

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

Katedra aplikované ekologie



**Rizika mikrobiologické kontaminace pracovního prostředí
zařízení pro nakládání s odpady**

DISERTAČNÍ PRÁCE typu “SOUBOR PRACÍ”

Vypracovala: Mgr. Ing. Kristýna Černá

Obor: Aplikovaná a krajinná ekologie

Školitel: Prof. Ing. Zdeňka Wittlingerová, CSc.

Konzultant: MUDr. Magdaléna Zimová, CSc.

2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Rizika mikrobiologické kontaminace pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady“ vypracovala samostatně na základě vlastní práce. Uvedla jsem všechny literární prameny a odborné publikace, ze kterých jsem čerpala.

Praha, srpen 2018

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce prof. Ing. Zdeňce Wittlingerové, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky. Dále bych chtěla poděkovat MUDr. Magdaléně Zimové, CSc. za odborné konzultace a praktické rady. Také bych ráda poděkovala Adamovi Pernému za veškerou pomoc a podporu při studiu.

Praha, srpen 2018

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. CÍLE PRÁCE.....	3
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	5
3.1. Mikroskopické houby v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení	5
3.1.1. Morfologie hub	5
3.1.2. Uvolňování částic mikroskopických hub do prostředí.....	7
3.1.3. Druhové složení společenstva hub v dotříd'ovacích zařízeních	8
3.1.3.1. Kontaminace ovzduší v dotříd'ovacích zařízeních	8
3.1.3.2. Povrchová kontaminace v dotříd'ovacích zařízeních	10
3.2. Vliv mikroskopických hub na zdravotní stav zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení. 10	
3.2.1. Mykotoxiny.....	12
3.2.2. Prachové částice (PM)	13
3.3. Metody odběru vzorků mikroskopických hub z pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení.....	13
3.3.1. Metody odběru vzorků mikroskopických hub z povrchu	14
3.3.2. Metody odběru vzorků mikroskopických hub z ovzduší.....	14
3.3.2.1. Impakční metoda.....	18
3.3.2.2. Metoda membránových filtrů.....	19
3.3.2.3. Impingerová metoda.....	20
3.4. Expozice zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení mikroskopickým houbám	20
3.4.1. Inhalační expozice	20
3.4.2. Gastrointestinální expozice	21
3.4.3. Dermální expozice	22
3.4.4. Limity pracovní expozice	22
3.5. Preventivní a ochranná opatření.....	23
4. VLASTNÍ PRÁCE	24
5. KOMENTÁŘE K PUBLIKACÍM.....	25
5.1. Studie I.....	25
5.2. Studie II.....	31
5.3. Studie III	35
5.4. Studie IV	37
6. SOUHRN	42
7. SUMMARY.....	45
8. SEZNAM LITERATURY	48
9. SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK	61
10.PŘÍLOHY	62

1. ÚVOD

Téměř veškerá lidská činnost je doprovázena produkcí odpadu. V posledních letech se nárůst produkce odpadu stává celosvětovým problémem. Možnost opětovného použití a recyklace odpadu představuje základ oběhového hospodářství, které se stává jednou z hlavních priorit politiky EU. Evropský parlament v dubnu 2018 na základě dohody s Radou EU podpořil nové recyklační cíle v rámci legislativy o odpadu a oběhovém hospodářství. Nová směrnice Evropského parlamentu a Rady EU 2018/851 o odpadech, ukládá členským státům zvýšit do roku 2025 podíl komunálního odpadu určeného k opětovnému použití a recyklaci nejméně na 55% hmotnosti, do roku 2030 zvýšit tento podíl nejméně na 60% hmotnosti a do roku 2035 nejméně na 65% hmotnosti. Další nová směrnice Evropského parlamentu a Rady EU 2018/852 o obalech a obalových odpadech, nařizuje členským státům do konce roku 2025 recyklovat alespoň 65 % hmotnosti veškerých obalových odpadů (z toho 50 % plastů, 25 % dřeva, 70 % železných kovů, 50% hliníku, 70 % skla a 75 % papíru a lepenky) a následně do konce roku 2030 recyklovat nejméně 70 % hmotnosti veškerých obalových odpadů (z toho 55 % plastů, 30 % dřeva, 80 % železných kovů, 60% hliníku, 75 % skla a 85 % papíru a lepenky). V důsledku toho bude nadále vyvíjen stále vyšší tlak na zřizování dotřídňovacích zařízení odpadu, kde bude zaměstnáváno stále více lidí. Pobyt zaměstnanců v dotřídňovacích zařízeních přitom může být spojen s vyšším zdravotním rizikem vyplývajícím z expozice zaměstnanců mikroorganismům, jako jsou mikroskopické houby a bakterie, které kolonizují organické zbytky ulpělé na odpadu (Pahren et Clark 1987).

Vzhledem k šíři této problematiky a dále závažnosti potenciálních zdravotních důsledků dlouhodobé expozice člověka mikroskopickým houbám a jejich produktům (mykotoxiny, beta-1,3-D-glukany, těkavé organické látky) je tato disertační práce zaměřena právě na problematiku kontaminace pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení mikroskopickými houbami.

Mikroskopické houby jsou schopny organický substrát ulpělý na odpadu velmi rychle kolonizovat a vytvářet velké množství rozmnožovacích struktur. Vlivem vnějších faktorů (rychlost vzduchu, vzdušná vlhkost) a mechanické manipulace s odpadem dochází k uvolňování částic mikroskopických hub (houbové fragmenty, spory) z těchto zdrojů do vzduchu (Pasanen et al. 1991, Górný et al. 2002). Uvolněné částice hub se poté mohou stát součástí vzdušného bioaerosolu anebo mohou ulpívat na povrchu vybavení dotřídňovacího

zařízení či na exponovaných částech těla zaměstnanců včetně jejich oděvu (Ivens et al. 1999, Park et al. 2011, Viegas et al. 2014a). Předchozí studie ukázaly, že zaměstnanci dotříd'ovacích zařízení jsou exponováni vysokým koncentracím částic mikroskopických hub v ovzduší, které dosahují hodnot až 10^5 KTJ (kolonie tvořících jednotek) na m^3 vzduchu (např. Nersting et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Park et al. 2011, Kozajda et al. 2015). To je v porovnání s koncentracemi naměřenými v ovzduší domácností či kancelářských budov až o 4 řády více (Górny et Krysińska-Traczyk 1999, Klánová 2000, Pastuszka et al. 2000).

Mnoho studií opakovaně prokázalo souvislost mezi výskytem zdravotních problémů a dlouhodobým pobytem zaměstnanců v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení (Poulsen et al. 1995b, Marth et al. 1997, Douwes et al. 2003, Perez et al. 2006, Chan et Leung 2011, Eker et al. 2012). Jelikož jsou zaměstnanci exponováni současně biologickým, chemickým a fyzikálním faktorům, není dosud zcela objasněn vliv mikroskopických hub na zdravotní stav zaměstnanců. Vzhledem k opakované detekci vysokých koncentrací částic mikroskopických hub zahrnující i potenciálně alergenní, infekční a toxinogenní druhy lze předpokládat, že mikroskopické houby hrají v rozvoji zdravotních problémů důležitou roli. (Würtz et Breum 1997, Kiviranta et al. 1999, Tolvanen et Hänninen 2006, Lehtinen et al. 2013, Viegas et al. 2014a, Viegas et al. 2014b).

Klíčovým problémem při hodnocení expozice zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení mikroskopickým houbám jsou dosud ve většině evropských zemí chybějící expoziční limity koncentrace částic mikroskopických hub v pracovním prostředí. Górny (2004) a Walser et al. (2015) se shodují, že hlavními důvody chybějících limitů expozice jsou kromě nedostatku studií zabývajících se "dávkou" biologického činitele a "odezvou" lidského organismu na něj i nejednotnost používané metodiky pro odběr a zpracování vzorků bioaerosolu a také dosud chybějící komplexní zhodnocení expozice zaměstnanců bioaerosolu.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této disertační práce je vypracovat podklady, které budou použity pro stanovení limitů koncentrace částic mikroskopických hub v pracovním prostředí v České republice a také pro hodnocení zdravotních rizik vyplývajících z pobytu zaměstnanců v tomto pracovním prostředí. Práce je zaměřena na analýzu kontaminace pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení v České republice mikroskopickými houbami. Záměr práce je řešen v několika krocích. Prvním krokem je vypracovat jednotnou standardní metodiku pro odběr a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady. Na základě této metodiky v rámci dalších kroků analyzovat kontaminaci pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení mikroskopickými houbami za jejich současné identifikace. Dílčí kroky jsou řešeny v jednotlivých studiích v rámci souboru prací následovně:

- I. **Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2016:** Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 29(3): 493–502.
Cíl práce: Vypracovat jednotnou standardní metodiku pro odběr a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady.
- II. **Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2017:** Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities. *Medycyna Pracy* 68(1): 1–9.
Cíl práce: Podrobně analyzovat kontaminaci ovzduší dotřídňovacích zařízení plastového odpadu mikroskopickými houbami v průběhu pracovní směny v rámci 4 ročních období.
- III. **Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2015:** Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant-Case study in Czech Republic. In: *SGEM2015 Conference Proceedings, Book 4. 15th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2015, Albena, Bulgaria, June 18–24: 755-762.*
Cíl práce: Zhodnotit kontaminaci pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení papírového odpadu mikroskopickými houbami v rámci 4 ročních období.

- IV. **Černá K.**, Wittlingerová Z., Zimová M. (2018/2019): Fungal contamination in working environment of waste sorting facilities: A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*.

Cíl práce: Vytvořit ucelený přehled o kontaminaci dotřídovacích zařízení mikroskopickými houbami s důrazem na druhové zastoupení hub zachycených v pracovním prostředí dotřídovacích zařízení a s nimi potenciálně spojenými zdravotními problémy.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1. Mikroskopické houby v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení

Houby (Fungi) jsou heterotrofní organismy, které náležejí do eukaryotní superskupiny (soustavy) Opisthokonta (Hibbett et al. 2007). Vyznačují se osmotrofním způsobem výživy, jako zdroj živin jsou schopny využívat širokou škálu substrátů (Domsch et al. 1980, Pitt and Hocking 1997). Houby do svého okolí uvolňují řadu látek, mezi něž patří extracelulární polysacharidy, těkavé organické látky, mykotoxiny a také enzymy (Horner et al. 1995, Rylander 1998, Degen et al. 2003, Lehtinen et al. 2013).

Z důvodu lepšího pochopení „chování“ částic mikroskopických hub v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení je do literárního přehledu zařazena i kapitola zaměřená na morfologii mikroskopických hub.

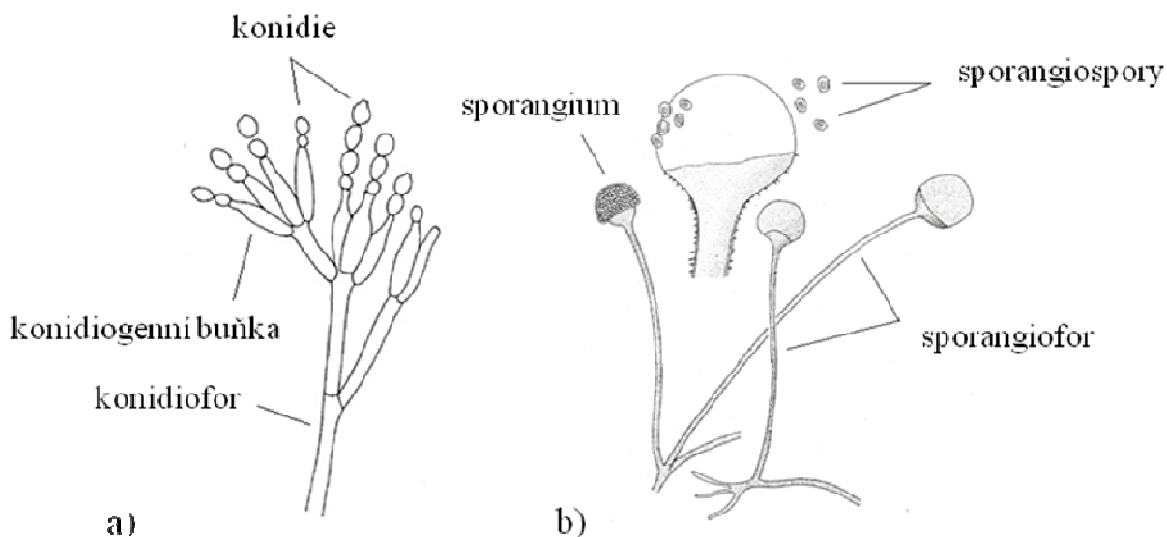
3.1.1. Morfologie hub

Mikroskopické houby kolonizují substrát (např. organické zbytky ulpělé na odpadu) ve formě mycelia (soubor houbových vláken neboli hyf), na němž se mohou za určitých podmínek vytvářet rozmnožovací struktury. Převážná většina hub izolovaných z pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení patří do oddělení Ascomycota (houby vřeckovýtrusé), pouze několik zástupců do pododdělení Mucoromycotina (dříve součást oddělení Zygomycota, houby spájivé) a jen ojediněle byli v dotříd'ovacích zařízeních zaznamenáni zástupci z oddělení Basidiomycota (houby stopkovýtrusné) (Nersting et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen 2001, Breza-Boruta 2012, Malta-Vacas et al. 2012, Lehtinen et al. 2013, Viegas et al. 2014a, Viegas et al. 2017). Vzhledem k velkým morfologickým rozdílům mezi těmito skupinami hub je následující charakteristika houbových struktur zaměřena pouze na houby z oddělení Ascomycota a pododdělení Mucoromycotina, které v prostředí dotříd'ovacích zařízení převládají.

Z oddělení Ascomycota byly v dotříd'ovacích zařízeních identifikovány především nepohlavně se rozmnožující stadia hub (anamorfy). Přítomnost pohlavně se rozmnožujících stadií hub (teleomorf) byla okrajově detekována pouze ve studii Viegas et al. (2014a). Morfologie nepohlavního a pohlavního stádia houby je velmi

odlišná, a proto název anamorfy a teleomorfy téže houby je často odlišný (binomická nomenklatura hub).

Anamorfní stádia hub na myceliu vytvářejí konidiofory (specializovaná houbová vlákna nepohlavního rozmnožování) nesoucí konidiogenní buňky, které dávají vznik velkému množství konidií (nepohlavních rozmnožovacích částic), které se po dozrání uvolňují do prostředí, viz Obr. 1a. Velké množství nepohlavních rozmnožovacích částic (sporangiospor) produkují i houby patřící do pododdělení Mucoromycotina. Na myceliu těchto hub se vytvářejí sporangiofory nesoucí jediné sporangium (uzavřený útvar nepohlavního rozmnožování), uvnitř něhož vznikají sporangiospory, které se po rozpadu stěny sporangia uvolňují do prostředí, viz Obr. 1b (Kalina et Váňa 2005). Barva, tvar, velikost, morfologie povrchu a další specifické vlastnosti výše zmíněných struktur jsou základními charakteristikami nezbytnými pro identifikaci mikroskopických hub.



Obr. 1: *Rozmnožovací struktury vybraných mikroskopických hub (převzato z Domsch et al. 1980, upraveno): a) Penicillium sp. (oddělení Ascomycota), b) Mucor sp. (pododdělení Mucoromycotina)*

Nová kolonie mikroskopické houby vzniká vyklíčením pohlavních i nepohlavních rozmnožovacích částic. Stejně tak mohou dát vzniknout nové kolonii i fragmenty hyf či úlomky houbových struktur. Díky tomu jsou všechny tyto fragmenty a částice obecně označovány jako „kolonie tvořící jednotky“ (KTJ/CFU-Colony Forming Units) mikroskopických hub (Adan et Samson 2011), v textu také jako „částice mikroskopických hub“.

3.1.2. Uvolňování částic mikroskopických hub do prostředí

Tvorba a následné uvolňování rozmnožovacích částic (konidií) hub ze zdroje je ovlivňováno několika faktory. Jedním z nejvýznamnějších faktorů je druh přítomné houby.

Górny et al. (2001) ve své studii porovnávali uvolňování konidií mezi 3 různými rody vřeckovýtrusných hub (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*). Z výsledků této studie vyplynulo, že houby rodu *Aspergillus* a *Penicillium* uvolňují své konidie snadněji, než houby rodu *Cladosporium*. Autoři to vysvětlují tím, že houby rodu *Aspergillus* a *Penicillium* vytvářejí dlouhé tenké konidiofory nesoucí dlouhé řetězce konidií (až 60-80 jednotlivých konidií v řadě), které vyčnívají do prostoru. Plošné spoje (septa) mezi jednotlivými konidii v těchto řetězcích jsou vzhledem ke kulovitému tvaru konidií menší, a tudíž snadněji oddělitelné. Navíc septa mezi konidii jsou rozdělena do 3 lamel, z nichž prostřední želatínuje a rozpouští se ve vodě (Burnett 1976). Vlivem proudění vzduchu může tato lamela vysychat a tak se snadněji rozrušovat. Kromě toho nejstarší konidie, a tudíž i nejtenčí vazby mezi konidii těchto rodů hub, jsou na konci řetězců konidií, což umožňuje jejich snadnější uvolňování. Naproti tomu houby rodu *Cladosporium* se vyznačují krátkými tlustými konidiofory, na nichž vznikají jen krátké řetězce větších oválných konidií. Konidie tohoto rodu houby vznikají až na konci řetězců, vazby mezi koncovými konidii jsou proto pevnější (Górny et al. 2001). Proudění vzduchu a vibrace substrátu proto nemají na uvolňování konidií tohoto rodu houby tak velký vliv jako je tomu u rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Uvolňování konidií z kolonie houby tedy ovlivňuje tloušťka a délka konidioforů, typ konidiogeneze, tvar vznikajících konidií a délka řetězců konidií dané houby.

V další studii Górny et al. (2002) zjistili, že společně s konidii jsou z kolonií hub aerosolizovány i fragmenty hub (části mycelia, části konidií, části rozmnožovacích struktur, shluk sekundárních metabolitů hub). Výsledky této studie ukázaly, že uvolňování houbových fragmentů (0,3-20 μ m) je až 320 krát vyšší v porovnání s množstvím konidií a je ovlivňováno druhem houby, rychlostí vzduchu proudícím nad povrchem kolonie houby a také strukturou a mechanickou manipulací kontaminovaným materiálem. Přitom velké množství houbových fragmentů s většinovým zastoupením částic <2,5 μ m může významně přispět ke vzniku zdravotních problémů u člověka (Schwartz et al. 1996, Levy et al. 2000, Górny et al. 2002).

Kromě druhu houby hrají významnou úlohu při tvorbě a uvolňování konidií ze zdroje i vnější faktory jako jsou teplota vzduchu, vlhkostní podmínky v daném prostředí, dostupnost kyslíku, přítomnost organických a anorganických zdrojů živin, struktura povrchu živného substrátu, elektrostatické a iontové interakce, vibrace substrátu a také rychlost vzduchu proudícího nad povrchem kolonie (Becker 1994, Górný et al. 2001, Górný et al. 2002).

3.1.3. Druhové složení společenstva hub v dotříd'ovacích zařízeních

3.1.3.1. Kontaminace ovzduší v dotříd'ovacích zařízeních

Mikroskopické houby v ovzduší pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení jsou směsicí hub, které vstupují do zařízení z venkovního prostředí a hub uvolněných ze zdrojů uvnitř zařízení (Lacey 1981, Burge et al. 1982). *Aspergillus* spp. a *Penicillium* spp. jsou nejčastěji detekovanými houbami v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení. Jejich procentuální zastoupení ve vzorcích se však ve studiích různí. Viegas et al. (2014a) v ovzduší dotříd'ovacích zařízení detekovali téměř výhradně zástupce rodu *Aspergillus*. Obdobný výsledek vyplynul i z další studie Viegas et al. (2017). Ve studii Lehtinen et al. (2013) patřilo 93% všech zachycených identifikovaných hub do rodu *Penicillium*. Obdobné procentuální zastoupení rodu *Penicillium* ve vzorcích (95%) zaznamenali i Pinto et al. (2015). Téměř shodné procentuální zastoupení rodů *Aspergillus* (44%) a *Penicillium* (40%) v odebraných vzorcích bylo zjištěno ve studii Tolvanen et al. (1999). Obdobné výsledky ukazuje i studie Tolvanen (2001).

Kromě těchto dvou rodů hub byly z ovzduší dotříd'ovacích zařízení izolovány i další rody hub, viz Tab. 1.

Tab. 1: Přehled mikroskopických hub izolovaných ze vzorků ovzduší z pracovního prostředí dotřídovacích zařízení (Nersting et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen 2001, Breza-Boruta 2012, Malta-Vacas et al. 2012, Lehtinen et al. 2013, Viegas et al. 2014a, Pinto et al. 2015, Viegas et al. 2017, Degois et al. 2017, Santos et al. 2018)

TAXONOMICKÉ ZARÁZENÍ	ROD (druh)
Ascomycota	<i>Alternaria</i> <i>Arthrinium</i> (<i>A. phaespermum</i>) <i>Aspergillus</i> (<i>A. candidus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i>) <i>Botrytis</i> <i>Cladosporium</i> <i>Epicoccum</i> (<i>E. nigrum</i>) <i>Fusarium</i> <i>Geotrichum</i> <i>Hemicarpenales</i> <i>Humicola</i> <i>Chrysonilia</i> (<i>Ch. sitophila</i>) <i>Monilia</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Penicillium</i> (<i>P. crustosum</i> , <i>P. digitatum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. lanosum</i> , <i>P. nalgiovense</i> , <i>P. notatum</i> , <i>P. rugulosum</i> , <i>P. variable</i>) <i>Sclerotinia</i> (<i>S. sclerotiorum</i>) <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Trichoderma</i> <i>Trichophyton</i> <i>Ulocladium</i>
Basidiomycota	<i>Hyalodendron</i> <i>Wallemia</i>
Mucoromycotina	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i> (<i>R. oryzae</i> , <i>R. nigricans</i>)

3.1.3.2. Povrchová kontaminace v dotříd'ovacích zařízeních

Povrchovou kontaminací vnitřního prostředí dotříd'ovacích zařízení a dále povrchu pracovního oděvu včetně exponovaných částí těl zaměstnanců se dosud zabývalo jen velmi málo studií (Park et al. 2011, Viegas et al. 2014a). Viegas et al. (2014a) ve vzorcích odebraných z povrchu vybavení dotříd'ovacích zařízení a z obličeje zaměstnanců identifikovali celkem 8 různých druhů mikroskopických hub, viz Tab. 2. V analyzovaných vzorcích byly nejčetnějšími druhy *Aspergillus niger* (66,1%), *A. flavus* (14,2%) a *A. fumigatus* (13,8%). Tyto druhy mikroskopických hub byly současně i nejčetnějšími druhy zachycenými ve vzorcích odebraných z ovzduší téhož pracovního prostředí. Zbývajících 5,9% zahrnovalo druhy *A. candidus*, *A. terreus*, *Neosartorya fumigata*, *Eurotium herbarium* a *Absidia* sp. Ve studii Park et al. (2011) identifikace zachycených mikroskopických hub provedena nebyla.

Tab. 2: Přehled mikroskopických hub izolovaných z obličeje a z povrchu vybavení pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení (Viegas et al. 2014a)

TAXONOMICKÉ ZARÁZENÍ	ROD (druh)
Ascomycota	<i>Aspergillus</i> (<i>A. candidus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i>) <i>Eurotium</i> (<i>E. herbarium</i>) <i>Neosartorya</i> (<i>N. fumigata</i>)
Mucoromycotina	<i>Absidia</i>

3.2. Vliv mikroskopických hub na zdravotní stav zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení

Stále více studií z posledních let dokládá souvislost výskytu zdravotních problémů s pobytem zaměstnanců v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení (Poulsen et al. 1995b, Marth et al. 1997, Douwes et al. 2003, Perez et al. 2006, Chan et Leung 2011, Eker et al. 2012, El-Wahab et al. 2014). Navzdory velkému množství studií je značně obtížné spojit konkrétní zdravotní problém s určitým činitelem, neboť zaměstnanci dotříd'ovacích zařízení jsou vystaveni současnému spolupůsobení biologických, chemických a fyzikálních činitelů. Z biologických činitelů jsou to především mikroskopické houby, bakterie a viry (Würtz et Breum 1997, Kiviranta et al. 1999,

Reinthal et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Park et al. 2011, Carducci et al. 2013, Lehtinen et al. 2013), z chemických činitelů zejména toxiny (endotoxiny, mykotoxiny) a mikrobiální těkavé organické látky (MVOC - microbial volatile organic compounds) (Rahkonen 1992, Kiviranta et al. 1999, Degen et al. 2003, Tolvanen et Hänninen 2006, Park et al. 2011, Lehtinen et al. 2013, Viegas et al. 2014b). Z fyzikálních faktorů mohou být zaměstnanci dotříd'ovacích zařízení vystaveni zvýšenému hluku, případně nevyhovujícím světelným podmínkám, vibracím a extrémním teplotám (Poulsen et al. 1995a, Krajewski et al. 2002, Tolvanen et Hänninen 2006).

Z ovzduší i z povrchu vybavení dotříd'ovacích zařízení byly opakovaně izolovány mikroskopické houby, které mohou vyvolávat alergické reakce, infekce či mohou produkovat mykotoxiny.

Mezi nejvýznamnější původce alergických reakcí, kteří byli ve vzorcích z dotříd'ovacích zařízení nalezeni, patří rody *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor* a *Rhizopus*. Tyto rody mikroskopických hub se vyznačují rychlým nepohlavním reprodukčním cyklem, díky němuž jsou schopni za krátkou dobu vyprodukovat obrovské množství konidií či spor, které se snadno uvolňují do prostředí (Gravesen 1979). Prahové hodnoty pro vznik alergické reakce však dosud nejsou přesně známy. Příčinou alergických reakcí jsou ve většině případů houbami produkovány enzymy (Quirce et al. 1992, Horner et al. 1995).

Nejčastějšími infekcemi způsobenými mikroskopickými houbami jsou dermatomykózy (infekční onemocnění kůže, kožních derivátů a sliznic). Mezi původce dermatomykóz, kteří byli v prostředí dotříd'ovacích zařízení detekováni, patří zástupci rodů *Alternaria* (Robb et al. 2003, Pereiro et al. 2004), *Aspergillus* (Gugnani 2000, Ozcan et al. 2003), *Cladosporium* (Vieira et al. 2001), *Fusarium* (Nucci et Anaissie 2007), *Paecilomyces* (Hall et al. 2004) a *Ulocladium* (Badenoch et al. 2006). U lidí s oslabenou imunitou může dále dojít k rozvoji životu nebezpečných mukormykóz, které mohou zapříčinit někteří zástupci spájkivých hub rodů *Mucor*, *Rhizopus* či *Absidia* (El-Herte et al. 2012).

Kromě vyššího rizika vzniku alergických reakcí a dermatomykóz byla u zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení zjištěna také zvýšená prevalence výskytu toxického syndromu z organického prachu (ODTS – Organic Dust Toxic Syndrome), který se může projevit kašlem, svíráním na hrudi, dušností, a příznaky podobnými chřipce (zimnice, horečka, bolesti svalů a kloubů, únava, bolest hlavy). Vedle toho jsou zaměstnanci vystaveni

vyššímu riziku vzniku gastrointestinálních (průjem, karcinom žaludku), dýchacích (chrapot, kašel, zánět horních cest dýchacích) a muskuloskeletálních problémů (onemocnění svalů a kloubů) (Sigsgaard et al. 1994, Marth et al. 1997, Rapiti et al. 1997, Ivens et al. 1999, Krajewski et al. 2002, Kozajda et Szadkowska-Stańczyk 2009, Chan et Leung 2011, El-Wahab et al. 2014). Eker et al. (2012) navíc u 40% zaměstnanců rozsáhlého zařízení pro nakládání s odpady zjistili výskyt metabolického syndromu, který zahrnuje řadu projevů jako je inzulínová rezistence a intolerance glukózy, diabetes mellitus, obezita, akumulace břišního tuku, dyslipidémie (porucha metabolismu tuků) a hypertenze. Zaměstnanci dotříd'ovacích zařízení mohou být dále vystaveni riziku akutních infekčních onemocnění v důsledku inhalace bioaerosolu obsahujícího infekční částice uvolněné z odpadu (Alonso et al. 2015).

3.2.1. Mykotoxiny

Důležitou vlastností některých druhů hub je schopnost produkce mykotoxinů. Mykotoxiny jsou nízkomolekulární (většinou do 700g/mol) organické sloučeniny, které jsou produktem sekundárního metabolismu toxinogenních druhů hub (Chełkowski 1991). Vyznačují se vysokou odolností vůči nepříznivým vnějším faktorům (např. vysoká či nízká teplota), což jim umožňuje setrvávat v prostředí ještě dlouho poté, co byla toxinogenní houba z prostředí eliminována (Alborch et al. 2011). Z hlediska lidského zdraví je další důležitou vlastností mykotoxinů jejich synergismus (Speijers et Speijers 2004).

Mezi potenciálně toxinogenní mikroskopické houby, které byly z pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení izolovány, patří některé druhy rodu *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys* a *Trichoderma* (Jarvis et al. 1998, Dijksterhuis et Samson 2007, Bräse et al. 2009, Marin et al. 2013).

Detekcí mykotoxinů v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení či v krvi zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení se dosud zabývalo jen několik studií (Viegas et al. 2014b, Viegas et al. 2017, Viegas et al. 2018). Degen et al. (2003) v krvi zaměstnanců manipulujících s odpadem zjistili přítomnost ochratoxinu A, Viegas et al. (2014b) detekovali v krvi zaměstnanců dotříd'ovacího zařízení zvýšené koncentrace aflatoxinu B1. Další výskyt mykotoxinů ochratoxinu A a enniatinu B v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení byl zaznamenán ve studii Viegas et al. (2018).

Ochratoxin A je přítom mykotoxin, který v organismu působí nefrotoxicky, poškozuje játra, způsobuje enteritidu, imunosupresi, teratogenezi a karcinogenezi (ledvin) (Smith et Moss 1985) a Aflatoxin B1 je považován za nejsilnější přírodní karcinogen, který působí genotoxicky, cytotoxicky a hepatotoxicky (O'Brien et al. 1983, Golli-Bennour et al. 2010). Vzhledem k detekci vyššího počtu potenciálně toxinogenních druhů hub lze v prostředí dotříd'ovacích zařízení očekávat přítomnost i dalších mykotoxinů (Viegas et al. 2017).

Kromě mykotoxinů uvolňují houby do svého okolí další látky, které mohou negativně působit na lidské zdraví. Významnou skupinu představují těkavé organické látky, které mohou přispívat k podráždění očí a dýchacích cest (Korpi et al. 2009) a dále beta-1,3-D-glukany (jedna ze složek buněčných stěn hub), z nichž některé mohou při vniknutí do lidského organismu vyvolávat alergické a jiné zánětlivé reakce (Yadomae 2000).

3.2.2. Prachové částice (PM)

Velký význam z hlediska zdravotních rizik má i expozice zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení prachovým částicím (PM - Particulate Matter). Hlavními složkami PM jsou přechodné kovy, ionty (sírany, dusičnany), organické sloučeniny, minerály, reaktivní plyny a materiály biologického původu. Aerodynamický průměr těchto částic se pohybuje v rozmezí 0,1 - 25 μ m. Obecně platí, že čím jsou prachové částice menší, tím hlouběji prostupují dýchacím systémem člověka a zároveň se zvyšuje i jejich toxicita (Valavanidis et al. 2008). Kromě toho mohou prachové částice fungovat jako nosiče houbových částic a jejich metabolitů do dýchacího systému člověka, čímž zvyšují jejich význam z hlediska lidského zdraví (Viegas et al. 2014a).

