφορά τους
μύκητες**



Χρησιμοποιούμενο άγαρ: ROSE BENGAL STREPTOMYCIN

6.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.3.1 ΧΥΤΑ ΡΕΘΥΜΝΟΥ

Οι δύο πρώτες δειγματοληψίες (Μάρτιος και Απρίλιος 2002), έγιναν στον ΧΥΤΑ Ρεθύμνου και συλλέχθηκαν συνολικά 55 δείγματα βιοαεροζόλ. Λόγω της φύσης του βιότοπου, χώρος διάθεσης απορριμμάτων όλων των ειδών, οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων και των μυκήτων που βρέθηκαν στα δείγματα βιοαεροζόλ, ήταν πολύ μεγάλες. Στα περισσότερα τριβλία(70%), ο συνολικός αριθμός αποικιών που είχαν αναπτυχθεί, κυμαινόταν στις 50-60 οι οποίοι είναι αριθμοί, που εμπειρικά έχει βρεθεί από 10ετή μελέτη του Τομέα Οικολογίας και Ταξινόμησης του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, που βρίσκονται στα μέγιστα όρια ανάπτυξης αποικιών σε τριβλία 90mm.

Στα δείγματα βιοαεροζόλ, βρέθηκαν όλα τα αναμενόμενα είδη βακτηρίων:
Lactose-positive, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Klebsiella, Salmonella και Shigella

Καθώς και όλα τα αναμενόμενα γένη μυκήτων:
Aspergillus, Mucor, Penicillium, Alternaria

Τα υψηλά αυτά επίπεδα συγκέντρωσης των συγκεκριμένων αυτών μικροοργανισμών, μπορούν σε παρατεταμένη χρονικά έκθεση, να προκαλέσουν προβλήματα υγείας στους εργαζόμενους στην χωματερή (φύλακες, οδηγούς απορριμματοφόρων, οδηγούς μηχανημάτων επιχωμάτωσης, εργαζόμενους στα στραγγίσματα), καθώς και να επιδράσουν και στον βιότοπο στα όρια της χωματερής, όπου συνήθως αποτελεί τόπο βοσκής για διάφορα ζώα και ειδικά ζώα που θα διατεθούν στην κατανάλωση ή στους κάτοικους των γύρω περιοχών.

Σε μερικά δείγματα η τιμή της τυπικής απόκλισης είναι πολύ μεγάλη. Η απόδοση στην καταμέτρηση των αποικιών, με την μέθοδο Colony Forming Units, μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες [11]:

A) Από τον αριθμό των αποικιών και από το μέγεθος της αποικίας: όσο αυξάνεται ο αριθμός των αποικιών ή το μέγεθός τους, εμφανίζεται το φαινόμενο της υπερανάπτυξης των αποικιών στο τριβλίο, με αποτέλεσμα την υπερκάλυψη της μιας αποικίας από μία άλλη [11].

B) Από την δυνατότητα διάκρισης μέσω του συστήματος παρατήρησης (ανθρώπινο μάτι με ή χωρίς την βοήθεια κάποιου οπτικού οργάνου): οι πολύ μικρές αποικίες δεν είναι διακριτές [11].

Παρατηρήσεις:

- ✓ Στην δεύτερη δειγματοληψία, οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων ήταν μεγαλύτερες στις θέσεις δειγματοληψίας Α,Δ,Ε από ότι τον Μάρτιο. Επίσης, οι συγκεντρώσεις των μυκήτων της δεύτερης δειγματοληψίας, ήταν κατά πολύ μεγαλύτερες από ότι

εκείνων της πρώτης και αυτό οφείλεται στην αυξημένη υγρασία που υπήρχε την ημέρα εκείνη στην περιοχή.