3.3. Metody odběru vzorků mikroskopických hub z pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení

Hlavním problémem při porovnávání výsledků různých studií zabývajících se kontaminací dotříd'ovacích zařízení mikroskopickými houbami je nejednotnost použité metodiky. K posouzení kontaminace pracovního prostředí je doporučeno kombinovat odběr vzorků mikroskopických hub z ovzduší s odběrem vzorků mikroskopických hub z povrchu (Viegas et al. 2014a). Přesto je odběr vzorků z povrchu prováděn pouze

okrajově (Park et al. 2011, Viegas et al. 2014a). Hlavním důvodem je omezení odběru vzorků z povrchu na jednu základní metodu, jejíž vyhodnocení může být komplikováno přítomností nežádoucí kontaminace, a dále skutečnost, že základním kritériem pro hodnocení zdravotních rizik zaměstnanců je expozice prostřednictvím inhalace částic mikroskopických hub (Marth et al. 1997, Ivens et al. 1999, Krajewski et al. 2002, Perez et al. 2006, Athanasiou et al. 2010).

3.3.1. Metody odběru vzorků mikroskopických hub z povrchu

K odběru vzorků mikroskopických hub z povrchu jsou obecně používány dvě metody, metoda stěrů a metoda otisků. Vzhledem k tomu, že metoda otisků je vhodná pouze pro nízký stupeň povrchové kontaminace, je v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení používána výhradně metoda stěrů. Výhodou této metody je možnost volby rozměru stírané plochy a dále možnost stanovení výsledného ředění vysévané suspenze za současného výběru vhodného selektivního kultivačního média.

Ve studiích, kde je metoda stěrů v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení použita, nebývají všechny základní informace o metodě uvedeny. Autoři Viegas et al. (2014a) ve své studii uvádějí pouze rozměr stírané plochy ($10 \times 10\text{cm}^2$) a dále kultivační médium, na němž byly vzorky inkubovány (MEA). Bližší informace o ředění výchozí suspenze stejně jako o použitém suplementu v kultivačním médiu uvedeny nejsou. Ve výsledcích jsou navíc zmíněny pouze druhy zachycených mikroskopických hub bez počtu KTJ na jednotku plochy. Park et al. (2011) ve své studii uvádějí pouze plochu stíraného povrchu ($3 \times 5\text{cm}^2$). Výsledky studie uvádějí pouze počet KTJ mikroskopických hub na cm^2 stírané plochy bez identifikace kultivovaných mikroskopických hub.

3.3.2. Metody odběru vzorků mikroskopických hub z ovzduší

Metody, které se používají pro odběr vzorků mikroskopických hub z ovzduší, jsou založeny na 3 základních principech zachytu částic (Eduard et Heederik 1998, Klánová 2000):

- zachyt částic mikroskopických hub na pevnou kultivační půdu (impakční metoda)
- zachyt částic mikroskopických hub na membránový filtr (metoda membránových filtrů)
- zachyt částic mikroskopických hub do kapaliny (impingerová metoda)

Metody se od sebe mohou odlišovat účinností záchytu mikroorganismů, opakovatelností měření a také možnostmi záchytu pouze živých nebo živých i mrtvých mikroorganismů současně. Pro odběr vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí v dotříd'ovacích zařízeních jsou nejčastěji využívány metody založené na záchytu částic na pevnou kultivační půdu (Rahkonen 1992, Marchand et al. 1995, Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen et Hänninen 2006, Lehtinen et al. 2013, Pinto et al. 2015, Santos et al. 2018 aj.) a na membránový filtr (Würtz et Breum 1997, Tolvanen et al. 1999, Krajewski et al. 2002, Tolvanen et Hänninen 2006, Park et al. 2011aj.), impingerová metoda má spíše okrajové využití (Nersting et al. 1991, Sigsgaard et al. 1994).

Jednotlivé metody se od sebe mohou odlišovat účinností záchytu mikroorganismů, dále opakovatelností měření a také v možnosti záchytu pouze živých nebo živých i mrtvých mikroorganismů současně. (Eduard et Heederik 1998). Tab. 3 uvádí přehled koncentrací částic mikroskopických hub naměřených v ovzduší pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení v závislosti na použitém typu vzorkovacího zařízení.

Tab. 3: Přehled naměřených koncentrací KTJ mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení v závislosti na použitém typu vzorkovacího zařízení (A – 6stupňový Andersenův impaktor, F – filtrační vzorkovač, I – impinger, J – jednohlavý impaktor)

Literární zdroj	KTJ/m ³	Typ vzorkovacího zařízení	Druh tříděného odpadu
Nersting et al. (1991)	1,0 x 10 ² –1,5 x 10 ⁴	A	nespecifikováno
Nersting et al. (1991)	4,0 x 10 ² –1,4 x 10 ⁵	I	nespecifikováno
Malmros et al. (1992)	3,5 x 10 ² –1,8 x 10 ⁴	A	nespecifikováno
Rahkonen (1992)	6,5 x 10 ² –2,5 x 10 ⁴	A	nespecifikováno
Sigsgaard et al. (1994)	5,2 x 10 ³ (5,4 x 10 ³)*	I	papírový odpad
Sigsgaard et al. (1994)	1,4 x 10 ⁴ (3,1 x 10 ⁴)*	I	nespecifikováno
Marchand et al. (1995)	8,0 x 10 ² –7,2 x 10 ³	A	nespecifikováno
Würtz et Breum (1997)	9,6 x 10 ² –2,3 x 10 ⁵	F	papír
Reinthaler et al. (1999)	3,0 x 10 ⁴ –1,6 x 10 ⁵	A	nespecifikováno

Literární zdroj	KTJ/m ³	Typ vzorkovacího zařízení	Druh tříděného odpadu
Tolvanen et al. (1999)	3,6 x 10 ³ –1,4 x 10 ⁵	F	nespecifikováno
Tolvanen et al. (1999)	1,0 x 10 ⁴ –1,3 x 10 ⁵	A	nespecifikováno
Tolvanen (2001)	3,3 x 10 ² –2,0 x 10 ⁵	A	nespecifikováno
Tolvanen (2001)	0–1,2 x 10 ⁴	F	nespecifikováno
Krajewski et al. (2002)	8,4 x 10 ⁴ –1,3 x 10 ⁵	F	nespecifikováno
Kozajda et al. (2009)	1,9 x 10 ³ –1,6 x 10 ⁵	A	nespecifikováno
Park et al. (2011)	2,4 x 10 ⁴ –1,1 x 10 ⁵	F	nespecifikováno
Breza-Boruta (2012)	0–5,3 x 10 ⁴	J	nespecifikováno
Lehtinen et al. (2013)	1,5 x 10 ³ –2,9 x 10 ⁵	A	nespecifikováno
Kozajda et al. (2015)	1,9 x 10 ³ –3,4 x 10 [□]	A	nespecifikováno
Černá et al. (2015)	2,6 x 10 ³ –3,9 x 10 ⁴	J	papír
Pinto et al. (2015)	1,5 x 10 ⁴ *	J	sklo
Černá et al. (2016)	2,0 x 10 ² –1,7 x 10 ⁶	F	plasty
Černá et al. (2016)	3,0 x 10 ² –6,4 x 10 ⁴	J	plasty
Černá et al. (2017)	2,0 x 10 ² –1,8 x 10 ⁶	F	plasty
Santos et al. (2018)	2,0 x 10 ¹ –2,8 x 10 ⁴	J	nespecifikováno

* Průměr hodnot (směrodatná odchylka)

Z Tab. 3 je patrné, že naměřené koncentrace mikroskopických hub v rámci jedné studie se v závislosti na použitém typu vzorkovacího zařízení mohou výrazně lišit (až o 1 řád). Přesto byly ve všech případech zjištěny vysoké koncentrace hub v ovzduší. Podobným hodnotám koncentrací mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí jsou vystaveni i zaměstnanci jiných zařízení pro nakládání s odpady (např. kompostárna, skládka odpadů, spalovna odpadů, čistírna odpadních vod), viz Tab. 4.

Tab. 4: Přehled naměřených koncentrací KTJ mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí různých typů zařízení pro nakládání s odpady v závislosti na použitém typu vzorkovacího zařízení (A – 6stupňový Andersenův impaktor, B – Burkardův vzorkovač, F – filtrační vzorkovač, J – jednohlavý impaktor)

Literární zdroj	Zařízení pro nakládání s odpady	KTJ/m ³	Typ vzorkovacího zařízení
Rahkonen et al. (1990)	skládka odpadů	2,0 x 10 ¹ –3,0 x 10 ⁴	A
Rahkonen (1992)	spalovna odpadu	1,3 x 10 ² –7,3 x 10 ⁴	A
Marchand et al. (1995)	kompostárna	9,0 x 10 ² –1,1 x 10 ³	A
Breum et al. (1997)	sběr odpadu	2,0 x 10 ³ –3,4 x 10 ⁵	F
Reinthalder et al. (1999)	kompostárna	5,0 x 10 ² –1,2 x 10 ⁴	A
Reinthalder et al. (1999)	zemědělská kompostárna	2,7 x 10 ² –1,5 x 10 ⁴	A
Reinthalder et al. (1999)	skládka odpadů	5,0 x 10 ² –5,0 x 10 ³	A
Kiviranta et al. (1999)	skládka odpadů	7,0 x 10 ¹ –2,7 x 10 ⁴	A
Kiviranta et al. (1999)	spalovna odpadu	1,6 x 10 ³ –1,6 x 10 ³	A
Kiviranta et al. (1999)	sběr odpadu	7,0 x 10 ¹ –2,3 x 10 ⁴	A
Ivens et al. (1999)	sběr odpadu	3,0 x 10 ³ –1,9 x 10 ⁵	F
Lavoie et Dunkerley (2002)	sběr odpadu	2,0 x 10 ³ –9,1 x 10 ⁴	F
Krajewski et al. (2002)	kompostárna	1,6 x 10 ³ –6,9 x 10 ⁴	F
Krajewski et al. (2002)	skládka odpadů	3,0 x 10 ² –1,1 x 10 ⁵	F
Krajewski et al. (2002)	sběr odpadu	6,2 x 10 ³ –1,3 x 10 ⁵	F
Bauer et al. (2002)	čistírna odpadních vod	4,5 x 10 ¹ –2,4 x 10 ³	F
Tolvanen et Hänninen (2006)	bioreaktor	0–3,4 x 10 ³	A
Tolvanen et Hänninen (2006)	bioreaktor	0–6,0 x 10 ³	F
Cyprowski et al. (2008)	čistírna odpadních vod	1,1 x 10 ¹ –1,7 x 10 ³	B
Teixeira et al. (2013)	čistírna odpadních vod	3,7 x 10 ² –1,4 x 10 ⁴	J

3.3.2.1. Impakční metoda

Základním principem impakční metody („impaction method“) je záchyt částic mikroskopických hub nasávaných z ovzduší na povrch pevné kultivační půdy v Petriho misce, která bývá uložena v hlavici vzorkovače (impaktor). Petriho misky jsou po odběru vzorků inkubovány v termostatu standardně při 25-27 °C po dobu 5-7 dní (Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Lehtinen et al. 2013, Viegas et al. 2014a). Za účelem kultivace termofilních druhů hub (např. *Aspergillus fumigatus*) jsou Petriho misky inkubovány při vyšších teplotách v rozmezí 37-40 °C po dobu 2-4 dní (Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999).

Impakční metoda se vyznačuje vysokou rychlostí nasávaného vzduchu, která se může pohybovat v širokém rozpětí 20-200 l/min v závislosti na použitém typu impaktoru. Výhodou této metody je jednoduchá příprava impaktoru k použití bez potřeby dalšího zpracovávání vzorků po odběru, dále krátká doba odběru vzorků a především možnost podrobné identifikace zachycených mikroskopických hub na kultivační půdě. Naopak omezení této metody spočívá v možnosti vzájemného přerůstání kolonií mikroskopických hub na Petriho misce. Z tohoto důvodu by měl být důraz při použití této metody kladen především na celkový objem nasávaného vzorku vzduchu, který ovlivní výslednou hustotu pokrytí povrchu kultivačního média částicemi mikroskopických hub, a dále také na výběr vhodného kultivačního média, které může eliminovat nežádoucí doprovodnou mikroflóru (Eduard et Heederik 1998). Specifický problém představují rychle rostoucí druhy hub z pododdělení Mucoromycotina (např. rodu *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*), které povrch kultivačního média včetně pomalu rostoucích kolonií mikroskopických hub velmi rychle přerůstají a tím znemožňují přesný odečet počtu KTJ mikroskopických hub v Petriho misce. Impakční metoda navíc poskytuje informace pouze o životaschopných, kultivovatelných částicích mikroskopických hub v ovzduší.

Při hodnocení kontaminace pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení je nejčastěji používaným impaktorem 6stupňový Andersenův impaktor (Rahkonen 1992, Marchand et al. 1995, Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen et Hänninen 2006, Lehtinen et al. 2013). V porovnání s jinými impaktory se vyznačuje vyšší účinností záchytu mikroskopických hub z ovzduší (Buttner et Stetzenbach 1993, Mehta et al. 1996, Bellin et Schillinger 2001).

3.3.2.2. *Metoda membránových filtrů*

Podstatou metody membránových filtrů („membrane filters method“) je záchyt částic mikroskopických hub na povrch membránového filtru, který je umístěn ve filtrační hlavici vzorkovače. Hlavice je dále napojena na čerpadlo, jež nasává vzorek vzduchu konstantní rychlostí po stanovený čas. Oproti impakční metodě je vzorek vzduchu nasáván nízkou rychlostí vzduchu, která se může pohybovat v úzkém rozmezí 1-5 l/min v závislosti na použitém typu čerpadla. Odebraný vzorek částic mikroskopických hub zachycený na filtru může být dále zpracován cestou kultivační nebo cestou nekultivační (Eduard et Heederik 1998).

Při kultivačním zpracování je vzorek částic mikroskopických hub z membránového filtru vymýván do kapaliny, která je vysévána na vybrané kultivační médium v Petriho misce. Inkubace Petriho misek následně probíhá za stejných podmínek, jako je uvedeno výše u impakční metody.

Nekultivační cestou může být vzorek mikroskopických hub zachycených na filtru dále zpracován několika možnostmi, a to prostřednictvím průtokové cytometrie, světelné mikroskopie, epifluorescenční mikroskopie nebo rastrovací elektronové mikroskopie (Eduard et Heederik 1998).

Zpracování vzorku prostřednictvím epifluorescenční mikroskopie je součástí metody CAMNEA (Collection of Airborne Microorganisms on Nucleopore filters, Estimation and Analysis), která je podrobně popsána ve studii Palmgren et al. (1986). Tato metoda patří mezi nejvyužívanější metody odběru a zpracování vzorků mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady (např. Tolvanen et al. 1999, Tolvanen et Hänninen 2006, Lehtinen et al. 2013). Velká výhoda této metody spočívá v určení celkového počtu živých i mrtvých částic mikroskopických hub ve vzorku vzduchu, naopak její nevýhodou je fixace vzorku, která znemožňuje podrobnější identifikaci zachycených mikroskopických hub (Eduard et Heederik 1998). Z těchto důvodů je při použití metody membránových filtrů někdy využívána kombinace zpracování odebraných vzorků mikroskopických hub na filtru cestou kultivační a zároveň prostřednictvím epifluorescenční mikroskopie, což umožňuje podrobnější posouzení kontaminace ovzduší pracovního prostředí mikroskopickými houbami (Flannigan 1997, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen et Hänninen 2006).

3.3.2.3. *Impingerová metoda*

Principem impingerové metody („impinger method“) je nasátí vzorku vzduchu přes trysku do kapaliny, v níž následně dochází k zachycení částic mikroskopických hub. Nejčastěji využívanou cestou zpracování odebraného vzorku je kultivace. Použití impingerové metody při hodnocení kontaminace ovzduší pracovního prostředí dotříd'ovacích zařízení je spíše okrajové a týká se především starších studií (Nersting et al. 1991, Sigsgaard et al. 1994). Výhodou této metody je možnost širokého nastavení rychlosti nasávaného vzduchu (0,9-300 l/min) (Lembke et al. 1981, Nersting et al. 1991, Sigsgaard et al. 1994, Viegas et al. 2014a). Hlavní omezení této metody vyplývá z hydrofobnosti částic mikroskopických hub (Wosten et al. 1993, Eduard et Heederik 1998).

Viegas et al. (2014a) ve své studii použili impingerovou metodu v rámci molekulární analýzy společenstva mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí dotříd'ovacího zařízení. Prostřednictvím molekulární analýzy bylo možné identifikovat životaschopné, neživotaschopné a obtížně kultivovatelné částice mikroskopických hub ve vzorku. V pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení je však použití molekulárních metod limitováno přítomností velkého množství houbové DNA ve vzorku, která znemožňuje detekci méně četných druhů.

3.4. Expozice zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení mikroskopickým houbám

Ke kontaktu zaměstnance s částicemi mikroskopických hub dochází prostřednictvím expozičních cest, které vedou od zdroje (kontaminovaný odpad) přes transportní médium až k místu kontaktu s organismem. V závislosti na místě kontaktu organismu s částicí mohou být zaměstnanci částicím mikroskopických hub exponováni třemi expozičními cestami, a to cestou inhalační, gastrointestinální a dermální (Park et al. 2011).

3.4.1. Inhalační expozice

Inhalační expozice je charakterizována vdechováním částic mikroskopických hub z okolního ovzduší (dýchací zóny) člověka. Jelikož je inhalační expozice v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení nejvýznamnější expoziční cestou, stává se měření koncentrace částic v ovzduší nejčastěji používanou metodou k hodnocení expozice

zaměstnanců mikroskopickým houbám (Nersting et al. 1991, Malmros et al. 1992, Rahkonen 1992, Sigsgaard et al. 1994, Marchand et al. 1995, Würtz et Breum 1997, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen 2001, Krajewski et al. 2002, Kozajda et al. 2009, Park et al. 2011, Breza-Boruta 2012, Lehtinen et al. 2013, Kozajda et al. 2015, Černá et al. 2015, Černá et al. 2016, Černá et al. 2017, Santos et al. 2018).

Jak vyplývá z Tab. 3 (viz kap. 3.3.2.), zaměstnanci dotříd'ovacích zařízení jsou vystaveni širokému rozpětí koncentrací částic mikroskopických hub v ovzduší, které dosahuje až k hodnotě $1,8 \times 10^6$ KTJ/m³. Dlouhodobá expozice vysokým koncentracím mikroskopických hub přitom může pro zaměstnance představovat určité zdravotní riziko.

Expozice zaměstnanců částicím mikroskopických hub může být ovlivněna mnoha faktory, mezi něž patří (Malmros et al. 1992, Rahkonen 1992, Poulsen et al. 1995a, Kiviranta et al. 1999, Viegas et al. 2014a, Viegas et al. 2014b):

- roční období (ovlivňuje mikroklimatické podmínky)
- hromadění odpadu v dotříd'ovacím zařízení (především vlhkého)
- systém větrání v dotříd'ovacím zařízení
- frekvence a kvalita úklidu pracovního prostředí
- agregace částic mikroskopických hub v ovzduší (rychlejší sedimentace)

3.4.2. Gastrointestinální expozice

Částice mikroskopických hub, které zaměstnancům ulpívají na oblečení a na obličeji, se mohou stát zdrojem gastrointestinální expozice (Ivens et al. 1999, Park et al. 2011). Otřením kontaminovaného oblečení či ruky o rty (např. při otírání potu, škrábání, smrkání) a následné olíznutí rtů může vést k ingesci částic mikroskopických hub. Park et al. (2011) ve své studii zjistili, že zaměstnancům dotříd'ovacích zařízení na obličeji během jedné pracovní směny ulpí průměrně $1,6 \times 10^4$ KTJ mikroskopických hub/cm². Pro porovnání popelářům téže studie na obličeji průměrně ulpívalo $3,7 \times 10^5$ KTJ mikroskopických hub/cm². Ze studie dále vyplynulo, že vysoké množství částic mikroskopických hub se během pracovního výkonu zachytí i na různých částech oděvu zaměstnanců (rukavice - $\varnothing 6,5 \times 10^6$ KTJ/cm², rukáv - $\varnothing 3,2 \times 10^6$ KTJ/cm², ramena - $\varnothing 1,6 \times 10^5$ KTJ/cm², kapesník - $\varnothing 3,3 \times 10^5$ KTJ/cm²).

3.4.3. Dermální expozice

Sedimentace částic mikroskopických hub z ovzduší na povrch těla zaměstnanců, případně otěr exponované kůže o kontaminovaný zdroj, je původcem dermální expozice zaměstnanců mikroskopickým houbám. Ve výše zmíněné studii Park et al. (2011) bylo na exponovaných částech těla zaměstnanců sbírajících odpad detekováno značné množství částic mikroskopických hub (obličej - $\approx 3,7 \times 10^5$ KTJ mikroskopických hub/cm², hřbet ruky - $\approx 2,6 \times 10^6$ KTJ/cm², dlaň ruky - $\approx 6,4 \times 10^6$ KTJ/cm²).

3.4.4. Limity pracovní expozice

K hodnocení úrovně mikrobiologické kontaminace pracovního prostředí je nezbytné porovnání naměřených hodnot s platnými legislativními předpisy. V České republice, stejně jako ve většině evropských zemí, nejsou dosud zavedeny prahové hodnoty koncentrace mikroskopických hub v pracovním prostředí.

V rámci legislativy České republiky je možné orientační porovnání naměřených koncentrací mikroskopických hub v pracovním prostředí provést s hodnotou uvedenou ve vyhlášce č. 6/2003 Sb., kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí obytných místností některých staveb. V této vyhlášce je uveden koncentrační limit výskytu plísní v prostředí ve výši 500 KTJ/m³ za podmínky stanovení koncentrace mikroorganismů aktivním nasáváním vzduchu aeroskopem. Tato vyhláška se však vztahuje pouze na obytné místnosti staveb zařízení pro výchovu a vzdělávání, vysokých škol, škol v přírodě, staveb pro zotavovací akce, staveb zdravotnických zařízení léčebně preventivní péče, ústavů sociální péče, ubytovacích zařízení, staveb pro obchod a staveb pro shromažďování většího počtu osob (např. kulturní zařízení). Pracovní prostředí v této vyhlášce zahrnuto není.

Orientační hodnocení úrovně kontaminace pracovního prostředí mikroskopickými houbami je možno dále provádět na základě mezních hodnot, které byly navrženy různými institucemi, organizacemi či výzkumnými pracovníky (např. AIHA (American Industrial Hygiene Association), CEC (Commission of the European Communities), IAQA (Indoor Air Quality Association), WHO (World Health Organization), Clark 1985, Erman et al. 1989, Krzysztofik 1992, Malmros et al. 1992, Dutkiewicz et Mołoczniak 1993). Navržené mezní hodnoty se pohybují v širokém rozpětí hodnot $1,0 \times 10^1 - 1,0 \times 10^4$ KTJ/m³ pro neprůmyslové pracovní prostředí (a domácnosti) a

$< 1,0 \times 10^2 - 1,0 \times 10^7$ KTJ/m³ pro průmyslové pracovní prostředí (Górny 2004). Polský Výbor pro nejvyšší přípustné koncentrace a intenzity škodlivých látek na pracovišti uvádí mezní hodnotu pro koncentraci mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí ve výši $5,0 \times 10^4$ KTJ/m³ (Skowroń et Górny 2012). Górny et Dutkiewicz (2002) ve své studii však upozorňují, že v případě výskytu patogenních druhů mikroskopických hub může dojít k rozvoji zdravotních problémů i při nižších koncentracích než je navržená referenční hodnota.

3.5. Preventivní a ochranná opatření

Z důvodu minimalizace zdravotních rizik je zaměstnancům i zaměstnavatelům doporučováno přijmout řadu technických i organizačních opatření, která pomohou omezit kontaminaci pracovního prostředí biologickým agens.

Základním opatřením je důsledné používání ochranných pracovních pomůcek (pracovní rukavice, roušky, pracovní oděv) a zvýšená osobní hygiena během pracovní doby i po jejím skončení (důkladné mytí rukou, sprchování po skončení pracovní směny, konzumace jídla a pití pouze v prostorech k tomu určených (McCunney 1986, Sigsgaard et al. 1990, Marchand et al. 1995, Kozajda et Szadkowska-Stańczyk 2009, Viegas et al. 2014b). Dalším nezbytným opatřením je pravidelná výměna vzduchu uvnitř dotříd'ovacího zařízení a mokrý úklid pracovních a společných prostor včetně hygienických zařízení. V rámci prostorové organizace dotříd'ovacího zařízení by měly být pracovní prostory odděleny od společných prostor a hygienických zařízení (Marchand et al. 1995, Marth et al. 1997).

Zaměstnanci by měli být dále podrobně informováni o bezpečnosti práce a zdravotním riziku, kterému jsou při výkonu práce vystaveni. Zároveň by zaměstnanci měli navštěvovat pravidelné lékařské prohlídky a při zjištění zdravotních obtíží by měli být ihned přeřazeni na jinou pracovní pozici (Marchand et al. 1995, Kiviranta et al. 1999, Kozajda et Szadkowska-Stańczyk 2009, Athanasiou et al. 2010, Viegas et al. 2014b).

4. VLASTNÍ PRÁCE

Tato disertační práce má charakter souboru prací – vědeckých studií, jejichž výsledky jsou prezentovány formou článků ve vědeckých recenzovaných časopisech (viz Příloha 1-4). Doplnující komentář k jednotlivým článkům propojuje jednotlivé studie v následující kapitole.

STUDIE I:

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2016: Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 29(3): 493–502.

STUDIE II:

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2017: Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities. *Medycyna Pracy* 68(1): 1–9.

STUDIE III:

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2015: Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant-Case study in Czech Republic. In: *SGEM2015 Conference Proceedings, Book 4. 15th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2015, Albena, Bulgaria, June 18–24: 755–762.*

STUDIE IV:

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M. (2018/2019): Fungal contamination in working environment of waste sorting facilities: A review. Předáno do redakce recenzovaného vědeckého časopisu *Scientia Agriculturae Bohemica*.

5. KOMENTÁŘE K PUBLIKACÍM

5.1. Studie I

Studie, které se problematikou kontaminace pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady zabývaly, dokládají, že se jedná o prostředí se zvýšenou koncentrací mikroskopických hub v ovzduší, která se může pohybovat v širokém rozmezí 10^1 - 10^6 KTJ/m³ vzduchu v závislosti na použité metodice odběru a následném zpracování vzorků (Rahkonen et al. 1990, Nersting et al. 1991, Malmros et al. 1992, Rahkonen 1992, Sigsgaard et al. 1994, Marchand et al. 1995, Breum et al. 1997, Würtz et Breum 1997, Ivens et al. 1999, Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Bauer et al. 2002, Krajewski et al. 2002, Lavoie et Dunkerley 2002, Heldal et al. 2003a, Heldal et al. 2003b, Tolvanen et Hänninen 2006, Cyprowski et al. 2008, Kozajda et al. 2009, Park et al. 2011, Breza-Boruta 2012, Lehtinen et al. 2013, Teixeira et al. 2013, Kozajda et al. 2015 aj.). Právě nejednotnost použité metodiky pro odběr a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší je hlavním problémem porovnávání výsledků těchto studií.

Studie I je zaměřena na výběr a optimalizaci metody pro zavedení jednotné standardní metodiky odběru a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady. Ve studii jsme stanovili několik kritérií, která by vybraná metoda měla splňovat:

- metoda odběru a zpracování vzorků by měla být jednoduchá a snadno proveditelná
- vybrané vzorkovací zařízení by mělo citlivě reagovat na velké výkyvy koncentrací hub v ovzduší během pracovního procesu (vytíženost třídící linky, míra kontaminace odpadu)
- výsledky měření by měly být konsistentní a opakovatelné (odběrové zařízení by mělo zaznamenávat rozdíly v koncentracích mikroskopických hub mezi jednotlivými provozy na zpracování odpadu)
- metoda odběru vzorků by měla splňovat kritérium nízké úrovně provozních nákladů

Z důvodu okrajového využití impingerové metody ve studiích zabývajících se problematikou kontaminace pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady mikroskopickými houbami jsme do **studie I** zařadili pouze metodu impakční a metodu membránových filtrů.

Porovnání obou metod jsme uskutečnili ve dvou dotřídovacích zařízeních plastového odpadu (A, B) v České republice. V obou zařízeních jsme nejprve provedli analýzu pracovního prostředí, na jejímž základě jsme vybrali místo pro odběr vzorků, kde jsme předpokládali nejvyšší expozici zaměstnanců bioaerosolu a prachu. Toto místo bylo u dopravníkového pásu, kde zaměstnanci vyřídí plastový odpad. Odběr vzorků jsme uskutečnili v inhalační zóně zaměstnanců, tj. ve výšce 150 cm nad zemí. Vzorky vzduchu jsme odebírali v roce 2013 a 2014 (říjen 2013, leden 2014 a květen 2014). V každém období jsme během jedné pracovní směny oběma metodami vykonali celkem 10 měření v hodinových intervalech, první měření jsme provedli krátce před začátkem pracovní směny (8h pracovní směna) a poslední 1 h po skončení pracovní směny. Zachycené mikroskopické houby jsme inkubovali na 4 různých kultivačních médiích s 6 opakováními od každého média. Na každé Petriho misce jsme zaznamenávali celkový počet KTJ mikroskopických hub a zároveň jsme kolonie rozdělili na morfotypy (morfologicky stejné kolonie hub). Od každého morfotypu jsme pro další identifikaci izolovali na kultivační médium MEA jednu kolonii. Identifikace izolovaných morfotypů mikroskopických hub je dále předmětem **studie II**. Celkem bylo ve **studii I** zpracováno 2880 vzorků (Petriho misek).

V rámci impakční metody jsme k odběru vzorků mikroskopických hub z ovzduší vybrali přenosný jednohlavý vzdušný aeroskop Sampl'air Lite (AES Laboratoire Inc., Francie), jehož výhodou je vysoká rychlost nasávání vzduchu, nízká váha a také snadná použitelnost bez nutnosti dalšího zpracování odebraných vzorků. Jelikož vyhláška č. 6/2003 Sb. nařizuje použití aeroskopu jako vzorkovacího zařízení pro stanovení koncentrace plísní v ovzduší vnitřního prostředí, je vzdušný aeroskop jedním z nejrozšířenějších vzorkovacích zařízení v komerčních laboratořích v České republice. Kromě toho byl vzdušný aeroskop v pracovním prostředí zařízení pro nakládání s odpady opakovaně použit pro odběr vzorků jak mikroskopických hub, tak i bakterií (Breza-Boruta 2012, Malta-Vacas et al. 2012, Viegas et al. 2014a, Pinto et al. 2015, Santos et al. 2018).

Vzhledem k tomu, že při použití vzdušného aeroskopu jsou částice mikroskopických hub po celou dobu odběru směřovány (prostřednictvím otvorů ve filtrační hlavici) na několik bodů na povrchu kultivačního média v Petriho misce, může vlivem hromadění vyššího počtu KTJ mikroskopických hub v blízkém okolí docházet ke vzájemnému přerůstání či potlačovanému růstu a tím k nepřesnému odečtu počtu KTJ mikroskopických

hub (Eduard et Heederick 1998). Ve vysoce kontaminovaném prostředí se proto při použití tohoto typu vzorkovače obecně doporučuje nastavit nejnižší rychlost nasávání vzduchu a nejkratší nastavitelný čas odběru vzorků. V důsledku optimalizace metody pro použití v pracovním prostředí zařízení pro nakládání s odpady jsme vzdušný aeroskop nastavili na pomalý režim, při němž nasával vzduch rychlostí 100 l/min (3 m/s). Objem čerpaného vzorku vzduchu jsme nastavili na 50 l, tedy 30 s doby odběru jednoho vzorku. Stejný objem odebíraných vzorků vzduchu pro záchyt mikroskopických hub z ovzduší dotřídovacích zařízení byl použit i ve studii Malta-Vacas et al. (2012) a Viegas et al. (2014a). V těchto studiích byl však aeroskop nastaven na vyšší rychlost nasávání vzduchu (140l/min) s kratší dobou odběru. Při odběru vzorků v průběhu optimalizace metody se nám jevila nižší rychlost nasávání vhodnější, neboť při vyšších rychlostech docházelo vlivem silnějšího proudění vzduchu ke vzniku důlků v kultivačním médiu. Během inkubace poté docházelo k přerůstání níže uložených KTJ mikroskopických hub, které byly obtížně počítatelné, a zároveň nebylo možné tyto kolonie izolovat pro pozdější determinaci.

Odečet počtu KTJ mikroskopických hub jsme provedli po 72h inkubace Petriho misek v termostatu při teplotě 25 ± 1 °C. Po této době inkubace byly jednotlivé kolonie mikroskopických hub již dobře viditelné a morfologicky odlišitelné, izolace hub proběhla bez kontaminace okolními koloniemi hub. Během optimalizace metody při odečtech pozdějších než 72h inkubace již docházelo k viditelnému přerůstání kolonií mikroskopických hub, které ztížilo přesný odečet počtu zachycených KTJ hub a zároveň izolaci jednotlivých kmenů hub díky časté kontaminaci okolními koloniemi hub.

V případě metody membránových filtrů jsme použili filtrační odběrové zařízení složené z 37mm hlavice (37-mm Filter Holder, BGI Inc., USA) napojené na čerpadlo Leland Legacy Sample Pump (SKC Ltd., UK). Výhodou filtračního odběrového zařízení je možnost naředění odebraného vzorku při jeho následném zpracování (vymývání mikroskopických hub z filtru do kapaliny). Naředěná suspenze je navíc důkladně rozetřena po celém povrchu kultivačního média v Petriho misce, což umožňuje prostorově oddělený růst jednotlivých kolonií hub. Následný odečet celkového počtu kolonií (KTJ) včetně izolace hub je tak snazší a přesnější (Martinez et al. 2004).

Vybrané vzorkovací zařízení je v komerčních laboratořích běžně používáno k měření koncentrace prachu v ovzduší. V pracovním prostředí zařízení pro nakládání s odpady je metoda membránových filtrů velmi často používanou metodou pro odběr vzorků

mikroskopických hub z ovzduší (Würtz et Breum 1997, Tolvanen et al. 1999, Krajewski et al. 2002, Heldal et al. 2003a, Tolvanen et Hänninen 2006, Park et al. 2011 aj.). V rámci metody jsme do hlavice filtračního odběrového zařízení použili předsušený nitrocelulózový membránový filtr Pragopor 4 (Pragochema, Česká republika) o průměru 35 mm s velikostí pórů 0,85 μm . Velikost pórů jsme zvolili tak, aby membránový filtr zachytil i jednotlivé houbové buňky. Filtr jsme pinzetou vložili do sterilního držáku membránového filtru uvnitř 37mm hlavice vzorkovacího zařízení, kterou jsme připojili gumovou hadicí k průtokovému čerpadlu kalibrovanému na průtok 5 l/min. Menší průměr membránových filtrů oproti vzorkovací hlavici nám umožnil snadnější manipulaci při vložení a vyndání filtru z držáku a zároveň zamezil zvlnění membránového filtru při jeho vyndávání, což by jinak mohlo způsobit uvolnění částic mikroskopických hub z filtru. Membránový filtr přitom plně pokrýval plochu, kterou vzduch v hlavici procházel. Objem nasávaného vzorku vzduchu jsme na základě studií Tolvanen (2001) a Durand et al. (2002) stanovili na 120 l, tedy 24 minut odběru 1 vzorku. Hlavici vzorkovacího zařízení jsme při odběrech vzorků nasměrovali šikmo vzhůru. Při nasměrování hlavice rovně vzhůru byla účinnost záchytu částic mikroskopických hub vzorkovacím zařízením výrazně nižší. Po uplynutí doby odběru jsme membránový filtr z hlavice zařízení opatrně přenesli do sterilní vzduchotěsné polypropylenové nádoby, uzavřeli a přenesli do laboratoře k dalšímu zpracování. V laboratoři jsme do polypropylenového kelímku přidali 10 ml sterilní destilované vody s přídatkem 0,05 ml smáčedla Tween 80. Uzavřený kelímek jsme následně po dobu 15 min protřepávali na třepačce za účelem uvolnění KTI mikroskopických hub z filtru do kapaliny. Poté jsme ze vzniklé suspenze odebrali 0,2 ml vzorku, který jsme pomocí skleněné hokejky rozetřeli po celém povrchu kultivačního média v Petriho misce. Následně jsme Petriho misky inkubovali a zpracovávali shodným způsobem jako v případě impakční metody.

Ve studii jsme kromě účinnosti odběrových zařízení testovali i účinnost záchytu částic mikroskopických hub 4 různými kultivačními médii s přídatkem antibiotik. Těmito kultivačními médii byly sladový agar (MEA – Malt Extract Agar) s přídatkem chloramfenikolu, Sabouraudův dextrózový agar (SDA – Sabouraud Dextrose Agar) s přídatkem chloramfenikolu, DRB agarová báze (Dichloran Rose-Bengal agar) s přídatkem chloramfenikolu a YGC připravené plotny (Yeast extract Glucose Chloramphenicol agar). Ve studiích zabývajících se záchytem mikroskopických hub z ovzduší zařízení pro nakládání s odpady jsou kultivační média MEA, SDA a DRBC

běžně používána (Rahkonen 1992, Marchand et al. 1995, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen 2001, Krajewski et al. 2002, Tolvanen et Hänninen 2006, Park et al. 2011, Lehtinen et al. 2013). Kultivační médium YGC jsme do studie zahrnuli za účelem rozšíření počtu testovaných kultivačních médií, která jsou používána k odběru vzorků mikroskopických hub z ovzduší vnitřního prostředí (Borrego et al. 2012).

Z výsledků **studie I** vyplynulo, že počet zachycených KTJ mikroskopických hub v m³ vzduchu byl závislý na typu použitého vzorkovače, na době odběru vzorku během pracovní směny a na použitém typu kultivačního média. Vzdušný aeroskop zachycoval konsistentně nižší koncentrace KTJ mikroskopických hub ve srovnání s filtračním odběrovým zařízením. Filtrační odběrové zařízení zachycovalo počty KTJ mikroskopických hub v m³ vzduchu v rozmezí 10² – 10⁶ KTJ, zatímco vzdušný aeroskop v rozpětí 10² – 10⁴ KTJ mikroskopických hub v m³ vzduchu. Nižší schopnost vzdušného aeroskopu zachytit mikroskopické houby v porovnání s jinými typy vzorkovačů byla pozorována i v jiných studiích (Buttner et Stetzenbach 1993, Bellin et Schillinger 2001, Yao et Mainelis 2006, Yao et Mainelis 2007). Nicméně ze získaného rozsáhlého souboru dat jsme nezjistili statisticky průkazné interakce mezi druhem vzorkovače a ostatními prediktory (typ dotříd'ovacího zařízení, doba odběru vzorku během pracovní směny, kultivační médium), což naznačuje, že oba vzorkovače reagovaly stejně citlivě na kolísání koncentrací mikroskopických hub v ovzduší v průběhu pracovní směny. Díky tomu by mohl být pro tyto dva vzorkovače prospektivně zaveden kalibrační koeficient.

Mezi jednotlivými měřeními v průběhu pracovní směny byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v počtu zachycených KTJ mikroskopických hub v ovzduší. V průběhu pracovní směny jsme zaznamenali nejprve rostoucí trend v počtu zachycených KTJ mikroskopických hub a později jeho stagnace až mírný pokles. Tento trend zřejmě souvisel s nárůstem množství vytríděného odpadu od začátku směny a poté s klesající intenzitou třídícího procesu ke konci směny, která souvisela s vyčerpáním zásob odpadu připraveného k dotřídění. Rozdíl v naměřených koncentracích mohl být částečně ovlivněn i kvalitou právě tříděného odpadu (množstvím mikroskopických hub na odpadu) (Würtz et Breum 1997) a také technologií dotříd'ovacího procesu (např. otevřený dopravní pás, účinnost větracího systému, hromadění vlhkého odpadu v dotříd'ovacím zařízení, organizace práce) (Kiviranta et al. 1999, Park et al. 2011). Jednorázový odběr vzorku mikroskopických hub z ovzduší dotříd'ovacích zařízení odpadu tedy nemůže mít

dostatečnou vypovídací hodnotu o kontaminaci pracovního prostředí mikroskopickými houbami.

V případě kultivačních médií jsme nejvyšší počty KTJ mikroskopických hub odečetli z kultivačního média DRBC. Povrch kultivačních médií SDA, MEA a YGC byl často pokryt koloniemi hub z pododdělení Mucoromycotina, které mohou omezit růst kolonií jiných druhů hub a tím zabránit přesnému odečtu počtu KTJ hub na Petriho misce (Dijksterhuis et Samson 2006). Navíc houby z pododdělení Mucoromycotina rostou a vytvářejí rozmnožovací struktury velice rychle, čímž mohou ztížit izolaci ostatních druhů hub. Během 72h inkubační doby jsou tyto houby schopné zcela zaplnit prostor Petriho misky a přerůst tak ostatní kolonie hub rostoucí na médiu. Na kultivačním médiu DRBC je růst kolonií hub z pododdělení Mucoromycotina omezen, což umožňuje růst i ostatním druhům mikroskopických hub (King et al. 1979). Obecně lze říci, že na kultivačním médiu DRBC rostou mikroskopické houby v kompaktnějších koloniích a díky tomu je vzájemné přerůstání kolonií omezené a jednotlivé kmeny (morfotypy) jsou lépe izolovatelné bez případné kontaminace jinou kolonií houby. Právě z těchto důvodů jsme kultivačním médiem DRBC navrhli pro použití v rámci standardní metodiky odběru a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady.

Výsledky **studie I** ukázaly, že obě testované metody mohou být použity pro monitoring koncentrací mikroskopických hub v ovzduší zařízení pro nakládání s odpady. Výhodou impakční metody za použití vzdušného aeroskopu je snadná příprava zařízení k odběru i následnému zpracování vzorků. Kromě Petriho misek s kultivačním médiem nevyžaduje tato metoda vedle vzorkovače žádné jiné vybavení a je tedy vhodná k rychlému orientačnímu stanovení koncentrace mikroskopických hub v ovzduší. Naproti tomu filtrační odběrové zařízení je časově náročnější na přípravu, odběr a následné zpracování vzorků. Nicméně metoda membránových filtrů poskytuje přesnější informace o koncentraci mikroskopických hub v ovzduší, což umožňuje důkladné posouzení kontaminace pracovního prostředí mikroskopickými houbami. Z tohoto důvodu ji doporučujeme pro zavedení jednotné standardní metodiky odběru vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady.

Na základě těchto výsledků jsme metodu membránových filtrů vybrali pro odběr vzorků mikroskopických hub z ovzduší v rámci **studie II**, jejímž cílem bylo podrobně analyzovat kontaminaci pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení mikroskopickými houbami za současné identifikace nejčtenějších druhů hub. Impakční metodu za použití

vzdušného aeroskopu jsme použili za účelem orientačního porovnání koncentrací mikroskopických hub v dotřídovacím zařízení papírového odpadu v rámci 4 ročních období ve **studii III**.

5.2. Studie II

Z hlediska hodnocení zdravotních rizik zaměstnanců má zásadní význam posouzení expozice zaměstnanců biologickým agens za současné identifikace zachycených částic (Viegas et al. 2012).

Cílem **studie II** bylo podrobně analyzovat kontaminaci ovzduší pracovního prostředí 2 dotřídovacích zařízení plastového odpadu mikroskopickými houbami v průběhu celé pracovní směny v rámci 4 ročních období. K odběru a zpracování vzorků byla na základě výsledků **studie I** použita metoda membránových filtrů. **Studie II** zahrnuje kromě naměřených koncentrací částic mikroskopických hub i výsledky identifikace izolovaných morfotypů mikroskopických hub. Odběr vzorků jsme provedli dle schématu uvedeného ve **studii I** doplněného o odběr vzorků v srpnu 2014. Celkem jsme pro tuto studii zpracovali 1920 vzorků (Petriho misek).

Naměřené koncentrace částic mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí dotřídovacích zařízení plastového odpadu ve **studii II** byly víceméně srovnatelné s hodnotami uváděnými z jiných dotřídovacích zařízení (např. Nersting et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Krajewski et al. 2002, Kozajda et al. 2009, Lehtinen et al. 2013).

Z výsledků hierarchické analýzy rozptylu počtu naměřených částic mikroskopických hub vyplynulo, že koncentrace částic mikroskopických hub v ovzduší obou dotřídovacích zařízení závisela na hodině odběru vzorků v rámci pracovní směny a dále na typu kultivačního média, což potvrzuje výsledky z předchozí **studie I**. Znovu byl potvrzen nejprve rostoucí trend v počtu zachycených KTJ mikroskopických hub od začátku pracovní směny, který po 6-7 hodinách práce dosáhl maximálních hodnot počtu zachycených částic.

Syntézou výsledků **studie I** a **studie II** (a také výsledků odběru vzorků mikroskopických hub impakční metodou v srpnu 2014, nepublikováno) jsme modelem vytvořeným v rámci analýzy ANOVA vygenerovali přepočítávací koeficient 7.966 (95% interval spolehlivosti 7.548-8.408), kterým je možné počty zachycených částic KTJ mikroskopických hub v 1m³ vzduchu mezi vzdušným aeroskopem a filtračním odběrovým

zařizování přepočítávat. Tento koeficient jsme však vzhledem k zaměření **studie II** na odběr vzorků pouze prostřednictvím metody membránových filtrů nepublikovali.

Stejně jako v předchozí **studii I** jsme i v této **studii II** nejvyšší počty částic mikroskopických hub odečetli z kultivačního média DRBC. Překvapivě nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl naměřených koncentrací mikroskopických hub v ovzduší mezi 2 dotříd'ovacími zařízeními. Přitom vnitřním uspořádáním se tato dotříd'ovací zařízení značně odlišovala. V dotříd'ovacím zařízení A docházelo k dotříd'ování plastového odpadu v uzavřené místnosti, do níž vjížděl dopravníkový pás s odpadem. Nevytříděný odpad byl následně dopravníkovým pásem odvážen ven z místnosti do kontejnerů umístěných v hale, v níž docházelo k dotříd'ování a následnému lisování papíru. Naopak v dotříd'ovacím zařízení B byl dopravníkový pás, u něž docházelo k vytříd'ování plastového odpadu, umístěn v hale nedaleko (cca 20m) dopravníkového pásu pro dotříd'ování papírového odpadu. Dveře haly byly navíc celoročně otevřeny do venkovního prostoru. Právě z důvodu rozdílného prostorového uspořádání dotříd'ovacích zařízení se naměřené teploty i relativní vzdušná vlhkost během roku u obou zařízení lišily (viz **studie I**).

Ve **studii II** jsme dále porovnávali koncentrace hub naměřené v různých ročních obdobích. Nejvyšší koncentrace částic mikroskopických hub jsme naměřili v létě ($9,1 \times 10^3 - 9,0 \times 10^5$ KTJ/m³), poté na jaře ($2,1 \times 10^3 - 1,8 \times 10^6$ KTJ/m³) a na podzim ($2,0 \times 10^2 - 4,2 \times 10^5$ KTJ/m³) a nejnižší v zimě ($2,7 \times 10^3 - 2,9 \times 10^5$ KTJ/m³). Rahkonen (1992) v dotříd'ovacím zařízení komunálního odpadu naměřil nejvyšší koncentrace částic mikroskopických hub v ovzduší na podzim a poté na jaře a v létě (odběr vzorků v zimě proveden nebyl), konkrétní koncentrace hub naměřené v jednotlivých obdobích však autor ve studii neuvádí. Ve studii Tolvanen et al. (2001) bylo provedeno měření koncentrace částic mikroskopických hub v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení v rámci 4 měsíců (červenec, září, leden, srpen). Bližší informace o koncentraci hub v jednotlivých měsících uvedeny nejsou, ve studii je pouze zmínka, že nejnižší naměřená koncentrace částic byla naměřena v lednu. V další studii Lehtinen et al. (2013) provedli odběr vzorků mikroskopických hub v dotříd'ovacích zařízeních odpadu během 4 ročních období. Ani v této studii nejsou uvedeny koncentrace pro konkrétní roční období. Naměřené koncentrace částic mikroskopických hub jsou prezentovány pouze jako rozpětí počtu naměřených částic mikroskopických hub v ovzduší. Breza-Boruta (2012) v pracovním prostředí dotříd'ovacích zařízení měřila koncentraci hub v ovzduší každý měsíc od dubna do prosince téhož roku. Výsledky měření ukázaly, že mezi měsíci

konkrétního ročního období docházelo k velkým výkyvům naměřených koncentrací mikroskopických hub. Nejnižší koncentraci hub autorka naměřila v dubnu (1924 KTJ/m³) a následně v červenci (3600 KTJ/m³), nejvyšší koncentraci hub naměřila v říjnu (53433 KTJ/m³), poté v září (31310 KTJ/m³) a dále v prosinci (15460 KTJ/m³). Rozdíly v naměřených počtech KTJ mikroskopických hub v ovzduší dotříd'ovacích zařízení odpadu v rámci různých ročních období mohou poukazovat na odlišné mikroklimatické podmínky v průběhu roku, neboť teplota a relativní vlhkost patří mezi významné faktory ovlivňující růst mikroskopických hub (Breza-Boruta 2012, Viegas et al. 2014a).

Dominantní skupinu hub, které jsme z odebraných vzorků izolovali, představoval rod *Penicillium* (75,1% ze všech kultivovaných hub). Dalšími nejčastěji detekovanými houbami ve vzorcích byly rody *Aspergillus* (11,3%), *Acremonium* (3,1%), *Paecilomyces* (2,6%), *Cladosporium* (1,9%), *Rhizopus* (1,1%), *Mucor* (1,0%), *Absidia* (0,5%), *Trichoderma* (0,4%), *Alternaria* (0,1%) a *Fusarium* (0,1%). Tyto rody mikroskopických hub byly zjištěny i v dalších studiích z prostředí dotříd'ovacích zařízení (Nersting et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Kiviranta et al. 1999, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen 2001, Breza-Boruta 2012, Malta-Vacas et al. 2012, Lehtinen et al. 2013, Viegas et al. 2014a, Viegas et al. 2017), kde v různém poměru převládaly rody *Penicillium* a *Aspergillus*. K vysokému zastoupení hub rodu *Penicillium* a *Aspergillus* v dotříd'ovacích zařízeních může určitým dílem přispět ubikvitní rozšíření těchto hub a s ním spojená schopnost kolonizace širokého spektra substrátu, dále rychlá produkce velkého množství rozmnožovacích částic a jejich snadné uvolňování s následnou disperzí (Burnett 1976, Pitt 1994). Rod *Aspergillus* přitom dominuje především v teplejších oblastech, zatímco houby rodu *Penicillium* spíše v chladnějším klimatu mírného pásu (Pitt 1994).

Analýza identifikovaného houbového společenstva ve **studii II** prokázala vliv ročního období na druhové složení mikroskopických hub v ovzduší dotříd'ovacích zařízení odpadu. Druhové složení houbového společenstva mohlo být ovlivněno jak mikroskopickými houbami, které se uvolnily z odpadu, tak i houbami z venkovního prostředí, které mohou do vnitřního prostředí pronikat otevřenými dveřmi a okny. Kromě toho, mikroskopické houby nacházející se ve venkovním prostředí mohou kolonizovat nahromaděný odpad před vytríděním a stávat se tak součástí společenstva hub uvolňujícího se z odpadu. Z vnějšího ovzduší jsou nejčastěji izolovanými houbami rody *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* a *Alternaria* (Larsen et Gravesen 1991, Medrela-Kuder 2003, De Ana et al. 2006).

Rody *Penicillium* a *Aspergillus* dominovaly ve **studii II** ve všech ročních obdobích. Dalšími celkově nejpočetnějšími houbami byly rody *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Cladosporium* a *Rhizopus*. Tyto rody hub však dominovaly pouze v rámci jedné sezóny. Rody *Acremonium*, *Paecilomyces* a *Cladosporium* dominovaly v létě, zatímco rod *Rhizopus* v zimě. Stejně sezónní vzorce kolísání koncentrací rodu *Penicillium*, *Aspergillus* a *Cladosporium* ve venkovním prostředí pozorovali v dlouhodobé studii Larsen a Gravesen (1991).

Bylo překvapivé, že se ve vzorcích vzduchu odebraných v zimě a v létě vyskytovaly především specifické druhy hub, které se ve vzorcích odebraných v jiném ročním období vyskytovaly jen okrajově. V zimě to byly houby *Rhizopus* sp., *P. chrysogenum*, *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 5, *Penicillium* sp. 6 a v létě *Paecilomyces* sp., *Cladosporium cladosporioides* s. l., *Penicillium* sp. 7, *Penicillium* sp. 8, *Penicillium* sp. 11. Druhové složení mikroskopických hub ve vzorcích odebraných na jaře a na podzim takto specifické nebylo. Je možné, že určitou roli i v tomto případě mohou hrát specifické mikroklimatické podmínky.

V rámci všech ročních období jsme v obou dotřídovacích zařízeních plastového odpadu zaznamenali přítomnost potenciálně toxinogenních druhů hub *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* a *P. chrysogenum*. Druh *A. niger* byl dokonce druhou nejčastěji detekovanou houbou ve vzorcích, což poukazuje na možná zdravotní rizika spojená s pobytem v tomto pracovním prostředí. Přítomnost těchto potenciálně toxinogenních druhů však není překvapivá, neboť tito zástupci mikroskopických hub byli v dotřídovacích zařízeních odpadu zaznamenáni již v předchozích studiích (Reinthal et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Breza-Boruta 2012, Viegas et al. 2014a). Potenciálně toxinogenní druhy hub lze považovat za nepřímé indikátory mykotoxinů v prostředí (Viegas et al. 2017). Dosud byla v pracovním prostředí dotřídovacích zařízení potvrzena přítomnost jen několika mykotoxinů (aflatoxin B1, ochratoxin A, enniatin B), nicméně vzhledem k detekci vyššího počtu potenciálně toxinogenních druhů hub lze v tomto prostředí očekávat přítomnost i dalších mykotoxinů (Viegas et al. 2014b, Viegas et al. 2017, Viegas et al. 2018).

Ve studii II jsme dále zjistili vyšší koncentrace mikroskopických hub (z rodu *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Penicillium*), které mohou vyvolávat alergické reakce, případně kožní infekce či otomykózy (Horner et al. 1995, Fischer et Dott 2003, Ozcan et al. 2003). Dosud existuje jen málo informací o klinicky

významných koncentracích mikroskopických hub vedoucích ke vzniku alergické reakce. Bagni et al. (1977) ve své studii uvádějí, že již koncentrace 1×10^2 CFU/m³ rodu *Alternaria* a 3×10^3 CFU/m³ rodu *Cladosporium* vedly k alergické reakci. Ve **studii II** byly tyto koncentrace několikanásobně překročeny ve všech ročních obdobích v obou dotřídovacích zařízeních plastového odpadu.

Vzhledem k vysoké koncentraci mikroskopických hub, které mohou způsobovat řadu zdravotních problémů, jsme v závěru studie navrhli ochranná a preventivní opatření, která by mohla pomoci snížit expozici zaměstnanců zařízení pro nakládání s odpady biologickým agens a tím omezila zdravotní rizika s nimi spojená. Zaměstnanci by měli být podrobně informováni o možném zdravotním riziku plynoucím z výkonu práce a také o preventivních metodách, které by měli v průběhu pracovní směny dodržovat (používání ochranných pomůcek, důkladná osobní hygiena, zákaz konzumace jídla a pití na pracovišti). Kromě toho by měli zaměstnanci absolvovat každoroční lékařské prohlídky. Nezbytným opatřením v pracovním prostředí by měla být častá výměna vzduchu na pracovišti, dále denní mokrý úklid pracoviště (minimalizace prašnosti) a v rámci zařízení striktně oddělit pracovní prostory od zbytku zařízení (společenské prostory, hygienická zařízení).

5.3. Studie III

Součástí dotřídovacích zařízení odpadu, kde jsme prováděli odběry vzorků mikroskopických hub v rámci **studie I** a **studie II**, byly i dotřídovací linky papíru. Nabízela se nám tedy otázka, jak se liší koncentrace mikroskopických hub v ovzduší při dotřídování plastového odpadu od koncentrace mikroskopických hub v ovzduší při dotřídování papírového odpadu. Za účelem orientačního porovnání těchto koncentrací jsme ve **studii III** k odběru vzorků mikroskopických hub z ovzduší dotřídovací linky papírového odpadu použili impakční metodu za použití vzdušného aeroskopu. Vzorky mikroskopických hub jsme odebírali v průběhu roku 2014 dvakrát v rámci každého ročního období (leden, květen, srpen, říjen). Během každé pracovní směny jsme provedli 2 měření, dopoledne (10h) a odpoledne (14h). Během každého měření jsme odebrali 10 vzorků. V rámci celé studie jsme odebrali celkem 160 vzorků mikroskopických hub. Odběr vzorků vzdušným aeroskopem jsme uskutečnili podle postupu uvedeného ve **studii I**.

Z výsledků **studie III** vyplynulo, že v odpoledních hodinách v rámci každé pracovní směny byly naměřeny prokazatelně vyšší koncentrace částic mikroskopických hub v porovnání s odběrem vzorků v dopoledních hodinách. Tento trend platil pro všechna roční období. Stejný nárůst koncentrace mikroskopických hub v průběhu pracovní směny jsme zaznamenali i v dotřídňovacích zařízeních plastového odpadu ve **studii I** a ve **studii II**. I v tomto případě lze předpokládat, že příčinou rostoucí koncentrace mikroskopických hub v ovzduší byl nárůst množství vyříděného odpadu a s ním spojené narůstající množství částic mikroskopických hub uvolňujících se do prostředí (Würtz et Breum 1997).

Celkově nejvyšší koncentrace KTJ mikroskopických hub (dopoledne i odpoledne) jsme naměřili v létě ($1,0 \times 10^4 - 3,8 \times 10^4$ KTJ/m³), následně na jaře ($4,9 \times 10^3 - 1,1 \times 10^4$ KTJ/m³) a v zimě ($3,6 \times 10^3 - 5,2 \times 10^3$ KTJ/m³) a nejnižší počty částic mikroskopických hub jsme v dopoledních i odpoledních hodinách naměřili na podzim ($2,6 \times 10^3 - 5,0 \times 10^3$ KTJ/m³). Vliv ročního období na koncentraci mikroskopických hub v ovzduší byl statisticky průkazný. Je zajímavé, že v této **studii III** jsme nejnižší koncentrace částic mikroskopických hub naměřili na podzim, zatímco ve **studii II** v zimě. Je možné, že kromě mikroklimatických podmínek budou mít na koncentraci částic mikroskopických hub v ovzduší vliv i jiné faktory, v tomto případě pravděpodobně i druh tříděného odpadu.

Kontaminace pracovního prostředí dotřídňovací linky papíru v rámci této **studie III** byla víceméně srovnatelná s kontaminací pracovního prostředí zaznamenanou v předchozích studiích provedených v dotřídňovacích zařízeních papírového odpadu (Sigsgaard et al. 1994, Würtz et Breum 1997). Ve studii Würtz et Breum (1997) byly naměřeny koncentrace v rozpětí $9,6 \times 10^2 - 2,3 \times 10^5$ KTJ/m³ za použití metody membránových filtrů, v případě studie Sigsgaard et al. (1994) byla prostřednictvím impingerové metody zjištěna průměrná koncentrace $5,2 \times 10^3$ KTJ/m³. Využitím kalibračního koeficientu 7,966 získaného syntézou výsledků **studie I** a **studie II** (a odběru vzorků provedených v srpnu 2014 impakční metodou) jsme vypočítali, že koncentrace částic naměřené prostřednictvím metody membránových filtrů by se v této **studii III** pravděpodobně pohybovaly v rozmezí $2,1 \times 10^4 - 3,1 \times 10^5$ KTJ/m³, což by dosahovalo maximálních hodnot naměřených ve studii Würtz et Breum (1997).

Při dotřídňování papíru (za použití impakční metody i za použití kalibračního koeficientu) jsme zjistili koncentrace mikroskopických hub řádově víceméně shodné

s hodnotami uvedenými ve **studii I** a **studii II**. Nejnižší hodnoty, které jsme naměřili těsně před začátkem pracovní směny ve **studii I** a **studii II** však nelze s nejnižšími hodnotami naměřenými v této **studii III** v dopoledních hodinách (10h), vzhledem k vývojovému trendu koncentrací, porovnávat.

Tato studie ukázala, že zaměstnanci dotřídňující papírový odpad jsou vystaveni obdobným koncentracím částic mikroskopických hub v ovzduší jako zaměstnanci dotřídňující plastový odpad.

5.4. Studie IV

Jedním z klíčových kroků vedoucích ke stanovení hygienických limitů expozice zaměstnanců zařízení pro nakládání s odpady mikroskopickým houbám a zároveň ke zhodnocení zdravotních rizik vyplývajících z pobytu v tomto pracovním prostředí je vytvořit podrobný přehled o kontaminaci pracovního prostředí mikroskopickými houbami s důrazem na jejich druhové složení (Eduard 2009, Viegas et al. 2014a, Walser et al. 2015). Ačkoliv již bylo z prostředí zařízení pro nakládání s odpady publikováno mnoho studií, dosud chybí studie, která by shrnula dosavadní poznatky o mikroskopických houbách vyskytujících se v pracovním prostředí dotřídňovacích zařízení.

Cílem **studie IV** bylo vytvořit ucelený přehled o kontaminaci pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení mikroskopickými houbami. Ve studii byl kladen důraz na druhové zastoupení hub identifikovaných v pracovním prostředí dotřídňovacích zařízení a s nimi potenciálně spojenými zdravotními komplikacemi. Na závěr studie je uveden souhrn preventivních a ochranných opatření doporučených k omezení kontaminace pracovního prostředí biologickým agens a tím i k minimalizaci zdravotních rizik zaměstnanců.

Částice mikroskopických hub, které se uvolňují ze svého zdroje, se mohou stát součástí vzdušného bioaerosolu anebo mohou sedimentovat a stávat se opět součástí povrchové kontaminace vybavení či exponovaných částí těl zaměstnanců včetně jejich oděvu. Zaměstnanci tak mohou být částicím mikroskopických hub vystaveni třemi expozičními cestami, a to inhalační, gastrointestinální a dermální (Park et al. 2011). Jelikož je inhalace nejvýznamnější expoziční cestou, stává se měření koncentrace částic v ovzduší nejčastěji používanou metodou k hodnocení expozice zaměstnanců mikroskopickým houbám (Nersting et al. 1991, Malmros et al. 1992, Rahkonen 1992, Sigsgaard et al. 1994, Marchand et al. 1995, Würtz et Breum 1997, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Tolvanen 2001, Krajewski et al. 2002, Kozajda et al. 2009, Park et al. 2011,

Breza-Boruta 2012, Lehtinen et al. 2013, Kozajda et al. 2015, Černá et al. 2015, Černá et al. 2016, Černá et al. 2017).

Ačkoliv byla koncentrace mikroskopických hub v ovzduší dotříd'ovacích zařízení měřena v mnoha studiích, pouze v některých z nich byly zachycené KTJ mikroskopických hub také identifikovány (Nersting et al. 1991, Würtz et Breum 1997, Reinthaler et al. 1999, Tolvanen et al. 1999, Lehtinen et al. 2013, Černá et al. 2016, Černá et al. 2017). Ve studii Viegas et al. (2014a) je dokonce uveden pouze výčet identifikovaných mikroskopických hub bez hodnot naměřených koncentrací. Nicméně studie Viegas et al. (2014a) uvádí jako jediná i druhové spektrum hub izolovaných z povrchu vybavení dotříd'ovacích zařízení (také bez kvantifikace). Park et al. (2011) naproti tomu ve své studii uvádějí, kromě koncentrace mikroskopických hub v ovzduší, i počet KTJ mikroskopických hub zjištěných na oděvu a exponovaných částech těla zaměstnanců. Studie však není doplněna o identifikaci zachycených částic hub. Obecně se dá říci, že studie zabývající se povrchovou kontaminací uvnitř dotříd'ovacích zařízení jsou spíše výjimečné.