- ✓ Οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων και των μυκήτων, μειώθηκαν σημαντικά με το ύψος. Συγκεκριμένα για υψομετρική απόσταση 1,5 m (0-1.5), τον Μάρτιο η μείωση για τα βακτήρια ήταν 24% και τον Απρίλιο για τα βακτήρια και τους μύκητες ήταν 48% και 25% αντίστοιχα.
- ✓ Οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων τον Μάρτιο και των βακτηρίων και μυκήτων τον Απρίλιο, μειώθηκαν με την οριζόντια απόσταση, αλλά με τελείως διαφορετικό τρόπο.
- ✓ Οι συγκεντρώσεις των βακτηρίων τον Απρίλιο, ήταν πιο υψηλές από ότι των βακτηρίων, στις θέσεις δειγματοληψίας Β,Γ,Δ,Ε.
- ✓ Η ανάπτυξη των βακτηρίων στο ENDO άγαρ ήταν καλύτερη από ότι στο MacCONKEY άγαρ στις θέσεις δειγματοληψίας Β,Γ,Δ,Ε όσον αφορά την ανάπτυξη των βακτηρίων και καλύτερη στις θέσεις δειγματοληψίας Α,Β,Γ,Δ,Ε όσον αφορά την ανάπτυξη μυκήτων.
- ✓ Στην πρώτη δειγματοληψία την μικρότερη τυπική απόκλιση, άρα την καλύτερη απόδοση της μεθόδου, όσον αφορά την ανάπτυξη βακτηρίων, είχαν οι θέσεις δειγματοληψίας Δ και Ε, με τιμές τ.α 7 και 7,5 αντίστοιχα. Στην δεύτερη δειγματοληψία την μικρότερη τυπική απόκλιση, όσον αφορά την ανάπτυξη βακτηρίων, είχαν οι θέσεις δειγματοληψίας Γ και Δ, με τιμές τ.α 5 και 5,2 αντίστοιχα. Στην δεύτερη δειγματοληψία την μικρότερη τυπική απόκλιση, όσον αφορά την ανάπτυξη μυκήτων, είχαν οι θέσεις δειγματοληψίας Β και Ε, με τιμές τ.α 6,18 και 4,2 αντίστοιχα.

6.3.2 ΚΟΥΡΟΥΠΗΤΟΣ

Η τρίτη δειγματοληψία έγινε στην χαράδρα του Κουρουπητού (Μάιος 2002) και συλλέχθηκαν 18 δείγματα βιοαεροζόλ. Η χαράδρα αυτή χρησιμοποιούταν για πολλά χρόνια ως ανεξέλεγκτος χώρος διάθεσης απορριμμάτων, όποτε αναμενόταν να υπάρχουν μεγάλες συγκεντρώσεις μικροοργανισμών στο βιοαεροζόλ. Σε αντίθεση, οι συγκεντρώσεις που βρέθηκαν ήταν πάρα πολύ μικρές και στα περισσότερα δείγματα δεν βρέθηκαν καθόλου μικροοργανισμοί. Ο λόγος που συνέβη αυτό, είναι ότι αντί να γίνει καθάρισμα, ανάκτηση και επανένταξη του χώρου, οι αρμόδιοι για να εξαλείψουν τους μεγάλους όγκους απορριμμάτων χρησιμοποίησαν την μέθοδο της καύσης. Μια μη ελεγχόμενη καύση που είχε δυσάρεστες συνέπειες για το περιβάλλον, λόγω της απελευθέρωσης μεγάλων ποσοτήτων επικίνδυνων ή τοξικών αερίων, όπως CO₂, CO, NO_x, SO₂. Παρόλαυτα, η θερμοκρασία που αναπτύχθηκε κατά την καύση, περίπου 900 °C, είχε ως αποτέλεσμα, όπως φαίνεται και στον πίνακα 6 που περιγράφει την επιβίωση των μικροοργανισμών που απαντώνται στους χώρους διάθεσης απορριμμάτων, κανένας ή σχεδόν κανένας μικροοργανισμός να επιζήσει.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΑΕΡΟΖΟΛ ΣΤΟΥΣ ΧΩΡΟΥΣ ΔΙΑΘΕΣΗΣ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

Η αξιοπιστία των μετρήσεων που έγιναν στα πλαίσια της εργασίας, κρίνεται βάση της στατιστικής επεξεργασίας, εκφραζόμενη από την τυπική απόκλιση, αρκετά ικανοποιητική. Για περαιτέρω καλύτερα αποτελέσματα προτείνεται:

- Η εκτίμηση και άλλων παραμέτρων κατά την διάρκεια της δειγματοληψίας όπως η ακριβής ένταση του ανέμου, η θερμοκρασία που αναπτύσσεται στο έδαφος μέσα στα όρια της χωματερής, το σχήμα των σωματιδίων στο βιοαεροζόλ, το ποσοστό των οργανικών και μη οργανικών υλικών που περιέχονται στα απορρίμματα.
- Η χρήση φθορίζον μικροσκοπίου (με τα κατάλληλα φθοροχρώματα και αντιγόνα) ή PCR(αναλύσεις που βασίζονται στο DNA, είναι πολύ ακριβείς, σχετικά γρήγορες, αρκετά ευαίσθητες και μπορούν να ανιχνεύσουν μικροοργανισμούς καλλιεργήσιμους και μη), αντί CFU, που επιτρέπει ταυτόχρονα και την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών. Μειονέκτημα αυτού όμως είναι η απαίτηση εκπαιδευμένου προσωπικού για χειρισμό των εξειδικευμένων οργάνων, μεγαλύτερο κόστος και πολύ περισσότερο χρόνο.

Ενδιαφέρον επίσης θα ήταν αν στους ίδιους βιότοπους (ΧΥΤΑ Ρεθύμνου, Κουρουπητός) χρησιμοποιηθεί και ένα άλλο όργανο δειγματοληψίας όπως ο υγρός προσκρουτής AGI-30, με σκοπό την σύγκριση της αξιοπιστίας και απόδοσης των οργάνων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1]. Cristopher S. Cox, Cristopher M. Wathers, "Bioaerosols Handbook", 4-9, 15-24, 77-98, 177-197, 249-257, 269-279, 297-300, 320-324, 361-364, 407-411, 424-425, 531-540,
- [2]. Cristopher S. Cox, "Airborne Bacteria and Viruses", Sci.Prog., Oxf. (1989) 73, 469-500
- [3]. Raina M. Maier, Ian L. Pepper, Charles P. Gerba, "Enviromental Microbiology"
- [4]. Philip G. Nugent, Johanne Cornett, Ian W. Steward, Helen C. Parkes, "Personal Monitoring of Exposure to Genetically Modified Microorganisms in Bioaerosols: Rapid and Sensitive Detection Using PCR", Birkbeck College, University of London (Laboratory of the Government Chemist, UK), (1997), 525-538.
- [5]. Ivens, Breum, Nielsen, Poulsen, Wurtz. "Exposure-response relationship between gastrointestinal problems among waste collectors and bioaerosol exposure".Scandinavian Journal of Work, Environment and Health (Department of Occupational Medicine, National Intsitut of Health, Copenhagen, Denmark, june 1999), 238-245
- [6]. R. Hirvonen, M. Ruotsalainen, A. Nevalainen, "Toxicity and Inflammatory Mechanisms of Bioaerosol", Division of Enviromental Health, National Public Health Institute, Kuopio, Finland, 107
- [7]. W. Enduard, G. Blomquist, Nielsen Herbert, Kulvik Hendal, "Regognition Errors in the Quantification of Micro-organisms by Fluorescence Microscopy, August 2001, 493-498
- [8]. Νίκος Καλογεράκης, Αριάδνη Παντίδου, "Εργαστηριακές Ασκήσεις Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας, Πολυτεχνείο Κρήτης, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος, Χανιά, 2000, 9-10
- [9]. Αδαμάντιος Σκορδίλης, "Τεχνολογίες Διάθεσης Απορριμμάτων-Υγειονομική Ταφή", (1993), 15, 23-25, 27-31, 99-100, 146,155,197-201.
- [10]. Baxter L.. Jones, Joan T. Cookson, "Natural Atmospheric Microbial Conditions in a Typical Suburban Area", JTC Enviromental Consultants, Inc., Gaithersburg, Maryland 20850, Mar 1983, 919-934
- [11]. Chih-Chieh Chen, Tai-Shan Yu, Juei-Yun Chang, Ching-Wen Chang, Tung-Sheng Shih, Jing-Shiang Hwang, "A Computer Simulation Study on Bioaerosol Colony Counting Error Due to Masking Effect", Insitute of Occupational Medicine and Industrial Hygiene, College of Public Health, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, (March 1998), 501-510