Ačkoliv by bylo možné na základě koncentrace mikroskopických hub a jejich druhovém složení odhadnout případné zdravotní důsledky expozice, informací o vztahu „dávky“ konkrétní mikroskopické houby a „odezvy“ na ní je dosud velmi málo (Eduard 2009, Walser et al. 2015). Eduard (2009) ve své rozsáhlé studii uvádí prahovou hodnotu LOEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) pro expozici člověka různým druhům mikroskopických hub ve výši 10^5 KTJ/m³. Tato hodnota však nezohledňuje současnou expozici i dalším složkám bioaerosolu. Kromě toho, zaměstnanci dotříd'ovacích zařízení jsou exponováni současnému spolupůsobení jak biologických, tak i chemických a fyzikálních činitelů. Právě opomenutí možného synergického působení těchto činitelů je hlavním omezením mnoha dostupných studií zabývajících se zdravotními problémy zaměstnanců zařízení pro nakládání s odpady (např. Marth et al. 1997, Rapiti et al. 1997, Chan et Leung 2011, Eker et al. 2012).

Dalším metodickým problémem některých studií je jejich časová omezenost, při níž je opomíjen nejen zdravotní stav zaměstnanců před nástupem do zaměstnání (např. Rapiti et al. 1997, Ivens et al. 1999, Heldal et al. 2003a), ale také doba, která uplyne od nástupu zaměstnance do zaměstnání a prvního výskytu symptomů (např. Ivens et al. 1999, Krajewski et al. 2002, Athanasiou et al. 2010, Heldal et al. 2003a). Výskyt prvních symptomů onemocnění u zaměstnanců dotříd'ovacích zařízení odpadu přitom může být velmi časný. Z výsledků studie Malmros et al. (1992) vyplývá, že první

symptomy se u zaměstnanců mohou objevovat již v prvních měsících výkonu zaměstnání. V průběhu trvání zmíněné studie (1986-1988) bylo onemocnění z povolání potvrzeno u 9 z 15 zaměstnanců. Mimoto, ve studiích bývá také často upozaděna identifikace měřených biologických činitelů. Dále se studie liší i zaměřením na konkrétní biologické, chemické či fyzikální činitele.

Malmros et al. (1992) ve své studii hodnotili zdravotní stav zaměstnanců za současného měření expozice prachu, mikroskopickým houbám, bakteriím a endotoxinům. Během prvního roku provozu bylo u 53 % zaměstnanců diagnostikováno bronchiální astma. Koncentrace mikroskopických hub v ovzduší dotřídňovacích zařízení se přitom pohybovala okolo $1,0 \times 10^3$ KTJ/m³.

V další studii Sigsgaard et al. (1994) byli zaměstnanci několika zařízení pro nakládání s odpady (dotřídňovací zařízení, kompostárna, třídírna smíšeného domovního odpadu) podrobeni dotazníkovému i lékařskému šetření za současného měření koncentrace prachu, mikroorganismů (bakterie, mikroskopické houby) a endotoxinů v ovzduší pracovního prostředí. Výsledky studie ukázaly, že zaměstnanci těchto zařízení mají vyšší prevalenci výskytu slizničních a kožních onemocnění a dále toxického syndromu z organického prachu (ODTS) (kašel, svírání na hrudi, dušnost, příznaky podobné chřipce jako je zimnice, horečka, bolesti svalů a kloubů, únava, bolest hlavy) a gastrointestinálních problémů. Naměřené koncentrace hub v ovzduší pracovního prostředí se pohybovala v rozmezí $5,2 \times 10^3 - 6,7 \times 10^4$ KTJ/m³.

Z rozsáhlé retrospektivní studie Rapiti et al. (1997) vyplynulo, že zaměstnanci pracující ve dvou zařízeních na recyklaci a spalování odpadu po dobu delší než 10 let jsou vystaveni zvýšenému riziku vzniku rakoviny žaludku v porovnání s běžnou populací. Naproti tomu byla u zaměstnanců zařízení v porovnání s běžnou populací zjištěna snížená prevalence výskytu rakoviny plic. Pravděpodobnou příčinou je chronická expozice zaměstnanců bakteriálním endotoxinům, které v plicích vyvolávají zánětlivé reakce, při nichž se zvyšuje sekrece látek s lytickým účinkem na nádorové buňky (Ribi et al. 1983). Je tedy možné, že zaměstnanci zařízení pro nakládání s odpady jsou prostřednictvím chronické expozice endotoxinům chráněni před vznikem rakoviny plic (Rylander 1990). Tuto teorii podporuje také skutečnost, že v rámci retrospektivní studie bylo ve studované populaci 77% kuřáků s průměrnou spotřebou zhruba 20 cigaret za den.

Ve studii Marth et al. (1997) byli zaměstnanci několika dotřídňovacích zařízení a kompostáren podrobeni důkladné lékařské prohlídce za současného vyplnění rozsáhlého

dotazníku. Z výsledků studie vyplynulo, že podmínky v těchto zařízeních u zaměstnanců zvyšují riziko výskytu chrapotu (38% zaměstnanců), kašle (35%), infekcí dýchacího ústrojí (23%), průjmu (18%), onemocnění svalů a kloubů (13%) a zánětu spojivek (12%). Kromě toho byla u 15 % zaměstnanců zjištěna zvýšená hladina cukru v krvi. Pro zaměstnance s diabetem je pracovní prostředí pro nakládání s odpady zvláště nevhodné, protože právě u nich bylo prokázáno výrazně vyšší riziko výskytu nevolnosti, průjmu, ekzému, zánětu spojivek a kožního podráždění v porovnání s ostatními zaměstnanci.

Ve studii Krajewski et al. (2002) byl prostřednictvím dotazníku hodnocen zdravotní stav zaměstnanců několika zařízení pro nakládání s odpady (dotřídňovací zařízení, kompostárna, zařízení pro překládání odpadu) a popelářů. Současně byla měřena expozice těchto zaměstnanců prachu, bakteriím, endotoxinům a mikroskopickým houbám. Ačkoliv koncentrace mikroskopických hub v ovzduší dosahovala vysokých hodnot (dotřídňovací zařízení: $8,4 \times 10^4$ až $1,4 \times 10^5$ KTJ/m³, kompostárna: $1,6 \times 10^3$ – $6,9 \times 10^4$ KTJ/m³, překladiště odpadu: $5,4 \times 10^3$ – $2,6 \times 10^4$ KTJ/m³, popeláři: $6,2 \times 10^3$ – $1,32 \times 10^5$ KTJ/m³), většina zaměstnanců považovala svůj zdravotní stav za dobrý až velmi dobrý. Pouze 20% z dotazovaných osob trpělo některým z chronických onemocnění kardiovaskulárního, pohybového nebo trávicího ústrojí.

Souvislost mezi expozicí zaměstnanců bioaerosolu a výskytem dýchacích obtíží dále potvrzuje studie Heldal et al. (2003a), kde byl hodnocen zdravotní stav zaměstnanců kompostáren za současného měření koncentrace bakterií, endotoxinů, mikroskopických hub a β (1 → 3)-glukanů v pracovním prostředí. Z analýzy výsledků vyplynula souvislost mezi expozicí zaměstnanců sporám mikroskopických hub a β (1 → 3)-glukanům a výskytem zánětu horních cest dýchacích. Koncentrace mikroskopických hub v ovzduší se přitom pohybovala v širokém rozpětí 0 – $2,0 \times 10^6$ KTJ/m³. V obdobné studii Heldal et al. (2003b), která se zaměřila na zaměstnance separující organický domovní odpad, však souvislost mezi expozicí zaměstnanců mikroskopickým houbám a výskytem dýchacích problémů prokázána nebyla. Koncentrace mikroskopických hub v ovzduší se přitom pohybovala ve shodném rozmezí 0 – $2,0 \times 10^6$ KTJ/m³.

U zaměstnanců dvou dotřídňovacích zařízení byl ve studii Kozajda et Szadkowska-Stańczyk (2009) na základě dotazníkového šetření zjištěn výskyt akutních příznaků onemocnění horních cest dýchacích (64% respondentů), dále kašel (33%), paroxysmální (záchvatovitá) dušnost a/nebo hvízdavý dech (19%), oční problémy (36%), kožní onemocnění (14%) a alergická onemocnění (23% včetně 11% s diagnostikovanou alergií

před zahájením pracovního poměru v dotřídovacím zařízení). Také tato studie poukazuje na nepříznivé účinky bioaeroslu na zdraví zaměstnanců.

Chan et Leung (2011) u zaměstnanců vybraných dotřídovacích zařízení zjistili zvýšený výskyt muskuloskeletálních problémů, zejména ramen (58% zaměstnanců), zad (50%), krku (33%) a kolen (29%).

Studie Eker et al. (2012) potvrdila u více než 40% zaměstnanců rozsáhlého zařízení pro nakládání s odpady (z celkového počtu 619 osob) výskyt metabolického syndromu, který zahrnuje soubor kardiovaskulárních rizikových faktorů, mezi něž patří inzulínová rezistence a intolerance glukózy, diabetes mellitus, obezita, akumulace břišního tuku, dyslipidémie (porucha metabolismu tuků) a hypertenze. Nejnižší výskyt metabolického syndromu byl přitom potvrzen u zaměstnanců pracujících v kanceláři zařízení po dobu kratší 10 let. Vyšší podíl zaměstnanců se zvýšenou hladinou glukózy v krvi byl zjištěn i v dřívější studii Marth et al. (1997), která tak nepřímo potvrzuje zjištění vyšší náchylnosti zaměstnanců zařízení pro nakládání s odpady k metabolickému syndromu.

Z výše uvedeného přehledu studií zabývajících se zdravotními problémy zaměstnanců dotřídovacích zařízení a jiných zařízení pro nakládání s odpady je patrné, že porovnat tyto studie mezi sebou a vyvodit z nich konkrétní závěry je velmi obtížné. Studie se od sebe odlišují nejen metodikou odběru a zpracováním vzorků, ale také souborem měřených činitelů, dále způsobem získávání informací o zdravotním stavu zaměstnanců, počtem studovaných osob, délkou trvání studie atd.

Z důvodu minimalizace zdravotních rizik je zaměstnancům i zaměstnavatelům doporučováno přijmout řadu technických i organizačních opatření, která pomohou omezit kontaminaci pracovního prostředí biologickým agens. Tato opatření se týkají nejen zvýšené osobní hygieny zaměstnanců, ale také provozu a vnitřního uspořádání dotřídovacích zařízení.

Studie IV dokládá značnou metodickou odlišnost mezi studii zabývajících se zdravotními problémy zaměstnanců dotřídovacích zařízení a jiných zařízení pro nakládání s odpady. Vzhledem k tomu je velmi obtížné objasnit vliv mikroskopických hub na zdravotní stav zaměstnanců dotřídovacích zařízení. Dá se jen předpokládat, že mikroskopické houby, vzhledem k vysoké koncentraci potenciálně alergenních a toxinogenních druhů v tomto pracovním prostředí, hrají v rozvoji zdravotních problémů zaměstnanců důležitou roli.

6. SOUHRN

Nárůst množství vyprodukovaného odpadu se stává celosvětovým problémem. Politika evropské unie reaguje na tento trend zvyšujícími se nároky na opětovné využití a recyklaci odpadů v rámci strategie oběhového hospodářství, které představuje cyklus, v němž se produkt na konci své životnosti stává zdrojem. V důsledku rostoucích požadavků na recyklaci odpadů je vyvíjen stále vyšší tlak na jejich třídění, sběr a následné dotřídování. S tím souvisí i rostoucí požadavek na zřizování dalších dotřídovacích zařízení, kde bude zaměstnáváno stále více lidí.

Odpad přivážený do těchto zařízení přitom bývá zdrojem mikrobiální kontaminace, která se při dotřídování uvolňuje do ovzduší. Zaměstnanci dotřídovacích zařízení jsou tak exponováni zvýšené koncentraci mikroorganismů v ovzduší. Z hlediska zdravotních rizik představují významnou skupinu mikroorganismů mikroskopické houby, mezi které patří mnoho alergenních, infekčních a toxinogenních druhů. Hodnocení kontaminace pracovního prostředí dotřídovacích zařízení mikroskopickými houbami se stává nezbytným vzhledem k nárůstu studií, které potvrzují souvislost mezi pobytem zaměstnanců v pracovním prostředí dotřídovacích zařízení a výskytem zdravotních problémů. Ačkoliv je kontaminaci pracovního prostředí dotřídovacích zařízení mikroskopickými houbami v mnoha státech věnována pozornost již řadu let, v České republice nebyla tato problematika dosud podrobně řešena.

Hodnocení expozice zaměstnanců dotřídovacích zařízení mikroskopickým houbám je důležitým podkladem pro zavedení dosud chybějících limitů pro výskyt mikroskopických hub v pracovním prostředí v České republice a také při posuzování zdravotního rizika vyplývajícího z pobytu v tomto pracovním prostředí. Výzkumné projekty zaměřené na hodnocení mikrobiální kontaminace pracovního prostředí jsou dále nezbytné pro řešení ochranných a preventivních opatření, která pomohou omezit kontaminaci pracovního prostředí biologickým agens a tím i minimalizovat zdravotní rizika zaměstnanců. Prvním a zcela nezbytným krokem vedoucím ke zhodnocení expozice zaměstnanců dotřídovacích zařízení mikroskopickým houbám je zavedení jednotné standardní metodiky odběru a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí, která umožní získané výsledky mezi sebou porovnávat.

Studie I se zabývá porovnáním dvou metod, metody membránových filtrů a impakční metody, pro zavedení jednotné standardní metodiky odběru a zpracování vzorků

mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady. Z výsledků studie vyplynulo, že obě metody vykazují stejnou citlivost na měnící se koncentrace částic v ovzduší. Metodou membránových filtrů byly naměřeny koncentrace mikroskopických hub v rozmezí $10^2 - 10^6$ KTJ/m³ vzduchu, zatímco impakční metodou byly naměřeny koncentrace v rozpětí $10^2 - 10^4$ KTJ/m³ vzduchu. Vzhledem k vysoké účinnosti záchytu částic mikroskopických hub z ovzduší je metoda membránových filtrů doporučena pro zavedení jednotné standardní metodiky odběru a zpracování vzorků mikroskopických hub z ovzduší pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady. Impakční metoda za použití vzdušného aeroskopu je vzhledem k nižší účinnosti záchytu částic mikroskopických hub vhodná pro orientační měření kontaminace pracovního prostředí. Nejvhodnějším kultivačním médiem pro záchyt a kultivaci mikroskopických hub z pracovního prostředí je kultivační médium DRBC.

Studie II je dosud jedinou studií, která poskytuje podrobný přehled vývoje koncentrací částic mikroskopických hub v pracovním prostředí třířadových zařízení v průběhu celé pracovní směny a zároveň ve všech ročních obdobích spolu s identifikací zachycených KTJ mikroskopických hub. Výsledky této studie ukázaly, že zaměstnanci třířadových zařízení plastového odpadu jsou po celou pracovní směnu v rámci všech ročních období vystaveni vysokým koncentracím částic mikroskopických hub, mezi nimiž jsou z velké části zastoupeny i potenciálně alergenní, toxinogenní a patogenní druhy hub z rodu *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Penicillium*. Nejvyšší koncentrace hub byly přitom naměřeny v létě ($9,1 \times 10^3 - 9,0 \times 10^5$ KTJ/m³), následně na jaře ($2,1 \times 10^3 - 1,8 \times 10^6$ KTJ/m³) a na podzim ($2,0 \times 10^2 - 4,2 \times 10^5$ KTJ/m³) a nejnižší v zimě ($2,7 \times 10^3 - 2,9 \times 10^5$ KTJ/m³). Od začátku pracovní směny docházelo k nárůstu počtu zachycených částic mikroskopických hub, který v odpoledních hodinách dosáhl svého maxima. Naměřené koncentrace hub jsou stejně jako jejich druhové zastoupení srovnatelné s výsledky předchozích studií z prostředí třířadových zařízení odpadu.

Ve studii III byla analyzována kontaminace pracovního prostředí třířadového zařízení papírového odpadu mikroskopickými houbami. Měření byla prováděna v dopoledních a odpoledních hodinách 2 pracovních směn v rámci 4 ročních období. Výsledky ukázaly, že v průběhu pracovní směny dochází k nárůstu koncentrace částic mikroskopických hub v ovzduší. Nejvyšší koncentrace částic hub v ovzduší byly naměřeny v létě ($1,0 \times 10^4 - 3,8 \times 10^4$ KTJ/m³), poté na jaře ($4,9 \times 10^3 - 1,1 \times 10^4$ KTJ/m³) a v zimě ($3,6 \times 10^3 - 5,2 \times 10^3$ KTJ/m³) a nejnižší na podzim ($2,6 \times 10^3 - 5,0 \times 10^3$ KTJ/m³).

Expozice zaměstnanců byla víceméně srovnatelná s expozicí zaměstnanců jiných dotřídovacích zařízení papírového odpadu. Studie opět potvrdila, že zaměstnanci dotřídovacích zařízení odpadu jsou vystaveni zvýšeným koncentracím částic mikroskopických hub v ovzduší, což nabádá k zavedení preventivních opatření, která by pomohla minimalizovat zdravotní rizika spojená s pobytem v tomto pracovním prostředí.

Studie IV poskytuje přehled dosavadních poznatků o kontaminaci pracovního prostředí dotřídovacích zařízení mikroskopickými houbami. Studie je zaměřena na kvantifikaci a identifikaci mikroskopických hub dosud izolovaných z pracovního prostředí dotřídovacích zařízení. Na základě druhového zastoupení hub jsou jmenovány zdravotní problémy, které mohou s výskytem těchto mikroskopických hub souviset. Vzhledem k častému výskytu zdravotních problémů zaměstnanců jsou ve studii shrnuta ochranná opatření vyplývající z různých studií zabývajících se problematikou mikrobiální kontaminace dotřídovacích zařízení. Ve studii jsou zahrnuty výsledky získané z předchozích studií I, II a III.

7. SUMMARY

In recent years, municipal solid waste production has been growing worldwide. The European Union policy responds to this trend with increasing demands for reuse and recycling of waste within the framework of the circular economy in which the product at the end of its lifetime becomes a source. Thus, there is an ever-increasing pressure on pre sorting, collection and subsequent sorting of municipal waste. This is related to the requirement to set up additional waste sorting facilities, where more and more people will be employed.

Waste in sorting facilities is usually contaminated by many microorganisms which are released into working environment during the sorting process. Thus, the facility employees may be exposed to an increased concentration of airborne microorganisms. An important group of microorganisms is constituted by microscopic fungi including many allergenic, infectious and toxigenic species that pose potential serious health risks. Evaluation of air contamination by microscopic fungi in working environment of waste sorting facilities becomes necessary due to an increase in the number of studies describing the relationship between working activity in waste sorting facilities and the occurrence of health problems. Although fungal contamination of working environment in waste sorting facilities has been paid attention to in many countries for a long time, in the Czech Republic it has been neglected so far.

The evaluation of occupational exposure to microscopic fungi in waste sorting facilities is essential for the establishment of threshold limit value for the concentration of airborne fungi in such working environments in the Czech Republic as well as assessing the health risk resulting from the working activity in waste sorting facilities. Research dealing with the problems of microbiological contamination in working environment is also necessary for a proposal of protective and preventive measures to help reduce microbiological contamination and thereby minimize the health risk to employees. The first step towards assessing the occupational exposure to microscopic fungi is the implementation of a uniform standard method for airborne fungi sampling that will ensure both their quantification and exact identification.

The results of **Study I** show that the membrane filters method seems to be the most suitable method for the implementation of a uniform standard methodology of collecting and processing samples of airborne fungi for highly contaminated working environment.

This method is characterized by the high efficiency of capturing airborne fungi and also by the high repeatability of measurements. The impaction method using single head impaction air sampler is suitable only for fast indicative determination of the concentration of airborne fungi due to lower efficiency of airborne fungi capturing. However, this method is characterized by easy preparation of the sampling device as well as the subsequent processing of the samples. The membrane filters method measured the concentration of airborne fungi in the range of $10^2 - 10^6$ CFU/ m³ while the impaction method measured the concentration of airborne fungi in the range of $10^2 - 10^4$ CFU/ m³. The culture medium DRBC seems to be the most suitable culture medium for capturing and cultivating airborne fungi from the working environment.

Study II is the first study dealing with a detailed development of airborne fungi concentrations during a working shift in different seasons of the year in waste sorting facilities together with the identification of the captured airborne fungi. The results of this study showed that the facility employees are exposed to high concentrations of airborne fungi during work shifts in all seasons. In addition, most of the captured fungi were among the potentially allergenic, infectious and toxigenic species of the genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Penicillium*. The highest concentrations of airborne fungi were measured in summer ($9.1 \times 10^3 - 9.0 \times 10^5$ CFU/m³), followed by spring ($2.1 \times 10^3 - 1.8 \times 10^6$ CFU/m³) and autumn ($2.0 \times 10^2 - 4.2 \times 10^5$ CFU/m³), and the lowest in winter ($2.7 \times 10^3 - 2.9 \times 10^5$ CFU/m³). The lowest concentrations of airborne fungi were found at the beginning of a work shift followed by a quick increase reaching a plateau after 6-7h of sorting. The measured concentrations of airborne fungi in the study as well as their species composition were comparable to the results of previous studies from the examined waste sorting facilities.

In **Study III**, contamination of working environment by airborne fungi in paper sorting plant was studied in four seasons. Samples of airborne fungi were collected in the workers' breathing zone twice per the work shift (at 10 a.m. and 2 p.m.) and twice per each season. The results showed an increase in the concentrations of airborne fungal particles during the work shifts. The highest concentrations of airborne fungi were measured in summer ($1.0 \times 10^4 - 3.8 \times 10^4$ CFU/m³), followed by spring ($4.9 \times 10^3 - 1.1 \times 10^4$ CFU/m³) and winter ($3.6 \times 10^3 - 5.2 \times 10^3$ CFU/m³), and the lowest in autumn ($2.6 \times 10^3 - 5.0 \times 10^3$ CFU/m³). The measured concentrations of airborne fungi in the study were comparable to the results of previous studies from the paper waste sorting facilities.

The study reaffirmed that employees of waste sorting facilities are exposed to a higher concentration of airborne fungi. These results encourage the introduction of preventive measures to help minimize the health risks associated with working activities in waste sorting facilities.

Study IV summarizes the existing knowledge about fungal contamination of working environment in waste sorting facilities. Particular emphasis is placed on the species composition of the fungal community inside waste sorting facilities. Based on the fungal species composition, health problems potentially related to the occurrence of these fungal species were encapsulated. Given the frequent occurrence of employees' health problems, an overview of preventive and protective measures presented in various studies dealing with microbial contamination of waste sorting facilities was included. This study contains findings resulting from **Study I**, **Study II** and **Study III**.

8. SEZNAM LITERATURY

Adan O. C. G., Samson R. A. (Eds.), 2011: Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 524 s.

AIHA (American Industrial Hygiene Association), 1989: The Practitioner's approach to Indoor Air Quality Investigations. In: Weekes D. M., Gammage R. B. (Eds.): Proceedings of the Indoor Air Quality International Symposium, Fairfax, Virginia, USA.

Alborch L., Bragulat M. R., Abarca M. L., Cabañes F. J., 2011: Effect of waste activity, temperature and incubation time on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* on maize kernels. *International Journal of Food Microbiology* 147: 53–57.

Alonso E., Lopez-Etxaniz I., Hurtado A., Liendo P., Urbaneja F., Aspiritxaga I., Olaizola J. I., Piñero A., Arrazola I., Barandika J. F., Hernández S., Muniozguren N., García- Pérez A. L., 2015: Q fever outbreak among workers at a waste-sorting plant. *PLoS ONE* 10(9): e0138817.

Athanasίου M., Makrynos G., Dounias G., 2010: Respiratory health of municipal solid waste workers. *Occupational Medicine* 60(8): 618–623.

Badenoch P. R., Halliday C. L., Ellis D. H., Billing K. J., Mills R. A. D., 2006: *Ulocladium atrum* keratitis. *Journal of Clinical Microbiology* 44(3): 1190–1193.

Bagni N., Davies R. R., Mallea M., Nolard N., Spijksma F. T., Stix E., 1977: Sporenkonzentrationen in Städten der Europäischen Gemeinschaft (EG). *Acta Allergologica* 32: 118–138.

Bauer H., Fuerhacker M., Zibuschka F., Schmid H., Puxbaum H., 2002: Bacteria and fungi in aerosols generated by two different types of wastewater treatment plants. *Waste Research* 36(16): 3965–3970.

Becker R., 1994: Fungal disfigurement of constructions—analysis of the effects of various factors. In: Samson R. A., Flannigan B., Flannigan M. E., Verhoeff A. P., Adan O. C. G., Hoekstra E. S. (Eds.): *Air Quality Monographs—Vol. 2: Health Implications of Fungi in Indoor Environments*. Elsevier, Amsterdam: 361–380.

Bellin P., Schillinger J., 2001: Comparison of field performance of the Andersen N6 single stage and the SAS sampler for airborne fungal propagules. *Indoor Air* 11(1): 65–68.

Blomquist G., Palmgren U., Ström G., 1984: Improved techniques for sampling airborne fungal particles in highly contaminated environments. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* 10(4): 253–258.

Borrego S., Lavin P., Perdomo I., de Saravia S. G., Guamet P., 2012: Determination of indoor quality in archives and biodeterioration of the documentary heritage. *ISRN Microbiology* 2012: 1–10.

Bräse S., Encinas A., Keck J., Nising C. F., 2009: Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical Reviews* 109(9): 3903–3990.

Breum N.O., Nielsen B.H., Nielsen E.M., Midtgaard U., Poulsen O.M., 1997: Dustiness of compostable waste: A methodological approach to quantify the potential of waste to generate airborne micro-organisms and endotoxin. *Waste Management & Research* 15: 169–187.

Breza-Boruta B., 2012: Bioaerosols of the municipal waste landfill site as a source of microbiological air pollution and health hazard. *Ecological Chemistry and Engineering A* 19(8): 851–862.

Burge H. A., Solomon W. R., Muilenberg M. L., 1982: Evaluation of indoor plantings as allergen exposure sources. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 70: 101–108.

Burnett J. H., 1976: *Fundamentals of Mycology* (No. Ed. 2). Edward Arnold, London, 673 s.

Buttner M. P., Stetzenbach L. D., 1993: Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects on human activity on air sampling. *Applied and Environmental Microbiology* 59(5): 219–226.

Carducci A., Federigi I., Verani M., 2013: Virus occupational exposure in solid waste processing facilities. *Annals of Occupational Hygiene* 57(9): 1115–1127.

CEC (Commission of the European Communities), 1993: Biological particles in indoor environments, Report No. 12: Indoor Air Quality & its Impact on Man. Brussels–Luxembourg.

Clark C. S., 1985: Report on prevention and control. In: Rylander R, Peterson Y, Donham KJ (Eds.): Health effects of organic dusts in the farm environment. Proceedings of an International Workshop held in Skokloster, Sweden, April 23–25. *American Journal of Industrial Medicine* 10: 267–273.

Cyprowski M., Sowiak M., Soroka P. M., Buczyńska A., Kozajda A., Szadkowska-Stańczyk I., 2008: Assessment of occupational exposure to fungal aerosols in wastewater treatment plants. *Medycyna Pracy* 59(5): 365–371. (in Polish)

- Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2015:** Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant-Case study in Czech Republic. In: SGEM2015 Conference Proceedings, Book 4. 15th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2015, Albena, Bulgaria, June 18–24: 755–762.
- Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2016:** Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 29(3): 493–502.
- Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z., 2017:** Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities. *Medycyna Pracy* 68(1): 1–9.
- De Ana S. G., Torres-Rodríguez J. M., Ramírez E. A., García S. M., Belmonte-Soler J., 2006:** Seasonal Distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* Species Isolated in Homes of Fungal Allergic Patients. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology* 16(6): 357–363.
- Degen G. H., Blaskewicz M., Lektarau Y., Grüner C., 2003:** Ochratoxin a analyses of blood samples from workers at waste handling facilities. *Mycotoxin Research* 19(1): 3–7.
- Degois J., Clerc F., Simon X., Bontemps C., Leblond P., Duquenne P., 2017:** First metagenomic survey of the microbial diversity in bioaerosols emitted in waste sorting plants. *Annals of Work Exposures and Health* 61(9): 1076–1086.
- Dijksterhuis J., Samson R. A., 2006:** Zygomycetes. In: de Blackburn C. W. (Ed.): *Food spoilage microorganisms*. Woodhead Publishing, Ltd, Cambridge: s. 415–436.
- Dijksterhuis, J. Samson, R. A. (Eds.), 2007:** *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 403 s.
- Domsch K. H., Gams W., Anderson T. H., 1980:** *Compendium of soil fungi*. Volume 1. Academic Press Ltd., London, 860 s.
- Douwes J., Thorne P., Pearce N., Heederik D., 2003:** Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Annals of Occupational Hygiene* 47(3): 187–200.
- Durand K. T. H., Muilenberg M. L., Burge H. A., Seixas N. S., 2002:** Effect of sampling time on the culturability of airborne fungi and bacteria sampled by filtration. *Annals of Occupational Hygiene* 46(1): 113–118.
- Dutkiewicz J., Mołocznik A., 1993:** Zweryfikowana dokumentacja NDS dla pyłów pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Opracowanie dla Międzyresortowej Komisji ds. Aktualizacji Wykazu NDS i NDN Czynn timerów Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy Instytut Medycyny Wsi, Lublin. (in Polish)

Eduard W., 2009: Fungal spores: a critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. *Critical Reviews in Toxicology* 39(10): 799–864.

Eduard W., Heederick D., 1998: Methods for quantitative assessment of airborne levels of noninfectious microorganisms in highly contaminated work environments. *American Industrial Hygiene Association Journal* 59(2): 113–127.

Eker H. H., Bayraktarli R. Y., İşsever H., Ulaş T., Erelel M., Eser A., Özdilli K., Özder A., 2012: Metabolic syndrome in collection and disposal of solid waste sector. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 25(1): 14–21.

El-Herte R. I., Baban T. A., Kanj S. S., 2012: Mucormycosis: a review on environmental fungal spores and seasonal variation of human disease. *Advances in Infectious Diseases* 2(3): 76–81.

El-Wahab E. W. A., Eassa S. M., Lotfi S. E., El Masry S. A., Shatat H. Z., Kotkat A. M., 2014: Adverse health problems among municipality workers in Alexandria (Egypt). *International Journal of Preventive Medicine* 5(5): 545–556.

Erman M. I., Eglite M. E., Olefir A. I., Kalinina L. N., 1989: Aerogennaya mikroflora zhivotnovodczeskikh i pticevodczeskikh proizvodstvennykh pomeshchennyi, kriterii eyo vrednogo deistva i gigenicheskaya reglamentatsia. *Gigiena Truda i Professional'nye Zabolevaniia* 4: 19–22. (in Russian)

Fischer G., Dott W., 2003: Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Archives of Microbiology* 179(2): 75–82.

Flannigan B., 1997: Air sampling for fungi in indoor environments. *Journal of Aerosol Science* 28(3): 381–392.

Golli-Bennour E. E., Kouidhi B., Bouslimi A., Abid-Essefi S., Hassen W., Bacha H., 2010: Cytotoxicity and genotoxicity induced by aflatoxin B1, ochratoxin A, and their combination in cultured Vero cells. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 24(1): 42–50.

Górny R. L., 2004: Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 3(41): 17–39. (In Polish)

Górny R. L., Dutkiewicz J., 2002: Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 9: 17–23.

- Górny R. L., Krysińska-Traczyk E., 1999:** Quantitative and qualitative structure of fungal bioaerosol in human dwellings of Katowice province, Poland. In: Proceedings of Indoor Air 99 Conference (Vol. 1). Edinburgh, Scotland, August 8–13: 873–878.
- Górny R. L., Reponen T., Grinshpun S. A., Willeke K., 2001:** Source strength of fungal spore aerosolization from moldy building material. *Atmospheric Environment* 35(28): 4853–4862.
- Górny R. L., Reponen T., Willeke K., Schmechel D., Robine E., Boissier M., Grinshpun S. A., 2002:** Fungal fragments as indoor air biocontaminants. *Applied and Environmental Microbiology* 68(7): 3522–3531.
- Gravesen S., 1979:** Fungi as a cause of allergic disease. *Allergy* 34(3): 135–154.
- Gugnani H. C., 2000:** Nondermatophytic filamentous keratinophilic fungi and their role in human infection. *Revista Iberoamericana de Micología* 17: 109–114.
- Hall V. C., Goyal S., Davis M. D., Walsh J. S., 2004:** Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Paecilomyces lilacinus*: Report of three cases and review of the literature. *International Journal of Dermatology* 43(9): 648–653.
- Heldal K. K., Halstensen A. S., Thorn J., Djupesland P., Wouters I., Eduard W., Halstensen T. S., 2003a:** Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosol. *Occupational and Environmental Medicine* 60: 444–450.
- Heldal K. K., Halstensen A. S., Thorn J., Eduard W., Halstensen T. S., 2003b:** Airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols assessed by induced sputum. *European Respiratory Journal* 21: 641–645.
- Hibbett D. S., Binder M., Bischoff J. F., Blackwell M., Cannon P. F., Eriksson O. E., Huhndorf S., James T., Kirk P. M., Lücking R., Thorsten Lumbsch H., Lutzoni F., Matheny P. B., McLaughlin D. J., Powell M. J., Redhead S., Schoch C. L., Spatafora J. W., Stalpers J. A., Vilgalys R., Aime M. C., Aptroot A., Bauer R., Begerow D., Benny G. L., Castlebury L. A., Crous P. W., Dai Y. C., Gams W., Geiser D. M., Griffith G. W., Gueidan C., Hawksworth D. L., Hestmark G., Hosaka K., Humber R. A., Hyde K. D., Ironside J. E., Kõljalg U., Kurtzman C. P., Larsson K. H., Lichtwardt R., Longcore J., Miadlikowska J., Miller A., Moncalvo J. M., Mozley-Standridge S., Oberwinkler F., Parmasto E., Reeb V., Rogers J. D., Roux C., Ryvarden L., Sampaio J. P., Schüssler A., Sugiyama J., Thorn R. G., Tibell L., Untereiner W. A., Walker C., Wang Z., Weir A., Weiss M., White M. M., Winka K., Yao Y. J., Zhang N., 2007:** A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111(5): 509–547.
- Horner W. E., Helbling A., Salvaggio J. E., Lehrer S. B., 1995:** Fungal allergens. *Clinical Microbiology Reviews* 8(2): 161–179.

Chan A. H. S., Leung P. C. T., 2011: Occupational Safety and Health Problems of Workers in Hong Kong Recycling Industries – A Preliminary Ergonomic Study. In: Proceeding of the International MultiConference of Engineers and Computer Scientists (Vol II). Hong Kong, March 16–18.

Chełkowski J., 1991: Cereal grain: Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 607 s.

IAQA (Indoor Air Quality Association), 1995: Indoor Air Quality Standard, No. 95–1 Recommended for Florida IAQ Association Inc., Longwood, Florida, USA.

Ivens U. I., Breum N. O., Ebbehøj N., Nielsen B. H., Poulsen O. M., Wurtz H., 1999: Exposure-response relationship between gastrointestinal problems among waste collectors and bioaerosol exposure. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 25(3): 238–245.

Jarvis B. B., Sorenson W. G., Hintikka E. L., Nikulin M., Zhou Y., Jiang J., Wang S., Hinkley S., Etzel R. A., Dearborn D., 1998: Study of toxin production by isolates of *Stachybotrys chartarum* and *Memnoniella echinata* isolated during a study of pulmonary hemosiderosis in infants. *Applied and Environmental Microbiology* 64(10): 3620–3625.

Kalina T., Váňa J., 2005: Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Nakladatelství Karolinum, Praha, 606 s.

Karunasena E., Markham N., Brasel T., Cooley J. D., Straus D. C., 2001: Evaluation of fungal growth on cellulose-containing and inorganic ceiling tile. *Mycopathologia* 150(2): 91–95.

King A. D., Hocking A. D., Pitt J. I., 1979: Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Applied and Environmental Microbiology* 37(5): 959–964.

Kiviranta H., Tuomainen A., Reiman M., Laitinen S., Nevalainen A., Liesivuori J., 1999: Exposure to airborne microorganisms and volatile organic compounds in different types of waste handling. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 6(1): 39–44.

Klánová K., 2000: The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: rooms with and without mould problems; rooms with and without health complaints. *Central European Journal of Public Health* 8(1): 59–61.

Korpi A., Järnberg J., Pasanen A. L., 2009: Microbial volatile organic compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 39(2): 139–193.

Kozajda A. I., Jezak K., Sowiak M., Gutarowska B., Szadkowska-Stanczyk I., 2015: Assessment of exposure to fungi in the heavily contaminated work environment (a solid

waste sorting plant) based on the ergosterol analysis. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 28(5): 813–821.

Kozajda A., Sowiak M., Piotrowska M., Szadkowska-Stańczyk I., 2009: Waste sorting plants--recognition of exposure to biological agents (moulds). *Medycyna Pracy* 60(6): 483–490. (in Polish)

Kozajda A., Szadkowska-Stańczyk I., 2009: Selected health complaints, allergic diseases, hygiene behaviors and knowledge of biohazards among workers of waste sorting plants. *Medycyna Pracy* 60(6): 491–499. (in Polish)

Krajewski J. A., Tarkowski S., Cyprowski M., Szarapinska-Kwaszewska J., Dudkiewicz B., 2002: Occupational exposure to organic dust associated with municipal waste collection and management. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 15(3): 289–301.

Krzysztofik B., 1992: *Mikrobiologia powietrza*. Wydawnictwa Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 198 s. (in Polish)

Larsen L., Gravesen S., 1991: Seasonal variation of outdoor airborne viable microfungi in Copenhagen, Denmark. *Grana* 30(2): 467–471.

Lavoie J., Dunkerley C. J., 2002: Assessing waste collectors' exposure to bioaerosols. *Aerobiologia* 18(3-4): 277–285.

Lavoie J., Dunkerley C. J., Kosatsky T., Dufresne A., 2006: Exposure to aerosolised bacteria and fungi among collectors of commercial, mixed residential, recyclable and compostable waste. *The Science of the Total Environment* 370: 23–28.

Lehtinen J., Tolvanen O., Nivukoski U., Veijanen A., Hanninen K., 2013: Occupational hygiene in terms of volatile organic compounds (VOCs) and bioaerosol at two solid waste management plants in Finland. *Waste Management* 33(4): 964–973.

Lembke L. L., Kniseley R. N., van Nostrand R. C., Hale M. D., 1981: Precision of the all-glass impinger and the andersen microbial impactor for air sampling in solid-waste handling facilities. *Applied and Environmental Microbiology* 42(2): 222–225.

Levy J. I., Hammitt J. K., Spengler J. D., 2000: Estimating the mortality impacts of particulate matter: what can be learned from between-study variability? *Environmental Health Perspectives* 108(2): 109–117.

Malmros P., Sigsgaard T., Bach B., 1992: Occupational health problems due to garbage sorting. *Waste Management & Research* 10(3): 227–234.

- Malta-Vacas J., Viegas S., Sabino R., Viegas C., 2012:** Fungal and microbial volatile organic compounds exposure assessment in a waste sorting plant. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(22-23): 1410–1417.
- Marchand G., Lavoie J., Lazure L., 1995:** Evaluation of bioaerosols in a municipal solid waste recycling and composting plant. *Journal of the Air & Waste Management Association* 45(10): 778–781.
- Marin S., Ramos A. J., Cano-Sancho G., Sanchis V., 2013:** Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology* 60: 218–237.
- Marth E., Reinthaler F. F., Schaffler K., Jelovcan S., Haselbacher S., Eibel U., Kleinhappl B., 1997:** Occupational health risks to employees of waste treatment facilities. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 4: 143–147.
- Martinez K. F., Rao C., Burton N., 2004:** Exposure assessment and analysis for biological agents. *Grana* 43(4): 193–208.
- McCunney R. J., 1986:** Health effects of work at waste water treatment plants: a review of the literature with guidelines for medical surveillance. *American Journal of Industrial Medicine* 9(3): 271–279.
- Medrela-Kuder E., 2003:** Seasonal variations in the occurrence of culturable airborne fungi in outdoor and indoor air in Cracow. *International Biodeterioration & Biodegradation* 52(4): 203–205.
- Mehta S. K., Mishra S. K., Pierson D. L., 1996:** Evaluation of three portable samplers for monitoring airborne fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 62(5): 1835–1838.
- Nersting L., Malmros P., Sigsgaard T., Petersen C., 1991:** Biological health risk associated with resource recovery, sorting of recycle waste and composting. *Grana* 30(2): 454–457.
- Nucci M., Anaissie E., 2007:** Fusarium infections in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Review* 20(4): 695–704.
- O'Brien K., Moss E., Judah D., Neal G., 1983:** Metabolic basis of the species difference to aflatoxin B 1 induced hepatotoxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 114(2): 813–821.
- Ozcan M., Ozcan M. K., Karaarslan A., Karaarslan F., 2003:** Concomitant otomycosis and dermatomycoses: a clinical and microbiological study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 260(1): 24–27.

- Pahren H. R., Clark C. S., 1987:** Microorganisms in municipal solid waste and public health implications. *Critical Reviews in Environmental Control* 17(3): 187–228.
- Palmgren U. G. G. P., Ström G., Blomquist G., Malmberg P., 1986:** Collection of airborne micro-organisms on Nuclepore filters, estimation and analysis—CAMNEA method. *Journal of Applied Microbiology* 61(5): 401–406.
- Park D. U., Ryu S. H., Kim S. B., Yoon C. S., 2011:** An assessment of dust, endotoxin, and microorganism exposure during waste collection and sorting. *Journal of the Air & Waste Management Association* 61(4): 461–468.
- Pasanen A. L., Juutinen T., Jantunen M. J., Kalliokoski P., 1992:** Occurrence and moisture requirements of microbial growth in building materials. *International Biodeterioration & Biodegradation* 30(4): 273–283.
- Pasanen A. L., Pasanen P., Jantunen M. J., Kalliokoski P., 1991:** Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release into the air. *Atmospheric Environment, Part A. General Topics* 25(2): 459–462.
- Pastuszka J. S., Paw U. K. T., Lis D. O., Wlazło A., Ulfing K., 2000:** Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmospheric Environment* 34(22): 3833–3842.
- Pereiro M., Pereiro M. P., De Hoog G. S., Toribio J., 2004:** Cutaneous infection caused by *Alternaria* in patients receiving tacrolimus. *Medical Mycology* 42(3): 277–282.
- Perez H. R., Frank A. L., Zimmerman N. J., 2006:** Health effects associated with organic dust exposure during the handling of municipal solid waste. *Indoor and Built Environment* 15(3): 207–212.
- Pinto M. J. D. V., Veiga J. M., Fernandes P., Ramos C., Gonçalves S., Velho M. M. L. V., Guerreiro J. S., 2015:** Airborne microorganisms associated with packaging glass sorting facilities. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 78: 685–696.
- Pitt J. I., 1994:** The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. *Journal of Medical and Veterinary Mycology* 32(suppl 1): 17–32.
- Pitt J. I., Hocking A. D., 1997:** *Fungi and Food Spoilage*, 2nd edition. Blackie Academic and Professional, London, 593 s.
- Poulsen O. M., Breum N. O., Ebbenhøj N., Hansen Å. M., Ivens U. I., van Lelieveld D., Malmros P., Matthiasen L., Nielsen B. H., Nielsen E. M., Schibye B., Skov T., Stenbæk E. I., Wilkins K. C., 1995a:** Sorting and recycling of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. *The Science of the Total Environment* 168(1): 33–56.

- Poulsen O. M., Breum N. O., Ebbenhøj N., Hansen Å. M., Ivens U. I., van Lelieveld D., Malmros P., Matthiasen L., Nielsen B. H., Nielsen E. M., 1995b:** Collection of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. *Science of the Total Environment* 170(1-2): 1–19.
- Quirce S., Cuevas M., Díez-Gómez M. L., Fernández-Rivas M., Hinojosa M., González R., Losada E., 1992:** Respiratory allergy to Aspergillus-derived enzymes in bakers' asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 90(6): 970–978.
- Rahkonen P., 1992:** Airborne contaminants at waste treatment plants. *Waste Management & Research* 10(5): 411–421.
- Rahkonen P., Ettala M., Laukkanen M., Salkinoja-Salonen M., 1990:** Airborne microbes and endotoxins in the work environment of two sanitary landfills in Finland. *Aerosol Science and Technology* 13(4): 505–513.
- Rapiti E., Sperati A., Fano V., Dell'Orco V., Forastiere F., 1997:** Mortality among workers at municipal waste incinerators in Rome: a retrospective cohort study. *American Journal of Industrial Medicine* 31(5): 659–661.
- Reinthal F. F., Haas D., Feierl G., Schlacher R., Pichler-Semmelrock F. P., Köck M., Wüst G., Feenstra O., Marth E., 1999:** Comparative investigations of airborne culturable microorganisms in selected waste treatment facilities and in neighbouring residential areas. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin* 202(1): 1–17.
- Ribi E., Cantrell J., Takayama K., Amano K., 1983:** Enhancement of antitumour resistance by mycobacterial products and endotoxin. In: Nowotny A. (Ed.): *Beneficial Effects of Endotoxins*. Plenum Press, New York: 529–554
- Robb C. W., Malouf P. J., Rapini R. P., 2003:** Four cases of dermatomycosis: superficial cutaneous infection by *Alternaria* or *Bipolaris*. *Cutis* 72(4): 313–316.
- Rylander R., 1990:** Environmental exposures with decreased risks for lung cancer? *International Journal of Epidemiology* 19(suppl 1): S67–S72.
- Rylander R., 1998:** Microbial cell wall constituents in indoor air and their relation to disease. *Indoor Air* 8(S4): 59–65.
- Santos V., Figueiredo J. P., Pinto M. V., Santos J., 2018:** Occupational exposure to bioaerosols in the waste sorting industry. In: *Proceedings of the 6th International Symposium on Occupation Safety and Hygiene (SHO 2018), Occupational Safety and Hygiene VI, Guimarães, Portugal, March 26–27: 291–296.*
- Schwartz J., Dockery D. W., Neas L. M., 1996:** Is daily mortality associated specifically with fine particles? *Journal of the Air & Waste Management Association* 46(10): 927–939.

Sigsgaard T., Back B., Malmros P., 1990: Respiratory impairment among workers in a garbage-handling plant. *American Journal of Industrial Medicine* 17(1): 92–93.

Sigsgaard T., Malmros P., Nersting L., Petersen C., 1994: Respiratory disorders and atopy in Danish refuse workers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 149(6): 1407–1412.

Skowroń J., Górny R., 2012: The Interdepartmental Commission for Maximum Admissible Concentrations and Intensities for Agents Harmful to Health in the Working Environment: Limit values. In: Augustyńska D., Pośniak M. (Eds.): *Harmful Biological Agents*. Centralny Instytut Ochrony Pracy—Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa. (in Polish)

Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/851 ze dne 30. května 2018, kterou se mění směrnice 2008/98/ES o odpadech. In: *Úřední věstník Evropské unie*, L 150, 14.6.2018, s. 109–140.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/852 ze dne 30. května 2018, kterou se mění směrnice 94/62/ES o obalech a obalových odpadech. In: *Úřední věstník Evropské unie*, L 150, 14.6.2018, s. 141–154.

Smith J. E., Moss M. O., 1985: *Mycotoxins. Formation and significance*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 148 s.

Speijers G. J. A., Speijers M. H. M., 2004: Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters* 153(1): 91–98.

Teixeira J. V., Miranda S., Monteiro R. A., Lopes F. V., Madureira J., Silva G. V., Pestana N., Pinto E., Vilar V. J. P., Boaventura R. R. A., 2013: Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environmental Monitoring and Assessment* 185(1): 59–72.

Tolvanen O. K., 2001: Airborne bio-aerosols and noise in a dry waste treatment plant in Pietarsaari, Finland. *Waste Management & Research* 19(2): 108–114.

Tolvanen O. K., Hänninen K. I., 2006: Mechanical–biological waste treatment and the associated occupational hygiene in Finland. *Waste Management* 26(10): 1119–1125.

Tolvanen O. K., Hänninen K. I., Lappi S. H., Rantala P., 1999: Occupational hygiene at a dry waste treatment plant in Finland. In: *Proceedings of the 7th North American Waste-to-Energy Conference*, Tampa (FL), USA, May 17–19: 163–172.

Valavanidis A., Fiotakis K., Vlachogianni T., 2008: Airborne particulate matter and human health: toxicological assessment and importance of size and composition of particles for oxidative damage and carcinogenic mechanisms. *Journal of Environmental Science and Health. Part C* 26(4): 339–362.

Viegas C., Faria T., de Oliveira A. C., Caetano L. A., Carolino E., Quintal-Gomes A., Twarużek M., Kosicki R., Soszczyńska E., Viegas S., 2017: A new approach to assess occupational exposure to airborne fungal contamination and mycotoxins of forklift drivers in waste sorting facilities. *Mycotoxin Research* 33(4): 285–295.

Viegas C., Gomes A. Q., Abegao J., Sabino R., Graca T., Viegas S., 2014a: Assessment of fungal contamination in waste sorting and incineration – Case study in Portugal. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 77(1-3): 57–68.

Viegas S., Osteresch B., Almeida A., Cramer B., Humpf H. U., Viegas C., 2018: Enniatin B and ochratoxin A in the blood serum of workers from the waste management setting. *Mycotoxin Research* 34(2): 85–90.

Viegas S., Sabino R., Veríssimo C., Monteiro A., Viegas C., 2012: Fungi, MVOCs and dust exposure assessment in poultry production. *Mycoses* 55(suppl 4): 323.

Viegas S., Veiga L., Figueiredo P., Almeida A., Carolino E., Viegas C., 2014b: Assessment of workers' exposure to aflatoxin B1 in a Portuguese waste industry. *Annals of Occupational Hygiene* 59(2): 173–181.

Vieira M. R., Milheiro A., Pacheco F. A., 2001: Phaeohyphomycosis due to *Cladosporium cladosporioides*. *Medical Mycology* 39(1): 135–137.

Vyhláška č. 6/2003 Sb., kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb.

Walser S. M., Gerstner D. G., Brenner B., Bünger J., Eikmann T., Janssen B., Kolb S., Kolk A., Nowak D., Raulf M., Sagunski H., Sedlmaier N., Suchenwirth R., Wiesmüller G., Wollin K. M., Tesseraux I., Herr C. E. W. (2015): Evaluation of exposure–response relationships for health effects of microbial bioaerosols—a systematic review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 218(7): 577–589.

WHO (World Health Organization), 1988: Indoor air quality. Biological contaminants. Report on a WHO meeting, Rautavaara, August 29–September 2. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark.

Wosten H. A., De Vries O. M., Wessels J. G., 1993: Interfacial self-assembly of a fungal hydrophobin into a hydrophobic rodlet layer. *The Plant Cell* 5(11): 1567–1574.

Würtz H., Breum N. O., 1997: Exposure to microorganisms during manual sorting of recyclable paper of different quality. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 4: 129–135.

Yadomae T., 2000: Structure and biological activities of fungal beta-1, 3-glucans. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 120(5): 413–431.

Yao M., Mainelis G., 2006: Effect of physical and biological parameters on enumeration of bioaerosols by portable microbial impactors. *Journal of Aerosol Science* 37(11): 1467–1483.

Yao M., Mainelis G., 2007: Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 4(7): 514–524.

9. SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Rozmnožovací struktury vybraných mikroskopických hub.....6

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled mikroskopických hub izolovaných ze vzorků ovzduší pracovního prostředí v dotřídňovacích zařízeních.....9

Tabulka 2: Přehled mikroskopických hub izolovaných z obličeje a z povrchu vybavení pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení.....10

Tabulka 3: Přehled naměřených koncentrací KTJ mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí dotřídňovacích zařízení v závislosti na použitém typu vzorkovacího zařízení.....15

Tabulka 4: Přehled naměřených koncentrací KTJ mikroskopických hub v ovzduší pracovního prostředí různých typů zařízení pro nakládání s odpady v závislosti na použitém typu vzorkovacího zařízení.....17

10. PŘÍLOHY

Příloha 1: Studie I - *Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities*

Příloha 2: Studie II - *Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities*

Příloha 3: Studie III - *Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant-Case study in Czech Republic*

Příloha 4: Studie IV - *Fungal contamination in working environment of waste sorting facilities: A review*

Příloha 5: Odborný životopis

Příloha 6: Publikační přehled

Studie I

Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities

International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health
29(3):493–502

METHODS OF SAMPLING AIRBORNE FUNGI IN WORKING ENVIRONMENTS OF WASTE TREATMENT FACILITIES

KRISTÝNA ČERNÁ¹, ZDEŇKA WITTLINGEROVÁ¹, MAGDALÉNA ZIMOVÁ¹, and ZDENĚK JANOVSKÝ^{2,3}

¹Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic

Faculty of Environmental Sciences, Department of Applied Ecology

²Charles University in Prague, Prague, Czech Republic

Faculty of Science, Department of Botany

³Academy of Sciences of the Czech Republic, Průhonice, Czech Republic

Institute of Botany

Abstract

Objectives: The objective of the present study was to evaluate and compare the efficiency of a filter based sampling method and a high volume sampling method for sampling airborne culturable fungi present in waste sorting facilities. **Material and Methods:** Membrane filters method was compared with surface air system method. The selected sampling methods were modified and tested in 2 plastic waste sorting facilities. **Results:** The total number of colony-forming units (CFU)/m³ of airborne fungi was dependent on the type of sampling device, on the time of sampling, which was carried out every hour from the beginning of the work shift, and on the type of cultivation medium ($p < 0.001$). Detected concentrations of airborne fungi ranged 2×10^2 – 1.7×10^6 CFU/m³ when using the membrane filters (MF) method, and 3×10^2 – 6.4×10^4 CFU/m³ when using the surface air system (SAS) method. **Conclusions:** Both methods showed comparable sensitivity to the fluctuations of the concentrations of airborne fungi during the work shifts. The SAS method is adequate for a fast indicative determination of concentration of airborne fungi. The MF method is suitable for thorough assessment of working environment contamination by airborne fungi. Therefore we recommend the MF method for the implementation of a uniform standard methodology of airborne fungi sampling in working environments of waste treatment facilities.

Key words:

Airborne fungi, Waste sorting facility, Filter based bioaerosol sampling, Surface air system method, Working environment, Plastics

INTRODUCTION

In recent years, municipal solid waste production has been growing worldwide. Because of its excessive production, there has been an increasing pressure on recycling, especially of plastic waste. Municipal solid waste from

collecting containers is accumulated and subsequently handled in waste sorting facilities.

Municipal solid waste is usually contaminated by many microorganisms [1]. Fungi constitute an essential part of the solid waste. They are capable of overgrowing

Grant No. 4222013123163 entitled “Methods for detection of microscopic fungi in working environment of waste treatment facilities” supported by Grant Agency of the Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague. Project manager: Kristýna Černá, M.Sc.

Received: January 12, 2015. Accepted: July 8, 2015.

Corresponding author: K. Černá, Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Environmental Sciences, Department of Applied Ecology, Kamýčká 129, 165 21 Prague 6 – Suchbát, Czech Republic (e-mail: cernakristyna@tzp.czu.cz).

the organic residues adhering to the waste and can produce a large number of reproductive particles. During the waste handling, the particles of fungi can be released into the working environment and become a part of bioaerosol [2]. The facility employees may be exposed to the bioaerosol primarily through inhalation [3]. High concentration of the bioaerosol in the working environment may cause a number of health problems [4,5].

Studies dealing with the problems of contamination of working environments in waste treatment facilities show that the facilities are environments with increased concentrations of airborne fungi. The concentrations may vary within a wide range depending on the sampling site, sampling method and processing of samples: 7×10^2 – 7.2×10^3 colony-forming units (CFU)/m³ [3], 4.7×10^2 – 2.9×10^5 CFU/m³ [6], 2.7×10^2 – 1.6×10^6 CFU/m³ [7], 0 – 2.2×10^6 CFU/m³ [8], 0.9×10^3 – 2.3×10^5 CFU/m³ [9], 0.3×10^3 – 1.3×10^5 CFU/m³ [10], 1.3×10^2 – 7.3×10^4 CFU/m³ [11]. The most commonly used sampling methods of airborne fungi in working environments of waste treatment facilities utilize the following sampling devices: Andersen sampler [3,6–8,12] and filter holder with a flow pump [2,6,8–10].

Although the European standards for measuring bioaerosol have been already established (BS-EN 13098:2001 [13], BS-EN 14042:2003 [14]), a uniform methodology for monitoring and evaluating airborne fungi in working environments of waste treatment facilities has not been yet implemented. In most European countries, binding legal limits have not been established either. The most important task in the establishment of this methodology is to determine a suitable sampling method.

The sampling method to be used for the intended uniform methodology should meet the following criteria: the sampling method must respond to the characteristics of the sorting process (e.g., the workload of the sorting line, the quality of the waste) sensitively enough; the results of measurement must be consistent and repeatable, i.e., the sampling method must be repeatable in the detection

of differences (due to different technology of sorting process) between various waste treatment facilities. Finally, the sampling method must meet the criterion of low operation costs.

In this study, we used 2 methods of airborne fungi sampling, the surface air system (SAS) method and the membrane filters (MF) method, which could meet the criteria specified above.

The SAS method uses a portable (battery-powered) high flow sampler. The advantages of portable microbial samplers include their light weight, ease of use, and high sampling flow rates without the need for post-collection processing [15]. The portable SAS sampler is able to enumerate airborne microorganisms with the relative overall efficiency of 0.7; however, this relative overall efficiency was determined at a relatively low concentration of cultivable airborne microorganisms [16]. Moreover, the efficiency of any air sampler will vary depending on the device used and the nature of the sampled aerosol [15,17]. The SAS method was used for sampling of airborne fungi in many studies [e.g., 18,19].

The MF method is considered to be suitable for using a personal sampler for collection in the breathing zone [20]. The trapping efficiency of membrane filters may vary between 62–99% [21]. However, bioefficiency of filter samplers depends on the microbial species, type of membrane filter, sampling time and relative humidity [21,22]. The MF sampling method is more accurate in highly contaminated environments [11].

Many types of cultivation media are used for detecting of airborne fungi in working environments of waste treatment facilities, most commonly the MEA (malt extract agar) [6–8,10,11], SDA (Sabouraud dextrose agar) [2,3] or DRBC (dichloran rose-Bengal chloramphenicol) [8]. Cultivation medium YGC (yeast extract glucose chloramphenicol) was used for the determination of airborne fungi in another indoor environment [23]. In this study, we directly compare the properties of these 4 media in terms of their utility for cultivation of airborne fungi.

The aim of this study is to compare the results of the detection of airborne fungi by the SAS method with the results of the detection by the MF method. Based on the comparison of the results, the best method for the implementation of a uniform standard methodology for sampling and processing of samples of airborne fungi in the working environment of waste treatment facilities has been chosen. The comparison of the 2 methods was carried out in 2 waste sorting facilities during 3 different seasons and at various times of work shifts.

MATERIAL AND METHODS

Sampling procedure

The study was conducted in 2 plastic waste sorting facilities in the Czech Republic. The analysis of the working environment was carried out in both facilities. Based on the analysis, a sampling place with the highest expected exposure of the employees to bioaerosol and dust was selected. The sampling place was next to the conveyor belt where the employees sort plastic waste. Samples were collected about 1.5 m above the ground.

In both facilities, the samples were collected in 2013 and 2014 (October 2013, January 2014, May 2014). During

each sampling season, 10 measurements were performed at hourly intervals within 1 work shift, the 1st before the beginning of the work shift and the last one hour after the end of the work shift. The samples of airborne fungi obtained by the SAS and MF methods were cultivated on Petri dishes containing 4 different types of cultivation media, with 6 repetitions of each medium. At each sampling time (i.e., each hour), the temperature and relative air humidity were recorded (see Table 1 for descriptive statistics of the ambient conditions during measurements).

Sampling devices

Two sampling devices were selected for the sampling of airborne fungi. Single head impaction air sampler Sampl'air Lite (AES Laboratoire Inc., France) which is a part of the SAS method, and a 37-mm Filter Holder (BGI Inc., USA) connected with a portable constant-flow Leland Legacy Sample Pump (SKC Ltd., UK), which is a part of the MF method.

Impaction air sampler

Air samples were collected onto Petri dishes (90 mm), each containing 25 ml of cultivation medium (see below)

Table 1. Descriptive statistics of the ambient conditions during the measurements

Season and sorting facility	Temperature [°C]		Relative air humidity [%]	
	M	SE	M	SE
Autumn				
A	8.6	0.3	78.5	2.0
B	17.0	0.4	71.9	1.6
Spring				
A	12.0	0.2	76.1	0.8
B	19.6	0.6	59.5	1.3
Winter				
A	6.7	0.2	69.9	1.5
B	14.7	0.3	60.3	1.1

M – mean; SE – standard error.

placed in the head of the sampling device. The sampler was set at the lowest adjustable flow rate of 100 l/min (impaction speed of 3 m/s) and the shortest sampling period of 30 s. The amount of air sampled was 50 l. After the sampling, Petri dishes were incubated at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ for 72 h. After incubation, colonies were counted and fungal counts were recalculated as the number of colony-forming units (CFU)/m³.

Filter holder with a flow pump

Pre-dried nitrocellulose membrane filters PRAGOP-OR 4 (Pragochemia, Czech Republic) with the pore size of 0.85 μm and the diameter of 35 mm were placed and sealed in a pre-sterilized filter holder. The filter holder was connected by rubber tubing to the flow pump calibrated to ensure the flow rate of 5 l/min. The amounts of air sampled were 120 l [24] thus, the sampling period per 1 sample was 24 min. After the sampling period, the filter was placed into the sterile airtight polypropylene container, closed and brought to the laboratory for analysis. The extraction of the fungi was performed as follows: 10 ml of sterile distilled water containing 0.05 ml of Tween 80 was added to the filter into the container. The closed container was being subsequently shaken for 15 min using a shaker. After the extraction, 0.2 ml of fluid was sucked off with a glass pipette and plated out on the cultivation medium in Petri dishes. After incubation, the dishes were evaluated by the procedure identical to that applied in the SAS method. The temperature and air humidity were determined using a Testo 175 H1 Data Logger (Testo AG, Germany).

Cultivation media

Four types of cultivation media with added antibiotics were used for the collection of airborne fungi: malt extract agar (Oxoid Ltd., UK) with the addition 100 mg/l of chloramphenicol supplement (Oxoid Ltd., UK); Sabouraud dextrose agar (Oxoid Ltd., UK) with the addition 100 mg/l of chloramphenicol supplement (Oxoid Ltd., UK); DRBC

agar base (Oxoid Ltd., UK) with the addition 100 mg/l of chloramphenicol supplement (Oxoid Ltd., UK); and YGC-medium ready-poured plate (Oxoid Ltd., UK). The cultivation media MEA, DRBC and SDA were prepared according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

The data were analyzed by means of hierarchical ANOVA due to the split-plot structure of the dataset with 6 levels (see Crawley (2007) [25] or Scheiner and Gurevitch (1993) [26] for more detailed discussion of similar designs). The regression diagnostic plots from preliminary analysis suggested violation of the assumption of homogeneity of variance. Taking the logarithms of the response variable (abundance of CFU of airborne fungi) improved the model so that it satisfied the assumption. The tested predictors were: waste sorting facility, sampling device, sampling time, cultivation medium and all their interactions. Season of the year delimited blocks in the analysis (i.e., the highest hierarchical level of variance). All computations were performed using R 3.0.1 (R Core Development Team) statistical environment (base installation) [27].

RESULTS

In total, 2880 samples were collected. The detected concentrations of airborne fungi were dependent on the type of sampling device, on the time of sampling, which was carried out every hour from the beginning of the work shift, and on the type of cultivation medium (all $p < 0.001$) (Table 2).

Large proportion of variability in the detected concentrations of airborne fungi was explained by variability between the sampling devices (39.9% of the total variability) and variability among the times of measurements (38% of the total variability) (Table 3).

The particular differences in descriptive statistics between the levels of predictors are listed in Table 4.

Table 2. Hierarchical ANOVA of log-number of colony-forming units (CFU) of airborne fungi reported for individual split-plot levels

Predictor	df	Explained variation* [%]	Sum of squares	p
Variation among seasons				
residual variation	2	100.0	913.2	
Variation among factories within season				
factory identity	1	42.6	219.9	n.s.
residual variation	2	57.4	295.9	
Variation among samplers within factory and season				
sampler type	1	96.1	2 735.3	< 0.001
factory × sampler	1	0.0	0.2	n.s.
residual variation	4	3.9	112.1	
Variation among hours within sampler type, factory and season				
hour of sampling	9	36.0	978.3	< 0.001
factory × hour	9	8.0	217.7	n.s.
sampler × hour	9	2.4	65.2	n.s.
factory × sampler × hour	9	2.5	66.7	n.s.
residual variation	72	51.1	1 389.1	
Variation among media within hour, sampler type, factory and season				
medium	3	21.9	20.1	< 0.001
factory × medium	3	1.6	1.5	n.s.
sampler × medium	3	1.1	1.0	n.s.
hour × medium	27	5.4	4.9	n.s.
factory × sampler × medium	3	0.7	0.7	n.s.
factory × hour × medium	27	5.8	5.3	n.s.
sampler × hour × medium	27	5.0	4.6	n.s.
factory × sampler × hour × medium	27	4.1	3.8	n.s.
residual variation	240	54.4	49.9	
Variation among dishes within medium, hour, sampler type, factory and season				
residual variation	2 400	100.0	58.2	

df – degrees of freedom; n.s. – not statistically significant.

*Refers to variation within the given hierarchical level.

Table 3. Proportions of total variation in response (log-number of colony-forming units (CFU) of airborne fungi) explained by each hierarchical level

Level of variation	Proportion of total variation [%]
Among seasons	12.8
Among factories within season	7.2
Among samplers within factory and season	39.9
Among hours within sampler type, factory and season	38.0
Among mediums within hour, sampler type, factory and season	1.3
Among dishes within medium, hour, sampler type, factory and season	0.8

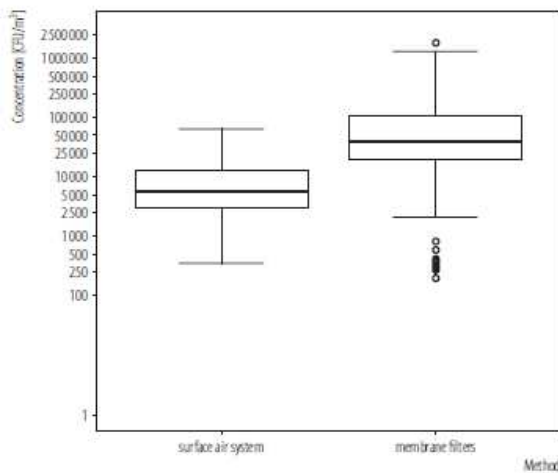
Table 4. Descriptive statistics of airborne fungi with respect to considered predictors

Predictor	Airborne fungi [CFU/m ³]			
	M	SD	back-transformed M	95% CI
Season				
spring	124 652	211 190	35 193	31 508–39 309
autumn	36 660	67 489	13 865	12 641–15 208
winter	20 627	37 043	9 154	8 455–9 909
Sorting facility				
A	34 446	58 582	12 493	11 559–13 502
B	86 847	181 805	21 710	19 928–23 650
Sampler				
filter holder	9 934	10 342	6 215	5 901–6 545
air sampler	111 359	180 568	43 642	40 436–47 102
Medium				
DRBC	67 070	148 565	18 984	16 913–21 309
YGC	59 231	132 208	15 542	13 794–17 510
MEA	60 306	137 170	16 110	14 330–18 111
SDA	55 978	131 679	15 476	13 763–17 402

DRBC – dichloran rose-Bengal chloramphenicol; YGC – yeast extract glucose chloramphenicol; MEA – malt extract agar; SDA – Sabouraud dextrose agar.

SD – standard deviation; back-transformed M – mean on the logarithmic scale (the scale of measurements, where approximation by normal distribution and thus data analysis are possible), which was back-transformed to the original scale; 95% CI – 95% confidence interval of the back-transformed mean (please note the asymmetry of confidence intervals on the original scale, which corresponds to the skewness of the response variable).

Other abbreviations as in Table 1 and 2.



CFU – colony-forming units.

Fig. 1. Concentrations of airborne fungi depending on the type of sampling method

Although the dependence of the detected concentrations of airborne fungi on the type of cultivation medium was statistically significant ($p < 0.001$) (Table 2), variability explained by the type of the used medium was negligible when compared to the total (1.3%) (Table 3). The highest numbers of detected CFU of airborne fungi within all measurements were detected on DRBC cultivation medium compared to the other cultivation media (SDA, MEA, YGC).

The effect of the type of the waste sorting facility was not significant (Table 2). Variability between waste sorting facilities explained only 7.2% of the total variability (Table 3).

The SAS method detected more consistently lower concentrations of airborne fungi compared to the MF method. The concentrations ranged 2×10^2 – 1.7×10^6 CFU/m³ when using the MF method, and 3×10^2 – 6.4×10^4 CFU/m³ when using the SAS method (Figure 1).

In terms of the comparison of the 2 sampling methods, it is essential that we found no interaction between the type of sampling device and the other predictors (waste sorting

facility, sampling time, cultivation medium) (Table 2). Both sampling devices responded equally sensitively to the sampling time and the type of cultivation medium.

DISCUSSION

Statistically significant differences in the detected concentrations of airborne fungi were found to occur between the measurements during the work shift. Variability in the concentrations of airborne fungi during the work shift could be caused by the quality of sorted waste (contamination by fungi) [9] and the technology of the sorting process (e.g., the open conveyor belt, efficiency of the ventilation system, accumulation of wet waste in sorting facility, organization of work) [2,12]. At the beginning of the work shift, an increasing trend in the concentration of airborne fungi was observed; later on it was constant and then slightly decreased. This trend appeared to be related to the increasing amount of sorted waste from the beginning of the work shift and then decreasing intensity of sorting process towards the end of the work shift associated with the depletion of waste supply for sorting.

As far as cultivation media are concerned, higher numbers of CFU of fungi were detected on DRBC cultivation medium. The surface of the cultivation media SDA, MEA and YGC was often covered by Mucorales fungi that could limit the growth of other fungal species [28] and thus prevent the accurate reading of CFU number of fungi. On the surface of the cultivation medium DRBC, Mucorales fungi growth was restricted [29] and thus the growth of other fungal species was not limited. For this reason, it seems advisable to detect CFU of airborne fungi from working environments on DRBC cultivation medium.

The results of detected concentrations of airborne fungi show a significant difference between the SAS and the MF method in the detection of airborne fungi. The MF method detected consistently higher concentrations of airborne fungi in comparison to the SAS method. The lower ability of SAS sampler to enumerate airborne

fungi in comparison to other types of air samplers was also observed in other studies [15,16,30,31]. On the other hand, both sampling methods responded equally sensitively to the fluctuation of airborne fungi concentrations, since otherwise significant interactions of sampler type with other predictors would be detected on such an extensive dataset. This also suggests that a calibration coefficient could be prospectively introduced, which would relate the quantitative measurements of the 2 sampling methods to each other.

Using the MF method, airborne fungi were collected onto the membrane filter from which the particles of the fungi were released into the water. Part of this fluid was spread over the entire surface of the cultivation medium in Petri dish, which allowed CFU of fungi to grow uniformly and to be easily countable [32]. On the other hand, when using the SAS method, the airborne fungi were collected directly on the surface of the cultivation medium in Petri dish. Throughout the sampling, CFU of airborne fungi tended to accumulate at several points on the surface of the cultivation medium. The accumulation of more CFU of fungi at the several points on the surface of the cultivation medium could lead to mutual overgrowing or growth restriction of CFU of fungi and thus to inaccurate counting of their number [33]. Therefore, it is necessary to use short times and lower flow rates for sampling of airborne fungi when high volume samplers are used in highly contaminated environments. In our study, the amount of air sampled was 50 l. This volume of air samples was chosen since higher volumes resulted in overloading.

The results of our measurements show that both sampling methods can be used for monitoring the concentration of airborne fungi in the working environment of waste treatment facilities. The advantage of the SAS method is an easy preparation of the sampling device as well as the subsequent processing of the samples [15]. Apart from Petri dishes with cultivation media, the SAS method does not require any other equipment; therefore this method is

suitable for fast indicative determination of the concentration of airborne fungi. The MF method is more time-consuming regarding the preparation of the sampling device, collection and subsequent processing of samples [32]. The results of sampling show that the MF method provides better information on the concentration of airborne fungi. The MF method is more suitable for a thorough assessment of the contamination of the working environment by airborne fungi in comparison to the SAS method. Therefore, we recommend using the MF method in the context of the unified methodology for the sampling of airborne fungi from working environments of waste treatment facilities.

CONCLUSIONS

The surface air system method proved to be fully comparable with the membrane filters method. Despite the overall lower absolute concentration of airborne fungi detected by the surface air system method, both sampling methods respond consistently and reliably to the examined factors affecting the concentration of airborne fungi. Therefore they are suitable for airborne fungi monitoring in waste treatment facilities. The surface air system method is suitable for fast indicative determination of the concentration of airborne fungi. However, in the context of the unified methodology for the sampling of airborne fungi from working environments of waste treatment facilities, we recommend using the membrane filters method.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank M.Sc. Pavlina Kolarova for help with language corrections.

REFERENCES

1. Pahren HR, Clark CS. Microorganisms in municipal solid waste and public health implications. *Crit Rev Environ Control*. 1987;17(3):187–228. <http://dx.doi.org/10.1080/10643388709388334>.

2. Park D-U, Ryu S-H, Kim S-B, Yoon C-S. An assessment of dust, endotoxin, and microorganism exposure during waste collection and sorting. *J Air Waste Manag Assoc.* 2011;61(4):461–8, <http://dx.doi.org/10.3155/1047-3289.61.4.461>.
3. Marchand G, Lavoie J, Lazure L. Evaluation of bioaerosol in a municipal solid waste recycling and composting plant. *J Air Waste Manag Assoc.* 1995;45(10):778–81, <http://dx.doi.org/10.1080/10473289.1995.10467406>.
4. Perez HR, Frank AL, Zimmerman NJ. Health effects associated with organic dust exposure during the handling of municipal solid waste. *Indoor Built Environ.* 2006;15(3):207–12, <http://dx.doi.org/10.1177/1420326X060066427>.
5. Eker HH, Bayraktarlı RY, İşsever H, Ulaş T, Erelel M, Eser AI, et al. Metabolic syndrome in collection and disposal of solid waste sector. *Int J Occup Med Environ Health.* 2012;25(1):14–21, <http://dx.doi.org/10.2478/s13382-012-0004-z>.
6. Lehtinen J, Tolvanen O, Nivukoski U, Veijanen A, Hänninen K. Occupational hygiene in terms of volatile organic compounds (VOCs) and bioaerosol at two solid waste management plants in Finland. *Waste Manag.* 2013;33(4):964–73, <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2012.11.010>.
7. Reinthaler FF, Haas D, Feierl G, Schlacher R, Pichler-Semmelrock FP, Köck M, et al. Comparative investigations of airborne culturable microorganisms in selected waste treatment facilities and in neighbouring residential areas. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1999;202(1):1–17, [http://dx.doi.org/10.1016/S0934-8859\(99\)80046-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0934-8859(99)80046-7).
8. Tolvanen OK, Hänninen KI. Mechanical-biological waste treatment and the associated occupational hygiene in Finland. *Waste Manag.* 2006;26(10):1119–25, <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2005.07.020>.
9. Würtz H, Breum NO. Exposure to microorganisms during manual sorting of recyclable paper of different quality. *Ann Agric Environ Med.* 1997;4:129–35.
10. Krajewski JA, Tarkowski S, Cyprowski M, Szarapińska-Kwaszewska J, Dudkiewicz B. Occupational exposure to organics dust associated with municipal waste collection and management. *Int J Occup Med Environ Health.* 2002;15(3):289–301.
11. Rähkonen P. Airborne contaminants at waste treatment plants. *Waste Manag Res.* 1992;10(5):411–21, <http://dx.doi.org/10.1177/0734242X9201000504>.
12. Kiviranta H, Tuomainen A, Reiman M, Laitinen S, Nevalainen A, Liesivuori J. Exposure to airborne microorganisms and volatile organic compounds in different types of waste handling. *Ann Agric Environ Med.* 1999;6(1):39–44.
13. BS-EN 13098:2001. Workplace atmosphere. Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin. London: British Standards Institution; 2001.
14. BS-EN 14042:2003. Workplace atmospheres. Guide for the application and use of procedures for the assessment of exposure to chemical and biological agents. London: British Standards Institution; 2003.
15. Yao M, Mainelis G. Effect of physical and biological parameters on enumeration of bioaerosols by portable microbial impactors. *J Aerosol Sci.* 2006;37(11):1467–83, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaerosci.2006.06.005>.
16. Yao M, Mainelis G. Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols. *J Occup Environ Hyg.* 2007;4(7):514–24, <http://dx.doi.org/10.1080/15459620701407388>.
17. Burge HA, Solomon WR. Sampling and analysis of biological aerosols. *Atmos Environ.* 1987;21(2):451–6, [http://dx.doi.org/10.1016/0004-6981\(87\)90026-6](http://dx.doi.org/10.1016/0004-6981(87)90026-6).
18. Horner WE, Worthan AG, Morey PR. Air- and dustborne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(11):6394–400, <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.70.11.6394-6400.2004>.
19. Perdelli F, Cristina ML, Sartini M, Spagnolo AM, Dalla M, Ottria G, et al. Fungal contamination in hospital environments. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27(1):44–7.
20. Blomquist G, Palmgren U, Ström G. Improved techniques for sampling airborne fungal particles in highly contaminated environments. *Scand J Work Environ Health.* 1984;10(4):253–8, <http://dx.doi.org/10.5271/sjweh.2334>.
21. Liu BYH, Lee KW. Efficiency of membrane and nucleopore filters for submicrometer aerosols. *Environ Sci*

- Technol. 1976;10(4):345–50, <http://dx.doi.org/10.1021/es60115a002>.
22. Wang Z, Reponen T, Grinshpun SA, Górný RL, Willeke K. Effect of sampling time and air humidity on the bioefficiency of filter samplers for bioaerosol collection. *J Aerosol Sci.* 2001;32(5):661–74, [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-8502\(00\)00108-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-8502(00)00108-7).
23. Borrego S, Lavin P, Perdomo I, de Saravia SG, Guaiamet P. Determination of indoor quality in archives and biodeterioration of the documentary heritage. *ISRN Microbiol.* 2012;2012:1–10, <http://dx.doi.org/10.5402/2012/680598>.
24. Durand KTH, Muilenberg ML, Burge HA, Seixas NS. Effect of sampling time on the culturability of airborne fungi and bacteria sampled by filtration. *Ann Occup Hyg.* 2002;46(1):113–8, <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mef007>.
25. Crawley MJ. *The R book*. Chichester: John Wiley & Sons, Inc.; 2007.
26. Scheiner SM, Gurevitch J. *Design and analysis of ecological experiments*. London: Chapman and Hall; 1993. p. 235–66.
27. R Development Core Team [Internet]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2013 [cited 2014 June 6]. Available from: <http://www.R-project.org>.
28. Dijksterhuis J, Samson RA. Zygomycetes. In: de Blackburn CW, editor. *Food spoilage microorganisms*. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.; 2006. p. 415–36.
29. King AD Jr, Hocking AD, Pitt JI. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl Environ Microbiol.* 1979;37(5):959–64, [http://dx.doi.org/0099-2240/79/05-0959/06\\$02.00/0](http://dx.doi.org/0099-2240/79/05-0959/06$02.00/0).
30. Buttner MP, Stetzenbach LD. Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects on human activity on air sampling. *Appl Environ Microbiol.* 1993;59(5):219–26.
31. Bellin P, Schillinger J. Comparison of field performance of the Andersen N6 single stage and the SAS sampler for airborne fungal propagules. *Indoor Air.* 2001;11(1):65–8, <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0668.2001.011001065.x>.
32. Martinez KF, Rao C, Burton N. Exposure assessment and analysis for biological agents. *Grana.* 2004;43(4):193–208, <http://dx.doi.org/10.1080/00173130410000794>.
33. Eduard W, Heederick D. Methods for quantitative assessment of airborne levels of noninfectious microorganisms in highly contaminated work environments. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1998;59(2):113–27, <http://dx.doi.org/10.1080/15428119891010370>.

Studie II

Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities

Medycyna Pracy 68(1):1-9

Kristýna Černá¹
Zdeňka Wittlingerová¹
Magdaléna Zimová¹
Zdeněk Janovský^{2,3}

EXPOSURE TO AIRBORNE FUNGI DURING SORTING OF RECYCLABLE PLASTICS IN WASTE TREATMENT FACILITIES

¹ Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic
Faculty of Environmental Sciences, Department of Applied Ecology

² Charles University in Prague, Prague, Czech Republic
Faculty of Science, Department of Botany

³ Academy of Sciences of Czech Republic, Průhonice, Czech Republic
Institute of Botany

ABSTRACT

Background: In working environment of waste treatment facilities, employees are exposed to high concentrations of airborne microorganisms. Fungi constitute an essential part of them. This study aims at evaluating the diurnal variation in concentrations and species composition of the fungal contamination in 2 plastic waste sorting facilities in different seasons. **Material and Methods:** Air samples from the 2 sorting facilities were collected through the membrane filters method on 4 different types of cultivation media. Isolated fungi were classified to genera or species by using a light microscopy. **Results:** Overall, the highest concentrations of airborne fungi were recorded in summer (9.1×10^3 – 9.0×10^5 colony-forming units (CFU)/m³), while the lowest ones in winter (2.7×10^3 – 2.9×10^5 CFU/m³). The concentration increased from the beginning of the work shift and reached a plateau after 6–7 h of the sorting. The most frequently isolated airborne fungi were those of the genera *Penicillium* and *Aspergillus*. The turnover of fungal species between seasons was relatively high as well as changes in the number of detected species, but potentially toxigenic and allergenic fungi were detected in both facilities during all seasons. **Conclusions:** Generally, high concentrations of airborne fungi were detected in the working environment of plastic waste sorting facilities, which raises the question of health risk taken by the employees. Based on our results, the use of protective equipment by employees is recommended and preventive measures should be introduced into the working environment of waste sorting facilities to reduce health risk for employees. Med Pr 2017;68(1):1–9

Key words: occupational exposure, airborne fungi, waste sorting facilities, plastic waste, potential health risk, identification of fungi

Corresponding author: Kristýna Černá, Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Environmental Sciences, Department of Applied Ecology, Kamýcká 129, 165 21 Prague 6 – Suchbátka, Czech Republic, e-mail: cernakristyna@fzp.czu.cz
Received: June 11, 2016, accepted: September 22, 2016

INTRODUCTION

In many working environments of waste management, employees are exposed over long periods to high concentrations of airborne microorganisms. Many studies by different authors have recently pointed out health risks associated with such environments [1–3]. Waste sorting facilities represent one such working environment since waste in sorting facilities is frequently contaminated by organic residues that serve as a nutrient substrate to numerous microorganisms. Fungi make up an important part of these microorganisms and

multitude of their mycelial fragments and other dispersal particles may be released during waste handling into the working environment [4].

In waste sorting facilities, high concentrations of airborne fungi were found varying within a wide range of values depending on the sampling site, sampling method and processing of samples (1.9×10^3 – 1.6×10^4 colony-forming units (CFU)/m³) [5], 0.8 – 2.4×10^4 CFU/m³ [4], 6.5×10^2 – 2.5×10^4 CFU/m³ [6], 0.3 – 1.6×10^5 CFU/m³ [7], 7.8×10^3 – 2.3×10^5 CFU/m³ [8], 1.5×10^3 – 2.9×10^5 CFU/m³ [9]). Generally, the high amounts of airborne fungi particles inhaled by employees in sorting facilities may result in

Funding: grant No. 4222013123163 entitled “Fungal contamination in working environment of selected waste sorting facilities” by Grant Agency of the Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague. Project manager: Kristýna Černá, M.Sc.

different health problems such as respiratory diseases (upper airway inflammation, cough, dyspnea, whistling breath, allergic diseases) [10,11] and gastrointestinal problems (diarrhea) [12].

When evaluating the employees' exposure to microscopic fungi, it is also necessary not only to determine airborne fungi concentrations but also to identify their species composition since their harmfulness to humans varies [13]. Fungal species composition in air samples was described only in several studies with genera *Penicillium* and *Aspergillus* often dominating otherwise very broad spectra of detected species [8,9,13–15]. These genera contain species able to produce mycotoxins and pose a direct health risk to employees [16]. Even less is known about how fungal concentrations and species composition vary depending on environmental conditions, such as a seasonal variation and time since the start of the work shift. This study aims at evaluating the airborne fungi contamination levels in 2 waste sorting facilities during the working shift in different seasons of the year. Further, we put emphasis on the identification of common and potentially toxigenic species.

MATERIAL AND METHODS

Sampling sites, sampling design and sample processing

Sampling of airborne fungi was carried out in 2 plastic waste sorting facilities in the Czech Republic. The samples were taken in the breathing zone (approximately at the height of 1.5 m) near to the conveyor belt where employees sort plastic waste. The samples were collected during 2013 and 2014 (October 2013, January 2014, May 2014, and August 2014). In each sampling season, samples of airborne fungi were collected within one work shift. During each work shift (duration 8 h), there were performed 10 measurements, the first one before the beginning of the work shift, then every hour during the shift and the last one an hour after the end of the shift. In total, 1920 samples were taken.

During each measurement, air was sampled by means of a 37-mm Filter Holder (BGI Inc., USA) connected with a portable constant-flow Leland Legacy Sample Pump (SKC Ltd., UK). The pump was calibrated to the flow rate of 5 l/min. The sampling period per 1 sample was 24 min. Thus, the amount of sampled air was 120 l. Sampling and subsequent processing of samples were performed according to methods described by Černá et al. [17].

Four types of cultivation media with added antibiotics were used for the collection and detection of a broader spectrum of airborne fungi from sampled air: dichloran rose-Bengal chloramphenicol (DRBC), yeast glucose chloramphenicol (YGC), Sabouraud dextrose agar (SDA) supplemented with chloramphenicol (100 mg/l) and malt extract agar (MEA) (Oxoid Ltd., UK) supplemented with chloramphenicol (100 mg/l). Petri dishes were incubated at 25±1°C for 72 h. After the incubation, colonies of fungi were counted and recalculated as the number of CFU/m³. All cultivation media were replicated on 6 plates per sample.

Fungal species identification

Colony-forming units of the fungi from the plates were divided into morphotypes. Representative colonies of each morphotype were selected for the identification. These colonies were concurrently cultivated on 3 cultivation media MEA, Czapek Dox Agar (CZA) and Czapek Yeast Extract Agar (CYA) (HiMedia Laboratoires Pvt. Ltd., India) at 25±1°C for 7 days. Then the fungi were classified to genera or species by using a light microscopy. Identification of fungi was achieved through macro- and microscopic characteristics as described by Ellis and Hesseltine [18], Pitt and Hocking [19] and de Hoog et al. [20].

Statistical analysis

The data on the concentration of airborne fungi was analyzed by means of hierarchical ANOVA due to the split-plot structure of the dataset with 4 levels. For the final analysis purposes, the response variable, abundance of CFU/m³ was log-transformed in order to meet the assumption of homogeneity of variance (increasing variance with fitted mean was detected from regression diagnostic graphs of the preliminary analysis). The tested predictors were: season, waste sorting facility, sampling time (both linear and quadratic terms of the considered relationship), cultivation medium and all their interactions. We did not consider interactions of other factors with season since there were only 2 sampling occasions per season. All computations were undertaken in R 3.0.1 (R Core Development Team, Austria) statistical environment under the base installation [21].

The species composition of the detected fungi was analyzed by means of the canonical correspondence analysis (CCA). The dependent variables, i.e., the numbers of the CFU for each fungal species, were log-transformed prior to the analysis since the dataset was

largely dominated by a few common species, while a multitude of relatively infrequent species was present as well. We tested for differences in fungal species composition among the sampling seasons using the permutation tests with 4999 permutations. A proper number of replicates for testing the effect of sampling season is 8 (2 sorting facilities × 4 sampling seasons), which was achieved by applying the hierarchical design with 8 whole plots containing 80 split-plots each and allowing to permute only the whole-plots (see Lepš and Šmilauer [22] for further argumentation). All multivariate analyses were undertaken in Canoco 5.04 (Microcomputer Power Inc., USA) [23].

RESULTS

Concentrations of airborne fungi

There was a marginally significant trend of summer and spring samples yielding the highest CFU concentrations (Table 1, Figure 1). The concentrations of airborne fungi ranged $2.1 \times 10^3 - 1.8 \times 10^6$ CFU/m³ in spring, $9.1 \times 10^3 - 9.0 \times 10^5$ CFU/m³ in summer, $2.0 \times 10^2 - 4.2 \times 10^5$ CFU/m³ in autumn and $2.7 \times 10^3 - 2.9 \times 10^5$ CFU/m³ in winter. Contrary to our expectations, the differences in airborne fungi concentrations among the 2 facilities were not of particular importance (Table 2).

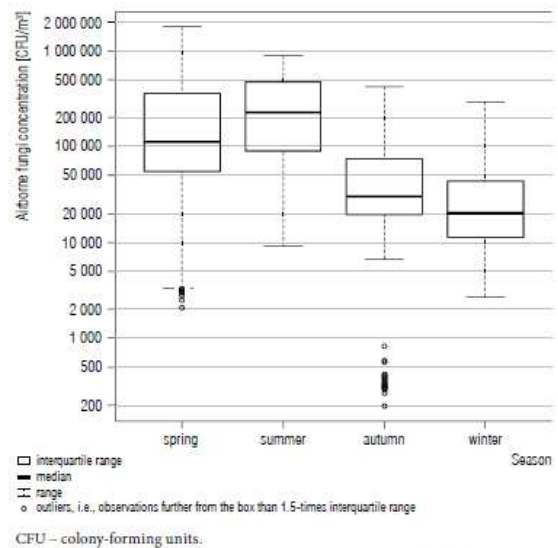


Fig. 1. Airborne fungi concentration in the studied plastic waste sorting facilities in the Czech Republic, 2013–2014, by season

The results of the split-plot ANOVA indicated that the hour of sampling (both linear and quadratic term) and the type of cultivation medium were the only drivers of the detected CFU concentrations (Table 2). The

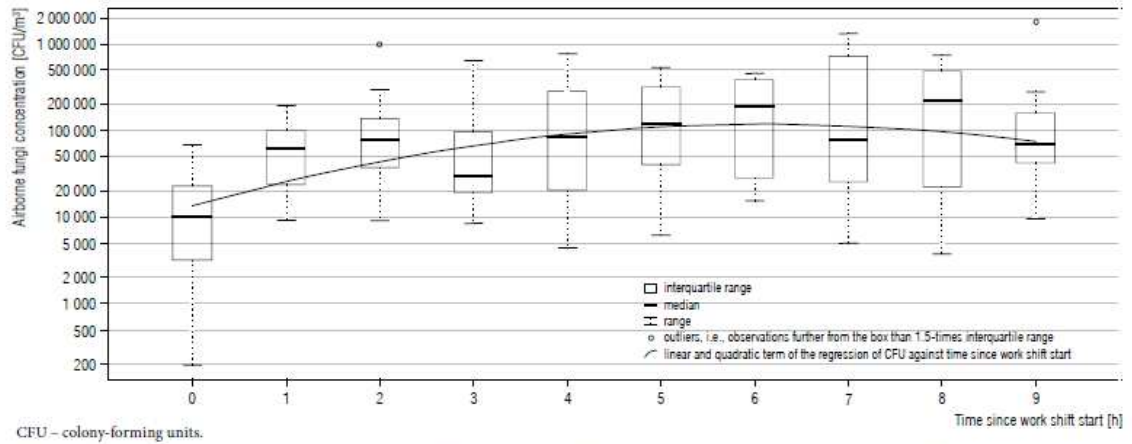
Table 1. Airborne fungi in the studied plastic waste sorting facilities in the Czech Republic, 2013–2014, by season

Season and waste sorting facility	Airborne fungi [CFU/m ³]			
	M	SD	back-transformed M	95% CI
Spring				
A	1.1×10^5	8.6×10^4	9.4×10^4	$8.7 \times 10^4 - 1.0 \times 10^5$
B	3.5×10^5	3.1×10^5	1.6×10^5	$1.3 \times 10^5 - 1.9 \times 10^5$
Summer				
A	3.4×10^5	2.6×10^5	2.3×10^5	$2.0 \times 10^5 - 2.6 \times 10^5$
B	2.4×10^5	2.1×10^5	1.5×10^5	$1.3 \times 10^5 - 1.7 \times 10^5$
Autumn				
A	2.4×10^4	1.4×10^4	1.6×10^4	$1.3 \times 10^4 - 1.9 \times 10^4$
B	1.0×10^5	9.6×10^4	6.3×10^4	$5.6 \times 10^4 - 7.2 \times 10^4$
Winter				
A	5.0×10^4	6.2×10^4	2.5×10^4	$2.2 \times 10^4 - 2.9 \times 10^4$
B	2.3×10^4	1.6×10^4	1.8×10^4	$1.7 \times 10^4 - 2.0 \times 10^4$

CFU – colony-forming units, M – mean, SD – standard deviation, back-transformed M – mean on the logarithmic scale (the scale of measurements, where approximation by normal distribution and data analysis is possible), which was back-transformed to the original scale, 95% CI – 95% confidence interval of the back-transformed mean (the asymmetry of confidence intervals on the original scale corresponds to the skewness of the response variable).

initial increase and later stagnation of the CFU concentration during the progressing working shift (Figure 2) explained together 20.8% of the total variation (Table 2).

On the other hand, effects of the cultivation medium were completely marginal given the amount of variation it explained. The highest numbers of the detected CFU



CFU – colony-forming units.

Fig. 2. Airborne fungi concentration in the studied plastic waste sorting facilities in the Czech Republic, 2013–2014, by time elapsed since the work shift start

Table 2. Hierarchical ANOVA of log-number of colony-forming units (CFU) of airborne fungi in the studied plastic waste sorting facilities in the Czech Republic, 2013–2014

Predictor	df	Explained variation* [%]	Sum of squares	p
Variation among seasons and factories				
season	3	35.4	1 547.9	0.088
factory identity	1	0.9	39.9	n.s.
residual variation	3	5.9	259.9	
Variation among hours within sampler type, factory and season				
hour of sampling (linear)	1	13.1	574.0	< 0.001
hour of sampling (quadratic)	1	7.7	335.8	< 0.001
factory × hour (linear)	1	0.7	28.5	n.s.
factory × hour (quadratic)	1	0.6	26.1	n.s.
residual variation	68	33.8	1 476.3	
Variation among mediums within hour, sampler type, factory and season				
medium	3	0.1	6.3	< 0.001
factory × medium	3	0.0	0.4	n.s.
hour (linear) × medium	3	0.0	0.9	n.s.
hour (quadratic) × medium	3	0.0	0.2	n.s.
factory × hour (linear) × medium	3	0.0	0.4	n.s.
factory × hour (quadratic) × medium	3	0.0	0.1	n.s.
residual variation	222	0.9	37.5	
Variation among dishes within medium, hour, sampler type, factory and season				
residual variation	1 600	0.8	34.4	

df – degrees of freedom, n.s. – not statistically significant.

* Amount of total variation (i.e., at all hierarchical levels) explained.

of airborne fungi within all measurements were detected on the DRBC cultivation medium as compared to the other cultivation media (SDA, MEA and YGC).

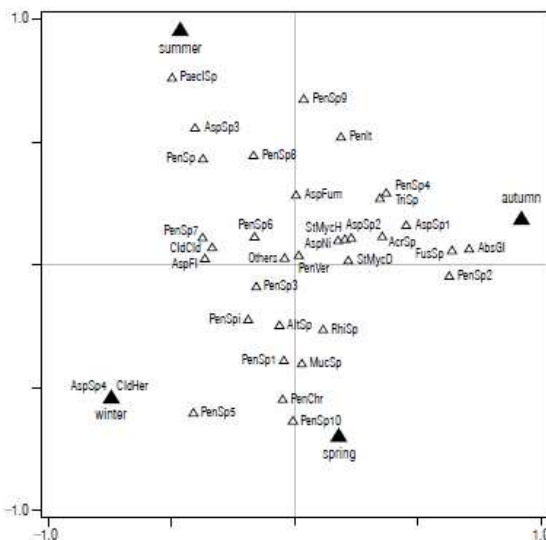
Species composition of fungi cultivated from samples

The exploration of the multivariate data on the fungal species composition indicated that the effect of the season on the species composition of fungi cultivated from samples may only be expected. The canonical correspondence analysis indicated that the season identity explained 11.4% of the variance in the species composition (p = 0.010) (Figure 3).

The dominating airborne fungi detected in this study belonged to the genus *Penicillium* (75.1% of all cultivated fungi) but there was a turnover of particular species among seasons. The next most frequently detected genera were in the decreasing order: *Aspergillus* (11.3%), *Acremonium* (3.1%), *Paecilomyces* (2.6%),

Cladosporium (1.9%), *Rhizopus* (1.1%), *Mucor* (1.0%), *Absidia* (0.5%), *Trichoderma* (0.4%), *Alternaria* (0.1%) and *Fusarium* (0.1%). The highest diversity of fungal species was observed in the samples taken in autumn. The presence of potentially toxigenic fungi *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* and *Penicillium chrysogenum* was recorded in all seasons in both facilities.

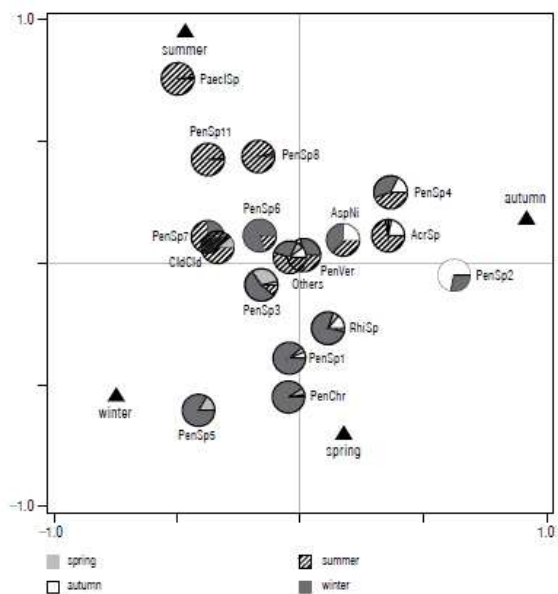
Winter and summer samples were specific by unique abundant fungi species (winter – *Rhizopus* sp., *P. chrysogenum*, *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 5, *Penicillium* sp. 6; summer – *Paecilomyces* sp., *Cladosporium cladosporioides* s. l., *Penicillium* sp. 7, *Penicillium* sp. 8, *Penicillium* sp. 11), while autumn and spring samples hardly contained these species (Figure 4).



AbsGl – *Absidia glauca*, AcrSp – *Acremonium* sp., AltSp – *Alternaria* sp., AspFl – *Aspergillus flavus*, AspFum – *Aspergillus fumigatus*, AspNi – *Aspergillus niger*, AspSp1–4 – *Aspergillus* sp. 1–4, CldCld – *Cladosporium cladosporioides* s.l., CldHer – *Cladosporium herbarum* s.l., FusSp – *Fusarium* sp., MucSp – *Mucor* sp., PaecSp – *Paecilomyces* sp., PenChr – *Penicillium chrysogenum*, PenIt – *Penicillium italicum*, PenSpi – *Penicillium spinulosum*, PenSp1–11 – *Penicillium* sp. 1–11, PenVer – *Penicillium verrucosum*, RhiSp – *Rhizopus* sp., StMycD – dark sterile mycelium, StMycH – hyaline sterile mycelium, TriSp – *Trichoderma* sp., others – unidentified fungi.

* First and second canonical axes explain 5.1% and 4.6% of variation respectively and account for 85.3% of the total 11.4% of variation explained by sampling season.

Fig. 3. Canonical correspondence analysis (CCA) of fungi species composition (log-transformed counts of colony-forming units (CFU)) in the studied plastic waste sorting facilities in the Czech Republic, 2013–2014*



Abbreviations as in Figure 3.

* The pie charts depict proportions of detected CFUs of a given fungal species in a given season.

Fig. 4. Canonical correspondence analysis (CCA) of composition of fungi species occurring in more than 5% of samples in the studied plastic waste sorting facilities in the Czech Republic, 2013–2014*

DISCUSSION

Concentrations of airborne fungi

Our results indicate that the seasonal and diurnal variations in concentrations of airborne fungi need to be taken into account when assessing the load rate of employees in the waste sorting facilities. Their importance

is comparable to other drivers of load rates of employees such as the sorting technology (the open conveyor belt, ventilation system, accumulation of waste in the plant, frequency and quality of cleaning) [7,14] and the quality of the input material (i.e., its contamination by microscopic fungi) [8].

The overall measured exposure of employees to airborne fungi was more or less comparable to that reported in studies from similar waste treatment facilities [4,6–9,14,15,24]. Nevertheless, comparing the results of these studies is complicated due to the different sampling methods, sample processing applied and other sources of variation (see Černá et al. [17], Eduarda and Heederik [25] for discussion of the problem). However, the concentrations of airborne fungi in this study were clearly higher (2–4 orders of magnitude) to those found in other indoor environments [26–29]. It points to the potential health risk for employees.

There was a trend of highest concentrations of airborne fungi being measured in summer and spring, while the lowest ones are reported to occur in winter. On the contrary, Rahkonen [6] measured the highest concentration of airborne fungi in autumn and then in spring and summer. Differences in the measured concentrations may point to the varying microclimate conditions (temperature, relative air humidity) inside the sorting facilities during the year [30]. Higher temperature and air humidity may cause an increased microbial activity and thus a higher concentration of airborne fungi [31]. However, release of fungal particles into ambient air also depends on fungal genus as well as air velocity [32].

The diurnal variation in the airborne fungi concentrations showed a quite expectable pattern, i.e., gradual increase since the start of the working shift, which reaches a plateau after ca 6–7 h of working, however notable is the difference of the order of magnitude between the lowest and highest predicted values. The observed trend could be associated with the increasing amount of sorted waste during the work shift and depletion of its supply for sorting towards the end of the work shift.

Species composition of fungi cultivated from samples

The species composition of airborne fungi cultivated from samples was similar to that referred in studies from similar facilities [8,9,13,14,24], where the dominating species were from the genera *Penicillium* and *Aspergillus* with their proportions varying among studies.

In our study, the dominating fungi were those of the genus *Penicillium* (75.1%) followed by *Aspergillus* (11.3%). Lehtinen et al. (2013) [9] reported the identification of the genus *Penicillium* in 93% of all the cultivated fungi. On the other hand, Viegas et al. (2014) [13] predominantly identified the genus *Aspergillus*, the genus *Penicillium* was not determined. Tolvanen et al. (1999) [24] determined the genus *Aspergillus* in 40% and the genus *Penicillium* in 44% of all the cultivated fungi.

In our study, species composition of airborne fungi in waste sorting facilities changed during the year (Figure 3). The species composition may be influenced by microscopic fungi from waste as well as airborne fungi from the outside environment, that penetrate through doors and windows. The most frequently isolated fungi from outside environment are those of the genera *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Alternaria* [33–35]. Genera *Penicillium* and *Aspergillus* dominated in this study in all seasons. On the other hand, the next most frequently detected genera *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Rhizopus* predominated only in one season (Figure 4). Larsen and Gravesen [33] recorded the same seasonal patterns of genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Cladosporium* in the long-term study which was conducted in an outdoor environment.

In both waste sorting facilities, the potentially mycotoxins-producing fungi *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus* and *P. chrysogenum* were detected in all seasons and *A. niger* was even the second most frequently isolated fungal species in all samples. These fungal species were also detected in air samples from waste sorting facilities in several other studies [7,8,13]. However, only a limited number of studies focus on employees' exposure to mycotoxins in waste sorting facilities. Viegas et al. (2015) [36] found high aflatoxin B1 values (produced by *A. flavus*) in blood samples collected from employees of waste sorting facility. This mycotoxin is considered by different International Agencies as a genotoxic and potent hepatocarcinogen. Moreover, other mycotoxins are probably present in the working environment of waste sorting facilities and this aspect should be taken into consideration due to their possible synergistic reactions [37]. However, fungi are still used as an indirect indicator of mycotoxins' presence in working environments [38].

Some fungi detected in our study belong to the genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Penicillium* is assumed to elicit allergic inflammatory reactions and different human infections [27,39,40]. However, there is a little information on clinically sig-

nificant concentrations of these airborne fungi necessary to cause health problems. Bagni et al. [41] reported that 1×10^2 CFU/m³ of the genus *Alternaria* and 3×10^3 CFU/m³ of the genus *Cladosporium* led to allergic reactions. These concentrations were exceeded in our study in both facilities in all seasons.

Several studies showed a relationship between the working activities in waste management and the presence of various health problems in employees, such as respiratory diseases [1,2,10], gastrointestinal problems [1,2] and metabolic syndrome [3]. However, a direct link to fungi cannot be drawn since employees in waste management are exposed besides to fungi also to dust, bacteria and other metabolites [6,9,14,15]. Nevertheless, this aspect should be taken into consideration for the risk assessment process due to possible synergistic effects on human health.

Based upon our results, we recommend the use of the protective equipment (thick rubber gloves, respiratory mask, working clothes) by employees and the introduction of preventive measures in working environment of waste sorting facilities. We especially recommend to raise employees' awareness of health risks that they may be exposed to and to disseminate information about preventive methods applicable during the work. Furthermore, adequate ventilation system in the working environment should be installed, frequency and quality of the wet cleaning phase should be increased and regular and detailed medical examinations of employees should be introduced. These recommendations could lead to minimizing of risks to employees' health in waste sorting facilities.

CONCLUSIONS

We performed a general evaluation of the occupational exposure of workers employed in the plastic sorting plant to airborne fungi during the work shift in four seasons of the year. Overall, high concentrations of airborne fungi and the presence of potentially toxigenic fungal species in the work environment were detected in all measurements with some of the harmful taxa (e.g., *Aspergillus niger*) being among the most frequently species. A trend of higher airborne fungi concentrations was found in summer and spring when compared to autumn and winter. The lowest airborne fungi concentrations were found at the beginning of the work shift followed by the quick increase reaching a plateau (sometimes followed by a slight decrease towards the end of the shift). This study shows that the sorting plant

is the working environment with increased concentrations of airborne fungi and corresponding preventive measures need to be taken in order to decrease the employees' exposure to harmful agents.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Adam Perný for technical help.

REFERENCES

1. Marth E, Reinthaler FF, Schaffler K, Jelovcan S, Haselbacher S, Eibel U, et al. Occupational health risks to employees of waste treatment facilities. *Ann Agric Environ Med.* 1997;4:143–7.
2. Krajewski JA, Tarkowski S, Cyprowski M. [Hazardous health effects in communal waste collection and disposal workers]. *Med Pr.* 1999;51(2):159–72. Polish.
3. Eker HH, Bayraktarlı RY, İşsever H, Ulaş T, Erelel M, Eser A, et al. Metabolic syndrome in collection and disposal of solid waste sector. *Int J Occup Med Environ Health.* 2012;25(1):14–21, <https://doi.org/10.2478/s13382-012-0004-z>.
4. Park DU, Ryu SH, Kim SB, Yoon CS. An assessment of dust, endotoxin, and microorganism exposure during waste collection and sorting. *J Air Waste Manag Assoc.* 2011;61(4):461–8, <https://doi.org/10.3155/1047-3289.61.4.461>.
5. Kozajda A, Sowiak M, Piotrowska M, Szadkowska-Stańczyk I. [Waste sorting plants – recognition of exposure to biological agents (moulds)]. *Med Pr.* 2009;60(6):483–90. Polish.
6. Rahkonen P. Airborne contaminants at waste treatment plants. *Waste Manag Res.* 1992;10(5):411–21, [https://doi.org/10.1016/0734-242X\(92\)90115-2](https://doi.org/10.1016/0734-242X(92)90115-2).
7. Reinthaler FF, Haas D, Feierl G, Schlacher R, Pichler-Semelrock FP, Köck M, et al. Comparative investigations of airborne culturable microorganisms in selected waste treatment facilities and in neighbouring residential areas. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1999;202(1):1–17, [https://doi.org/10.1016/S0934-8859\(99\)80046-7](https://doi.org/10.1016/S0934-8859(99)80046-7).
8. Würtz H, Breum NO. Exposure to microorganisms during manual sorting of recyclable paper of different quality. *Ann Agric Environ Med.* 1997;4:129–35.
9. Lehtinen J, Tolvanen O, Nivukoski U, Veijanen A, Hänninen K. Occupational hygiene in terms of volatile organic compounds (VOCs) and bioaerosol at two solid waste management plants in Finland. *Waste Manag.* 2013;33(4):964–73, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.11.010>.
10. Kozajda A, Szadkowska-Stańczyk I. [Selected health complaints, allergic diseases, hygiene behaviors and knowledge

- of biohazards among workers of waste sorting plants]. *Med Pr.* 2009;60(6):491–9. Polish.
11. Heldal KK, Halstensen AS, Thorn J, Djupesland P, Wouters I, Eduard W, et al. Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols. *Occup Environ Med.* 2003;60(6):444–50, <https://doi.org/10.1136/oem.60.6.444>.
 12. Ivens UI, Breum NO, Ebbenhøj N, Nielsen BH, Poulsen OM, Würtz H. Exposure-response relationship between gastrointestinal problems among waste collectors and bioaerosol exposure. *Scand J Work Environ Health.* 1999; 25(3):238–45, <https://doi.org/10.5271/sjweh.430>.
 13. Viegas C, Gomes AQ, Abegão J, Sabino R, Graça T, Viegas S. Assessment of fungal contamination in waste sorting and incineration – Case study in Portugal. *J Toxicol Environ Health A.* 2014;77:57–68, <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.865583>.
 14. Kiviranta H, Tuomainen A, Reiman M, Laitinen S, Nevalainen A, Liesivuori J. Exposure to airborne microorganisms and volatile organic compounds in different types of waste handling. *Ann Agric Environ Med.* 1999; 6(1):39–44.
 15. Tolvanen OK, Hänninen KI. Mechanical-biological waste treatment and the associated occupational hygiene in Finland. *Waste Manag.* 2006;26(10):1119–25, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.07.020>.
 16. Pitt JI. The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health. *J Med Vet Mycol.* 1994;32 Suppl 1:17–32, <https://doi.org/10.1080/02681219480000701>.
 17. Černá K, Wittlingerová Z, Zimová M, Janovský Z. Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities. *Int J Occup Med Environ Health.* 2016;29(3):493–502, <https://doi.org/10.13075/ijomh.1896.00568>.
 18. Ellis JJ, Hesseltine CW. The genus *Absidia*: Globose-spored species. *Mycologia.* 1965;57(2):222–35.
 19. Pitt JI, Hocking AD. *Fungi and food spoilage.* 2nd ed. London: Blackie Academic and Professional; 1997, <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6391-4>.
 20. De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. *Atlas of clinical fungi.* 2nd ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelfcultures; 2000, <https://doi.org/10.1023/A:1013183715057>.
 21. The R Project for Statistical Computing [Internet]. Vienna: R Foundation; 2013 [cited 2014 Jun 6]. Available from: <https://www.r-project.org>.
 22. Lepš J, Šmilauer P. *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO.* Cambridge: Cambridge University Press; 2003.
 23. Braak CJE, Šmilauer P. *CANOCO reference manual and user's guide: Software for ordination (version 5.0).* Ithaca: Microcomputer Power; 2012.
 24. Tolvanen OK, Hänninen KI, Lappi SH, Rantala P. Occupational hygiene at a dry waste treatment plant in Finland. In: *Proceedings of the 7th North American Waste-to-Energy Conference; 1999 May 17–19; Tampa (FL), USA.* 1999. p. 163–72.
 25. Eduarda W, Heederik D. Methods for quantitative assessment of airborne levels of noninfectious microorganisms in highly contaminated work environments. *Am Ind Hyg Assoc J.* 1998;59(2):113–27, <https://doi.org/10.1080/15428119891010370>.
 26. Górný RL, Krysińska-Traczyk E. Quantitative and qualitative structure of fungal bioaerosol in human dwellings of Katowice province, Poland. In: *International Academy of Indoor Air Sciences, International Society of Indoor Air Quality and Climate. Indoor Air 99: Proceedings of the 8th International Conference on Indoor Air Quality and Climate; 1999 Aug 8–13; Edinburgh, Scotland, UK. Peterborough: Construction Research Communications; 1999.* p. 873–78.
 27. Fischer G, Dott W. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Arch Microbiol.* 2003;179:75–82, <https://doi.org/10.1007/s00203-002-0495-2>.
 28. Klánová K. The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: Rooms with and without mould problems; rooms with and without health complaints. *Cent Eur J Public Health.* 2000;8(1):59–61.
 29. Pastuszka JS, Paw UKT, Lis DO, Wlazło A, Ulfig K. Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmos Environ.* 2000;34(22):3833–42, [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(99\)00527-0](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00527-0).
 30. Nielsen KF, Holm G, Uttrup LP, Nielsen PA. Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism. *Int Biodeterior Biodegradation.* 2004;54(4):325–36, <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.05.002>.
 31. Shelton BG, Kirkland KH, Flanders WD, Morris GK. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(4):1743–53.
 32. Pasanen A-L, Pasanen P, Jantunen MJ, Kalliokoski P. Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release into the air. *Atmos Environ A.* 1991;25(2):459–62, [https://doi.org/10.1016/0960-1686\(91\)90316-Y](https://doi.org/10.1016/0960-1686(91)90316-Y).
 33. Larsen L, Gravesen S. Seasonal variation of outdoor airborne viable microfungi in Copenhagen, Denmark. *Grana.* 1991;30(2):467–71, <https://doi.org/10.1080/00173139109432011>.
 34. De Ana SG, Torres-Rodríguez JM, Ramirez EA, Garcia SM, Belmonte-Soler J. Seasonal distribution of *Alter-*

- naria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006;16(6):357–63.
35. Medrela-Kuder E. Seasonal variations in the occurrence of culturable airborne fungi in outdoor and indoor air in Cracow. *Int Biodeterior Biodegradation*. 2003;52(4):203–5, [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00167-1](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00167-1).
36. Viegas S, Veiga L, Figueiredo P, Almeida A, Carolino E, Viegas C. Assessment of workers' exposure to aflatoxin B1 in a Portuguese waste industry. *Ann Occup Hyg*. 2015; 59(2):173–81, <https://doi.org/10.1093/annhyg/meu082>.
37. Speijers GJA, Speijers MHM. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicol Lett*. 2004;153:91–8, <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.046>.
38. Thrane U, Adler A, Clasen P-E, Galvano F, Langseth W, Lew H, et al. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. *Int J Food Microbiol*. 2004;95(3):257–66, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.005>.
39. Horner WE, Helbling A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(2):161–79.
40. Ozcan M, Ozcan KM, Karaarslan A, Karaarslan F. Concomitant otomycosis and dermatomycoses: A clinical and microbiological study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2003; 260(1):24–7, <https://doi.org/10.1007/s00405-002-0514-6>.
41. Bagni N, Davies RR, Mallea M, Nolard N, Spireksma FT, Stix E. [Spore concentration in cities of the European Economic Community. II. Spores of *Cladosporium* and *Alternaria*]. *Acta Allergol*. 1977;32(2):118–38. German.

Studie III

Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant–Case study in Czech Republic

*In: SGEM2015 Conference Proceedings, Book 4. 15th International Multidisciplinary
Scientific GeoConference SGEM 2015, Albena, Bulgaria, June 18–24: 755–762*

SEASONAL EXPOSURE TO AIRBORNE FUNGI IN A PAPER SORTING PLANT - CASE STUDY IN THE CZECH REPUBLIC

Kristýna Černá¹,
Zdeňka Wittlingerová¹,
Magdaléna Zimová¹,
Zdeněk Janovský²

¹ Dept. of Applied Ecology, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague,
Czech Republic

² Dept. of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague, **Czech Republic**

³ Institute of Botany, The Czech Academy of Sciences, Průhonice by Prague, **Czech Republic**

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the occupational exposure of workers employed in the paper sorting plant to airborne fungi in four seasons. Surface Air System method was used for the sampling of airborne fungi. Airborne fungi samples were collected in the workers' breathing zone twice per work shift (10a.m. and 2p.m.) and twice per each season. Overall, high concentrations of airborne fungi in the work environment were detected. Higher numbers of CFU (colony forming units) of airborne fungi per cubic meter were measured at 2p.m. than at 10a.m. during each work shift. The highest concentration of CFU of airborne fungi were measured in the summer (1.00 – 3.88 x10⁴ CFU/m³), and then in the spring (0.49 – 1.15 x10⁴ CFU/m³). The lowest numbers of CFU of airborne fungi were measured in autumn (0.26 – 0.50 x10⁴ CFU/m³). In comparison to other studies, paper sorting plant represents working environment with increased concentrations of airborne fungi.

Keywords: airborne fungi, occupational exposure, waste sorting plant

INTRODUCTION

Because of the increasing waste production worldwide, waste management has become an important issue in today's society [1]. Municipal solid waste in waste sorting plants is usually contaminated by many microorganisms. Among the important parts of contaminants are included microscopic fungi. Microscopic fungi are capable of utilize the organic residues adhering to the waste as nutrition sources and can produce a high number of reproductive particles.

During the waste handling, the particles of microscopic fungi can be released into the working environment and become a part of bioaerosol. The employees of a waste sorting plant are exposed to the bioaerosol throughout the work shift.

Previous studies dealing with the problems of contamination of working environments show that the employees of waste treatment facilities are exposed to increased concentrations of airborne fungi which can vary within a wide range, $7,8 \times 10^3 - 2,3 \times 10^5$ CFU/m³ [2], $1,5 \times 10^3 - 2,9 \times 10^5$ CFU/m³ [3], $6,5 \times 10^2 - 2,5 \times 10^4$ CFU/m³ [4], depending on sampling site, sampling method and processing of samples. Moreover, high concentration of airborne fungi can cause numerous health problems, most commonly respiratory diseases, allergies, gastrointestinal problems, and eye and skin irritation [5 - 8].

Occupational exposure of workers to airborne fungi in a waste sorting plant has not been dealt with in the Czech Republic yet. This study aims at the evaluation of the occupational exposure of employees to airborne fungi in a paper sorting plant within four seasons of the year.

MATERIALS AND METHODS

The study was performed in a paper sorting plant in the Czech Republic. Samples of airborne fungi were collected in the employees' breathing zone (1.5 m above the ground) next to the conveyor belt where the employees sort paper waste. The samples were taken in 2014 (January, May, August, October), twice per each season. During each work shift, two measurements were performed, at 10a.m. (half of the work shift) and 2p.m. (end of the work shift), with ten repetitions.

Single head impaction air sampler (AES Laboratoire Sampl'air, Combourg-France) which is a part of the Surface Air System method was used for the sampling of airborne fungi. Particles of airborne fungi were impacted onto Petri dishes containing 25 ml of cultivation medium DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol; DRBC Agar Base with Chloramphenicol Supplement, OXOID) placed in the head of the sampling device. This sampler operated at the flow rate of 100 l min⁻¹. The amount of air sampled was 50 l, thus 0.5-min sampling period of one sample. After the sampling, Petri dishes were incubated at 25°C for 72 hours. Fungal counts were determined as the number of CFU per cubic meter of air. At each sampling time the temperature and relative air humidity were recorded.

The data were analyzed by means of hierarchical ANOVA due to the split-plot structure of the dataset with 3 levels. For the final analysis, the response variable, abundance of CFU per cubic meter was log-transformed in order to meet the assumption of homogeneity of variance (increasing variance with fitted mean was detected from regression diagnostic graphs of a preliminary analysis). The tested predictor was time of sampling. All computations were undertaken in R 3.0.1 statistical environment under base installation [9].

RESULTS

The total number of CFU of airborne fungi per cubic meter was dependent on the sampling time during the work shift and on the season ($p < 0,001$). The variability of measured numbers of CFU between the seasons represented 73,6% of total variability

and variability of measured numbers of CFU between the morning and afternoon sampling within the work shift represented 25,5% of the total variability. The variability between repetitions within each sampling time was negligible (0,9% of the total variability) (Figure 1).

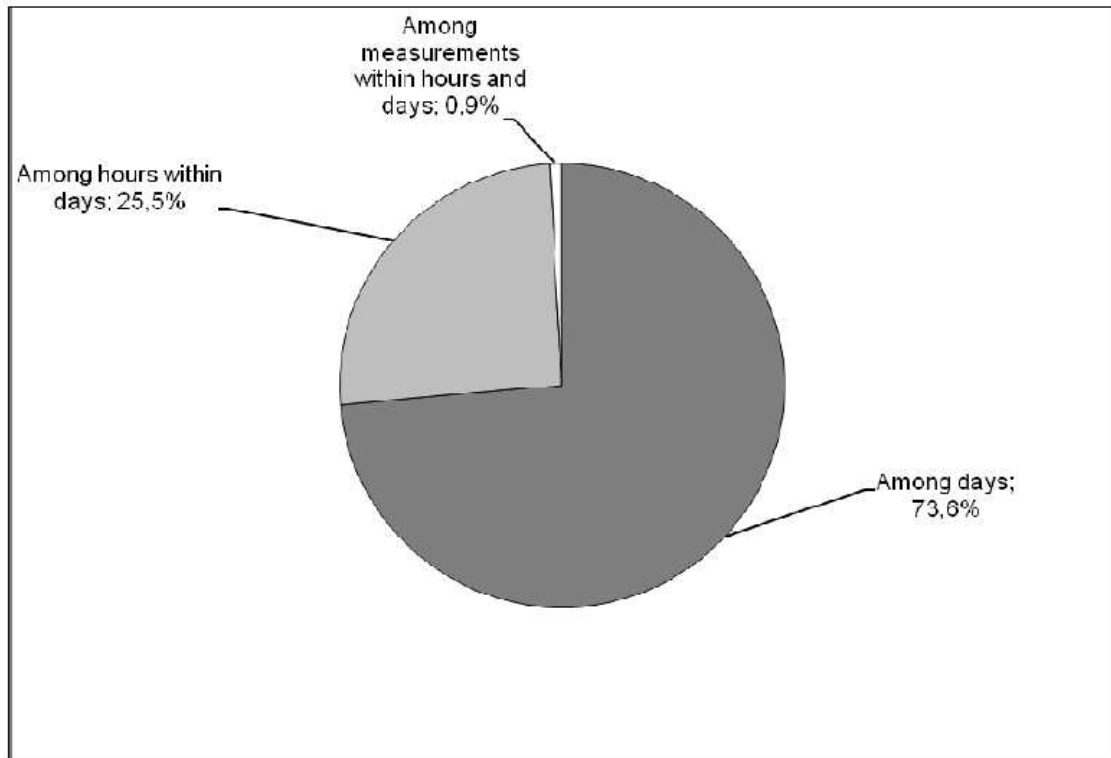


Figure 1. Proportions of total variation in response (log-number of CFU of airborne fungi) explained by each hierarchical level.

The temperature and relative air humidity measured during each sampling time are summarized in Table 2.

Table 2. Descriptive statistics of the ambient conditions during the measurements; SE denotes standard error of the mean.

season	temperature (°C)		relative air humidity (%)	
	Mean	SE	Mean	SE
spring	12,54	0,21	76,24	0,96
summer	18,38	0,45	77,91	1,23
autumn	9,62	0,26	74,32	0,78
winter	6,53	0,31	67,38	1,35

Numbers of CFU of airborne fungi per cubic meter measured in the afternoon were higher than in the morning. The highest concentration of CFU of airborne fungi were

measured in summer, and then in spring. The lowest numbers of CFU of airborne fungi per cubic meter were measured in autumn (Figure 2).

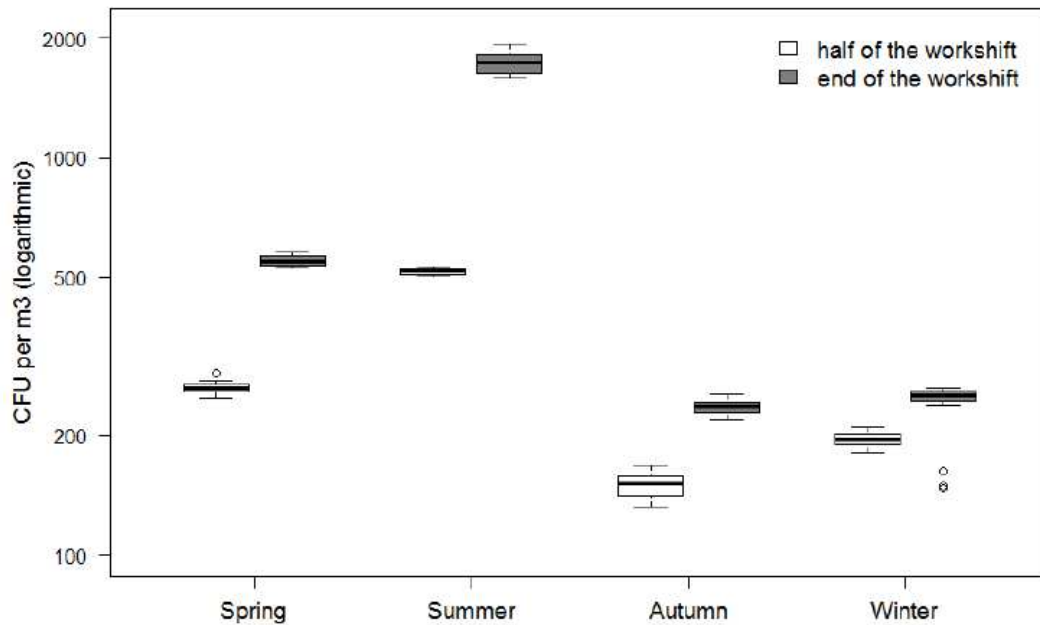


Figure 2. Number of detected CFU of airborne fungi depending on the sampling time and on the seasons. Please note the logarithmic scale of the y-axis.

Detected concentrations ranged from $10,04 \times 10^3$ to $38,80 \times 10^3$ CFU of airborne fungi per cubic meter in summer, $4,96 \times 10^3$ to $11,58 \times 10^3$ CFU of airborne fungi per cubic meter in spring, $3,62 \times 10^3$ to $5,20 \times 10^3$ CFU of airborne fungi per cubic meter in winter and $2,64 \times 10^3$ to $5,08 \times 10^3$ CFU of airborne fungi per cubic meter in autumn. The ranges of detected CFU of airborne fungi per cubic meter depending on the time of sampling during the work shift in the four seasons are shown in Table 1.

Table 1. Exposure to airborne fungi when sorting recyclable paper in different seasons. The results are responded as ranges in 10^3 CFU/m³.

season	10 a.m.	2 p.m.
spring	4.96 - 5.72	10.52 - 11.58
summer	10.04 - 10.62	31.60 - 38.80
autumn	2.64 - 3.36	4.38 - 5.08
winter	3.62 - 4.16	2.94 - 5.20

DISCUSSION

Statistically significant differences in the numbers of detected CFU of airborne fungi were found out between two measurements during each work shift. An increasing trend in the number of detected CFU of airborne fungi was observed. Similar trend is also presented in other study dealing with bioaerosol in waste treatment facilities [10]. This trend could be caused by gradual release CFU of microscopic fungi from waste to the environment.

Also between the measurements in different seasons, there were found statistically significant differences in the numbers of detected CFU of airborne fungi. In our case, the highest numbers of CFU were detected in summer and then in spring, lowest numbers of detected CFU were found in autumn. The different numbers of detected CFU may be related to the temperature and relative humidity, as well as the quality of input material [2, 4, 11]. Rahkonen [4] showed higher concentrations of airborne fungi in autumn than in spring and summer. In this study, the highest relative humidity was in autumn. But in our study, the highest relative humidity was in summer (table 2). However, it can be expected that the changes of concentrations of airborne fungi during the year are affected by many other factors.

The overall exposure to airborne fungi was more or less comparable to that reported in the studies from similar plants [2, 9, 12]. However, direct comparisons between studies are complicated by the fact that different techniques of sampling and enumeration were used. And also quality of sorted waste (contamination by microscopic fungi) [2] and different technology of the sorting process in tested facilities may be relevant. Park et al. [11] summarized the numerous parameters which may influence exposure of employees to bioaerosol, these included type of waste, season of the year, type of collection unit of the household and organization of work.

Nevertheless, in comparison to other work environment [13, 14], the paper sorting plant represents a working environment with increased concentrations of airborne fungi.

Based on the results of our study, we recommend the using of preventive equipment (preventive gloves, breathing mask or respirator) and introduce of preventive measures mentioned in study Marchand et al. [10] and Marth et al. [15], especially the thorough initial check-up of employees, the regular annual medical check-ups, provision of information to employees about the health risk to which they are exposed and about preventive methods they should apply during work shift, institution of mandatory showers at the end of each work shift, institution of daily cleaning of resting and shower rooms.

CONCLUSION

We performed a general evaluation of occupational exposure of workers employed in the paper sorting plant to airborne fungi during the work shift in four seasons of the year. Overall high concentrations of airborne fungi in the work environment were detected. The highest concentrations of airborne fungi were measured in summer and then in spring, while the lowest concentrations were measured in autumn. In the afternoon, the numbers of CFU of airborne fungi per cubic meter were higher than in the morning. This study showed that the paper sorting plant is a working environment with increased concentrations of airborne fungi. We recommend the using of preventive equipment and introduce of preventive measures to minimize the health risk of employees.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Grant Agency of the Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, grant No. 4222013123163. We thank Mgr. Pavlina Kolarova for help with language corrections.

REFERENCES

- [1] Villavert L., Nadal M., Figueras I., and Domingo M. Baseline levels of bioaerosols and VOC's around a municipal waste incinerator prior to the construction of a mechanical–biological treatment plant. *Waste Management*, vol. 29/issue 9, pp 2454–2461, 2009.
- [2] Würtz H., Breum N.O. Exposure to microorganisms during manual sorting of recyclable paper of different quality. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 4, pp 129-135, 1997.
- [3] Lehtinen J., Tolvanen O., Nivukoski U., Veijanen A., Hänninen K. Occupational hygiene in terms of volatile organic compounds (VOCs) and bioaerosol at two solid waste management plants in Finland. *Waste Management*, vol. 33/issue 4, pp 964-973, 2013.
- [4] Rahkonen P. Airborne contaminants at waste treatment plants. *Waste Management & Research*, vol. 10/issue 5, pp 411-421, 1992.
- [5] Tolvanen O.K., Hänninen K.I. Mechanical-biological waste treatment and the associated occupational hygiene in Finland. *Waste Management*, vol. 26/issue 10, pp 1119–1125, 2006.

-
- [6] Fischer G., Albrecht A., Jäckel U., and Kämpfer P. Analysis of airborne microorganisms, MVOC and odour in the surrounding of composting facilities and implications for future investigations. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 211/issue 1-2, pp 132–142, 2008.
- [7] Domingo, J., and Nadal, M. Domestic waste composting facilities: A review of human health risks. *Environmental International*, vol. 35/issue 2, pp 382–389, 2009.
- [8] Eduard, W., Heederik, D., Duchaine, C., and Green, B. Bioaerosol exposure assessment in the workplace: The past, present and recent advances. *Journal of Environmental Monitoring*, vol. 14/issue 2, pp 334–339, 2012.
- [9] R Development Core Team [Internet], Viena: R foundation for Statistical computing, 2013 [cited 2014 June 6].
- [10] Marchand G., Lavoie J., Lazure I. Evaluation of bioaerosols in a municipal solid waste recycling and composting plant. *Journal of the Air & Waste Management Association*, vol. 45/issue 10, pp 778-781, 1995.
- [11] Park D.U., Ryu S.H., Kim S.B., Yoon C.S. An assessment of dust, endotoxin and microorganism exposure during waste collection and sorting. *Journal of the Air & Waste Management Association*, vol. 61/issue 4, pp461-468, 2011.
- [12] Reinthaler F.F., Haas D., Feierl G., Schlacher R., Pichler-Semmelrock F.P., Köck M., Wüst G., Feenstra O., Marth E. Comparative investigations of airborne culturable microorganisms in selected waste treatment facilities and in neighbouring residential areas. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, vol. 202/issue 1, pp 1-17, 1999.
- [13] Chao H.J., Schwartz J., Milton D.K., Burge H.A. Populations and determinants of airborne fungi in large office buildings. *Environmental Health Perspectives*, vol. 110/issue 8, pp 777-782, 2002.
- [14] Zielińska-Jankiewicz K., Kozajda A., Piotrowska M., Szadkowska-Stańczyk I. Microbiological contamination with moulds in work environment in libraries and archive storage facilities. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 15/issue 1, pp 71-78, 2008.
- [15] Marth E., Reinthaler F.F., Schaffler K., Jelovcan S., Haselbacher S., Eibel U., Kleinhappl B. Occupational health risks to employees of waste treatment facilities. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 10/issue 4, pp 143-147, 1997.

Studie IV

Fungal contamination in working environment of waste sorting facilities: A review

Scientia Agriculturae Bohemica

Fungal contamination in working environment of waste sorting facilities:
A review

K. Černá¹, Z. Wittlingerová¹, M. Zimová¹

¹Dept. of Applied Ecology, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic

ABSTRACT

Employees of waste sorting facilities can be exposed to long-term effects of high concentrations of airborne fungi. In recent years, many studies showed a relationship between the working activity in waste sorting facilities and the occurrence of health problems, especially respiratory and gastrointestinal problems. Due to repeated detections of potentially allergenic, infectious and toxigenic fungi species in waste sorting plants, it can be assumed that microscopic fungi play an important role in the development of health problems. In terms of minimizing health risks, it is necessary to take a number of technical and organizational measures to reduce the contamination of the working environment by biological agents.

INTRODUCTION

In recent years, waste production has grown worldwide. Due to the excessive production of waste, there is an increasing pressure on its recycling. In April 2018, the European Parliament, in agreement with the European Council, supported new recycling targets under the legislation on waste and the circular economy. The new Directive (EU) 2018/851 orders the Member States to increase the proportion of the municipal waste designated for reuse and recycling to a minimum of 55% of weight by 2025, to increase this proportion to at least 60% of weight by 2030, and to 65% of weight by 2035. Thus, waste treatment will take a higher importance.

Waste in waste sorting plants is very often contaminated with organic residues that serve as a nutrient substrate for the growth of many microorganisms (Pahren et al., 1987), including an important group of microscopic fungi. Microscopic fungi are heterotrophic

organisms which are able to use as a nutrient substrate not only the organic residues adhering to the waste but also the surface of the plant's equipment such as wood, gypsum boards, plywood, chipboard, cellulose, wallpaper, textiles made of natural fibres, and also insulation (Raper et Fennell, 1977; Pasanen et al., 1992; Karunasena et al., 2000). Owing to the external factors (air velocity, air humidity) and mechanical handling of waste, the microscopic fungi particles from these sources are released into the air (Pasanen et al., 1991), where they become part of bioaerosol or can further sediment and become surface contamination of the equipment again, or they can cling to exposed parts of the workers' bodies as well as their clothing (Ivens et al., 1999; Park et al., 2011; Viegas et al., 2014a).

In the waste sorting facilities high concentrations of airborne fungi were repeatedly measured—up to 4 orders of magnitude higher than those measured in office buildings or households' interiors (Górny, Krysińska-Traczyk, 1999; Klánová, 2000; Pastuszka et al., 2000). The relationship between the occurrence of health problems and high concentrations of airborne fungi has not been clarified yet; however, it is assumed that microscopic fungi play an important role in this case. This is also suggested by Ivens et al. (1999), who document a connection between the exposure of garbage men to microscopic fungi and the development of gastrointestinal problems.

The aim of this paper is to summarize the existing knowledge about fungal contamination of working environment in waste sorting facilities. Particular emphasis is placed on the species composition of the fungal community inside waste sorting facilities as well as on the health problems associated with occupational exposure to microscopic fungi.

FUNGAL COMPOSITION

In general, indoor fungi include a mixture of those that have entered from outdoors (Lacey, 1981; Burge et al., 1982) and those from indoor sources. *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. are usually considered the major groups of indoor fungi (Górny, Dutkiewicz, 2002). These fungal genera were the most prevalent fungi isolated from working environment of waste sorting facilities too. However, the percentage represented by each genus varied between the studies.

Viegas et al. (2014a) detected in the air samples from waste sorting facilities almost exclusively species of *Aspergillus* genus, whereas in Lehtinen et al. (2013) 93% of all identified species of the captured fungi were constituted by the genus *Penicillium*. Pinto et

al. (2015) detected the genus *Penicillium* in 95% of all captured fungi. Similar percentages of genera *Aspergillus* (44%) and *Penicillium* (40%) were detected in the samples by Tolvanen et al. (1999). Apart from the fungi of the genera *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*) and *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. digitatum*, *P. chrysogenum*, *P. lanosum*, *P. nalgovense*, *P. pramulosum*, *P. variables*), other fungal genera were isolated from the air of the waste sorting facilities: *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Hemicarpenales*, *Humicola*, *Chrysonilia*, *Monilia*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, *Ulocladium*, *Hyalodendron*, *Wallemia*, *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* (Nersting et al., 1991; Würtz, Breum, 1997; Kiviranta et al., 1999; Reinthaler et al., 1999; Tolvanen et al., 1999; Lehtinen et al., 2013; Viegas et al., 2014a; Pinto et al., 2015; Černá et al., 2017; Degois et al., 2017; Santos et al., 2018).

So far, surface contamination of indoor environment in waste sorting facilities has been dealt with by only a few studies (Park et al., 2011; Viegas et al., 2014a). Viegas et al. (2014a) identified eight different species of microscopic fungi in the samples taken from the surface of the waste sorting facility equipment and faces of the employees. In the analysed samples, the most frequent species included *Aspergillus niger* (66.1%), *A. flavus* (14.2%) and *A. fumigatus* (13.8%). These species of microscopic fungi were at the same time the most numerous species captured in the samples taken from the air in the same working environment. The remaining 5.9% included *A. candidus*, *A. terreus*, *Neosartorya fumigata*, *Eurotium herbarium* and *Absidia* spp. The identification of captured microscopic fungi was not performed in the study by Park et al. (2011).

EXPOSURE LEVELS

Employees of waste sorting facilities can be exposed to particles of microscopic fungi by three ways: inhalation, gastrointestinal and dermal ways of exposure (Park et al., 2011). Inhalation is the easiest to measure and therefore also the most frequently rated type of exposure. Tab. 2 shows an overview of the concentrations of airborne fungi particles measured in working environment of the waste sorting facilities.

Tab. 2: An overview of measured concentrations CFU (Colony Forming Unit)/m³ of airborne fungi in working environment of waste sorting facilities depending on the used sampling device (A – 6-stage Andersen impactor, F – membrane filter sampler, I – impinger, S – single head impaction air sampler)

Literary source	CFU/m ³	Type of sampling device	Type of sorted waste
Nersting et al. (1991)	1.0 x 10 ² - 1.5 x 10 ⁴	A	unspecified
Nersting et al. (1991)	4.0 x 10 ² - 1.4 x 10 ⁵	I	unspecified
Malmros et al. (1992)	3.5 x 10 ² - 1.8 x 10 ⁴	A	unspecified
Rahkonen (1992)	6.5 x 10 ² - 2.5 x 10 ⁴	A	unspecified
Sigsgaard et al. (1994)	5.2 x 10 ³ (5.4 x 10 ³)*	I	paper
Sigsgaard et al. (1994)	1.4 x 10 ⁴ (3.1 x 10 ⁴)*	I	unspecified
Marchand et al. (1995)	8.0 x 10 ² - 7.2 x 10 ³	A	unspecified
Würtz et Breum (1997)	9.6 x 10 ² - 2.3 x 10 ⁵	F	paper
Reinthaler et al. (1999)	3.0 x 10 ⁴ - 1.6 x 10 ⁵	A	unspecified
Tolvanen et al. (1999)	3.6 x 10 ³ - 1.4 x 10 ⁵	F	unspecified
Tolvanen et al. (1999)	1.0 x 10 ⁴ - 1.3 x 10 ⁵	A	unspecified
Tolvanen (2001)	3.3 x 10 ² - 2.0 x 10 ⁵	A	unspecified
Tolvanen (2001)	0 - 1.2 x 10 ⁴	F	unspecified
Krajewski et al. (2002)	8.4 x 10 ⁴ - 1.3 x 10 ⁵	F	unspecified
Kozajda et al. (2009)	1.9 x 10 ³ - 1.6 x 10 ⁵	A	unspecified
Park et al. (2011)	2.4 x 10 ⁴ - 1.1 x 10 ⁵	F	unspecified
Breza-Boruta (2012)	0 - 5.3 x 10 ⁴	S	unspecified
Lehtinen et al. (2013)	1.5 x 10 ³ - 2.9 x 10 ⁵	A	unspecified
Kozajda et al. (2015)	1.9 x 10 ³ - 3.4 x 10 ⁴	A	unspecified
Černá et al. (2015)	2.6 x 10 ³ - 3.9 x 10 ⁴	S	paper
Pinto et al. (2015)	1.5 x 10 ⁴ *	S	glass
Černá et al. (2016)	2 x 10 ² - 1.7 x 10 ⁶	F	plastics
Černá et al. (2016)	3 x 10 ² - 6.4 x 10 ⁴	S	plastics
Černá et al. (2017)	2.0 x 10 ² - 1.8 x 10 ⁶	F	plastics
Santos et al. (2018)	2.0 x 10 ¹ - 2.8 x 10 ⁴	S	unspecified

* Mean (SD)

Despite the various methods of sampling airborne fungi, it is obvious that the employees of the waste sorting facilities are exposed to a wide range of airborne fungi concentrations, reaching up to 1.8×10^6 CFU/m³. The employees of other types of waste treatment facilities (e.g. composting plant, landfill, waste incineration plant, sewage treatment plant) are exposed to similar concentrations of airborne fungi (Rahkonen, 1992; Marchand et al., 1995; Ivens et al., 1999; Kiviranta et al., 1999; Reinthaler et al., 1999; Krajewski et al., 2002; Tolvanen, Hänninen, 2006; Teixeira et al., 2013).

The potential health risks to employees of waste sorting facilities result mainly from their long-term exposure to high concentrations of microscopic fungi particles. Ivens et al. (2011) found out that during one workday waste collectors inhaled approximately $1,2 \times 10^5 - 1,8 \times 10^7$ ($\approx 2,8 \times 10^6$) CFU of airborne fungi at a concentration of $10 \times 10^3 - 4,9 \times 10^5$ CFU/m³. On the basis of the obtained results, they created a three-level classification of the employees' weekly inhalation exposure to airborne fungi:

- Low exposure level ($1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ CFU of microscopic fungi)
- Medium exposure level ($1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ CFU of microscopic fungi)
- High exposure level ($>1 \times 10^7$ CFU of microscopic fungi)

Microscopic fungi particles that cling to clothing and faces of the employees can become a source of gastrointestinal exposure. Park et al. (2011) found out in their study that an average of 1.6×10^4 CFU of microscopic fungi/cm² adhered to the faces of the employees of the waste sorting facility during one work shift. In comparison, an average of 3.7×10^5 CFU of microscopic fungi/cm² adhered on the faces of the waste collector. The study also showed that during work shift a large amount of particles of microscopic fungi can cling to various parts of the employees' clothing (trousers - $\approx 4.2 \times 10^6$ CFU/cm², gloves $\approx 6.5 \times 10^6$ CFU/cm², sleeve $\approx 3.2 \times 10^6$ CFU/cm², shoulders – $\approx 1.6 \times 10^5$ CFU/cm², handkerchief – $\approx 3.3 \times 10^5$ CFU/cm²).

The sedimentation of airborne fungi particles or the touches of exposed skin of employees on a contaminated waste are the source of the dermal exposure. As stated by Park et al. (2011), a significant amount of particles of microscopic fungi was detected on the exposed parts of the garbage collectors' bodies (face - $\approx 3.7 \times 10^5$ CFU/cm², back of the hand - $\approx 2.6 \times 10^6$ CFU/cm², palm – $\approx 6,4 \times 10^6$ CFU/cm²).

HEALTH RISKS OF OCCUPATIONAL EXPOSURE

In recent years, an increasing number of studies have given evidence of the relationship between the working activity in waste sorting facilities and the occurrence of health problems (Marth et al., 1997; Chan et Leung, 2011; Eker et al., 2012). In spite of the large number of studies, it is very difficult to link a specific health problem with a particular factor, since the employees of waste sorting facilities are exposed to the simultaneous interaction of biological agents (microscopic fungi, bacteria, viruses) (Würtz, Breum, 1997; Kiviranta et al., 1999; Reinthaler et al., 1999; Tolvanen et al., 1999; Park et al., 2011; Carducci et al., 2013; Lehtinen et al., 2013), chemical agents (microbial volatile organic compounds, endotoxins, mycotoxins) (Rahkonen, 1992; Kiviranta et al., 1999; Degen et al., 2003; Tolvanen, Hänninen, 2006; Park et al., 2011; Lehtinen et al., 2013; Viegas et al., 2014b) and physical factors (noise, unsatisfactory light conditions, vibrations, extreme temperatures) (Krajewski et al., 2002; Tolvanen, Hänninen, 2006). Neglecting the synergistic effects of these factors represents a major limitation of many available studies (e.g. Marth et al., 1997; Athanasiou et al., 2010; Chan, Leung, 2011; Eker et al., 2012). Another methodological problem of some studies is that their authors neglected not only the health condition of the employees before entering the job (e.g. Ivens et al., 1999; Heldal et al., 2003), but also the time elapsing from an employee's entry into the job and the first occurrence of the symptoms (e.g. Ivens et al., 1999; Krajewski et al., 2002; Heldal et al., 2003; Athanasiou et al., 2010). Additionally, some authors even omitted the identification of the measured biological factors. But in fact, allergenic, infectious and toxigenic fungal species may also be present among the microorganisms occurring in the environment of waste sorting facilities (Würtz, Breum, 1997; Kiviranta et al., 1999; Tolvanen, Hänninen, 2006; Lehtinen et al., 2013; Viegas et al., 2014a; Viegas et al., 2014b).

The most important genera causing allergic reactions isolated from the environment of waste sorting facilities are *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor* and *Rhizopus*. These genera of microscopic fungi are characterized by a fast asexual reproduction cycle giving them the ability to quickly produce a huge amount of conidia or spores, which are easily released into the environment (Gravesen, 1979). Threshold values for allergic reaction are not known exactly; however, Bagni et al. (1977) state in their study that an allergic reaction of humans can occur in the presence of only 100 particles (conidia)

of the genus *Alternaria* in m³ of air, or 3000 particles (conidia) of the genus *Cladosporium* in m³ of air.

The most common infectious disease caused by microscopic fungi is dermatomycosis (an infectious disease of the skin, skin derivatives and mucous membranes). The potential originators of this disease can be microscopic fungi of the genera *Alternaria* (Robb et al., 2003), *Aspergillus* (Ozcan et al., 2003), *Cladosporium* (Vieira et al., 2001), *Fusarium* (Nucci, Anaissie 2007), *Paecilomyces* (Hall et al., 2004) and *Ulocladium* (Badenoch et al., 2006). Most of these genera were repeatedly detected in working environment of waste sorting facilities (Nersting et al., 1991; Würtz, Breum, 1997; Kiviranta et al., 1999; Reinthaler et al., 1999; Tolvanen et al., 1999; Lehtinen et al., 2013; Viegas et al., 2014a).

In addition to an increased risk of allergic reactions and dermatomycosis, the employees of waste sorting facilities were more susceptible to organic dust toxic syndrome (cough, chest tightness, dyspnea, flu-like symptoms such as fever, muscle and joint pain, fatigue, headache) and a higher risk of gastrointestinal (diarrhoea, stomach cancer), respiratory (hoarseness, cough, upper respiratory tract inflammation) and musculoskeletal problems (musculoskeletal and joint disorders) (Sigsgaard et al., 1994; Marth et al., 1997; Ivens et al., 1999; Krajewski et al., 2002; Kozajda, Szadkowska-Stańczyk, 2009; Chan, Leung, 2011). Furthermore, Eker et al. (2012) found out that 40% of the employees in a large-scale waste treatment facility suffered from metabolic syndrome (insulin resistance and glucose intolerance, diabetes mellitus, obesity, abdominal fat accumulation, dyslipidemia and hypertension). Employees of waste sorting facilities are further exposed to the risk of acute infectious diseases due to inhalation of bioaerosols containing infectious particles released from waste (Alonso et al., 2015).

An important feature of some fungal species is the production of mycotoxins. Mycotoxins are the product of secondary metabolism of toxigenic fungal species that have adverse effects on humans (Chełkowski, 1991). The presence of several mycotoxins has been detected in the environment of waste sorting facilities. Degen et al. (2003) detected the presence of ochratoxin A in the blood of the workers handling waste, and Viegas et al. (2014b) detected aflatoxin B1 in the blood of a waste sorting facility employees. Occupational exposure to ochratoxin A and enniatin B in the working environment of waste sorting plant was also reported (Viegas et al., 2018). The most significant toxigenic microscopic fungi that have been isolated from the working environment of waste sorting facilities include the following genera: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*,

Fusarium, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys* a *Trichoderma* (Chelkowski, 1991; Bräse et al., 2009; Marin et al., 2013; Jarvis et al., 1998). Thus, exposure to other mycotoxins could be expected.

PREVENTIVE AND PROTECTIVE MEASURES

To minimize health risks, both the employees and employers are encouraged to take a number of technical and organizational measures to help reduce the contamination of the working environment by biological agents. The basic recommendation is the consistent use of protective working tools (thick rubber gloves, respiratory mask, working clothes) and increased personal hygiene during and after working shift (Sigsgaard et al., 1990; Marchand et al., 1995; Kozajda, Szadkowska-Stańczyk, 2009; Viegas et al., 2014b). Another necessary measure is regular air exchange inside the waste sorting facility and thorough daily cleaning of workspaces (Marchand et al., 1995; Marth et al., 1997). The employees should be also informed about the occupational safety and health risks they are exposed to during work. At the same time, they should have regular medical check-ups, and in case of health problems they should be immediately transferred to another position (Marchand et al., 1995; Kiviranta et al., 1999; Kozajda, Szadkowska-Stańczyk, 2009; Athanasiou et al., 2010; Viegas et al., 2014b). Finally, within the spatial layout of waste sorting facilities, the workspaces should be separated from common spaces and sanitary facilities (Marchand et al., 1995; Marth et al., 1997).

CONCLUSION

In recent years, several studies have illustrated the relationship between the working activities in waste sorting facilities and the occurrence of health problems in employees. Despite the large number of studies, it is very difficult to connect a specific health problem with a particular agent as the employees of waste sorting facilities are exposed to the simultaneous interaction of biological, chemical and physical agents. On account of high concentrations of fungi repeatedly measured in the air of some waste sorting plants and due to the identification of toxigenic, allergenic and infectious species, microscopic fungi probably play a important role in this respect. In order to thoroughly assess the influence of high concentrations of microscopic fungi on the health condition of the employees, it is necessary to implement a uniform method for sampling microscopic

fungi that will ensure both their quantification and exact identification. At the same time, future studies should consider the employees' health condition as well as other factors that can affect employees in the work environment. Last but not least, a crucial step in decreasing the health risks to the employees in waste sorting facilities is the compliance with the proposed preventive and protective measures as well as the implementation of occupational exposure limits.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Pavlina Kolarova for help with language corrections.

REFERENCES:

- Alonso E, Lopez-Etxaniz I, Hurtado A, Liendo P, Urbaneja F, Aspritzaga I, Olaizola JI, Piñero A, Arrazola I, Barandika JF, Hernáez S, Muniozguren N, García- Pérez AL, (2015): Q fever outbreak among workers at a waste-sorting plant. *PLoS ONE*, 10, e0138817. doi: 10.1371/journal.pone.0138817.
- Athanasίου M, Makrynos G, Dounias G (2010): Respiratory health of municipal solid waste workers. *Occupational Medicine*, 60, 618–623. doi: 10.1093/occmed/kqq127.
- Badenoch PR, Halliday CL, Ellis DH, Billing KJ, Mills RAD (2006): *Ulocladium atrum* keratitis. *Journal of Clinical Microbiology* 44(3): 1190–1193. doi: 10.1128/JCM.44.3.1190-1193.2006
- Bagni N, Davies RR, Mallea M, Nolard N, Spieksma FT, Stix E (1977): Sporenkonzentrationen in Städten der Europäischen Gemeinschaft (EG). *Acta Allergologica*, 32, 118–138.
- Bräse S, Encinas A, Keck J, Nising CF (2009): Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical Reviews* 109(9): 3903–3990. doi: 10.1021/cr050001f.
- Breza-Boruta B (2012): Bioaerosols of the municipal waste landfill site as a source of microbiological air pollution and health hazard. *Ecological Chemistry and Engineering A*, 19, 851–862. doi: 10.2428/ecea.2012.19(08)083.
- Burge HA, Solomon WR, Muilenberg ML (1982): Evaluation of indoor plantings as allergen exposure sources. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 70, 101–108. doi: 10.1016/0091-6749(82)90236-6.
- Carducci A, Federigi I, Verani M (2013): Virus occupational exposure in solid waste processing facilities. *Annals of Occupational Hygiene*, 57, 1115–1127. doi: 10.1093/annhyg/met043.

- Chan AHS, Leung PCT (2011): Occupational Safety and Health Problems of Workers in Hong Kong Recycling Industries – A Preliminary Ergonomic Study. In: Proc. International MultiConference of Engineers and Computer Scientists, Hong Kong.
- Chełkowski J (1991): Cereal grain: Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Černá K, Wittlingerová Z, Zimová M, Janovský Z (2015): Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant-Case study in Czech Republic. In: Proc. 15th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2015, Albena, Bulgaria, 755–762. doi: 10.5593/SGEM2015/B41/S18.098.
- Černá K, Wittlingerová Z, Zimová M, Janovský Z (2016): Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 29, 493–502. doi: 10.13075/ijomeh.1896.00568.
- Černá K, Wittlingerová Z, Zimová M, Janovský Z (2017): Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities. *Medycyna Pracy*, 68, 1–9. doi: 10.13075/mp.5893.00520.
- Degen GH, Blaskewicz M, Lektarau Y, Grüner C (2003): Ochratoxin a analyses of blood samples from workers at waste handling facilities. *Mycotoxin Research*, 19, 3–7. doi: 10.1007/BF02940082.
- Degois J, Clerc F, Simon X, Bontemps C, Leblond P, Duquenne P (2017). First metagenomic survey of the microbial diversity in bioaerosols emitted in waste sorting plants. *Annals of Work Exposures and Health*, 61, 1076–1086. doi: 10.1093/annweh/wxx075.
- European Parliament (2018): Directive (EU) 2018/851 of 30 May 2018 amending Directive 2008/98/EC on waste. *Official Journal of the European Union*, L150, 109–140.
- Eker HH, Bayraktarlı RY, İşsever H, Ulaş T, Erelel M, Eser A, Özdilli K, Özder A (2012): Metabolic syndrome in collection and disposal of solid waste sector. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 25, 14–21. doi: 10.2478/s13382-012-0004-z.
- Górny RL, Dutkiewicz J (2002): Bacterial and fungal aerosols in indoor environment in Central and Eastern European countries. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 9, 17–23.
- Górny RL, Krysińska-Traczyk E (1999): Quantitative and qualitative structure of fungal bioaerosol in human dwellings of Katowice province, Poland. In: Proc. Indoor Air 99 Conference, Edinburgh, Scotland, 873–878.

- Gravesen S (1979): Fungi as a cause of allergic disease. *Allergy*, 34, 135–154. doi: 10.1111/j.1398-9995.1979.tb01562.x.
- Hall VC, Goyal S, Davis MD, Walsh JS (2004): Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Paecilomyces lilacinus*: Report of three cases and review of the literature. *International Journal of Dermatology*, 43, 648–653. doi: 10.1111/j.1365-4632.2004.02175.x.
- Heldal KK, Halstensen AS, Thorn J, Djupesland P, Wouters I, Eduard W, Halstensen T S (2003): Upper airway inflammation in waste handlers expose to bioaerosol. *Occupational and Environmental Medicine*, 60, 444–450. doi: 10.1136/oem.60.6.444.
- Ivens UI, Breum NO, Ebbehoj N, Nielsen BH, Poulsen OM, Wurtz H (1999): Exposure-response relationship between gastrointestinal problems among waste collectors and bioaerosol exposure. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 25, 238–245. doi: 10.5271/sjweh.430.
- Jarvis BB, Sorenson WG, Hintikka EL, Nikulin M, Zhou Y, Jiang J, Wang S, Hinkley S, Etzel RA, Dearborn D (1998): Study of toxin production by isolates of *Stachybotrys chartarum* and *Memnoniella echinata* isolated during a study of pulmonary hemosiderosis in infants. *Applied and Environmental Microbiology* 64(10): 3620–3625.
- Karunasena E, Markham N, Brasel T, Cooley JD, Straus DC (2000): Evaluation of fungal growth on cellulose-containing and inorganic ceiling tile. *Mycopathologia*, 150, 91–95. doi: 10.1023/A:1010920611811.
- Kiviranta H, Tuomainen A, Reiman M, Laitinen S, Nevalainen A, Liesivuori J(1999): Exposure to airborne microorganisms and volatile organic compounds in different types of waste handling. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 6, 39–44.
- Klánová K (2000): The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: Rooms with and without mould problems; rooms with and without health complaints. *Central European Journal of Public Health*, 8, 59–61.
- Kozajda A, Sowiak M, Piotrowska M, Szadkowska-Stańczyk I (2009): Waste sorting plants--recognition of exposure to biological agents (moulds). *Medycyna Pracy*, 60, 483–490.
- Kozajda A, Szadkowska-Stańczyk I (2009): Selected health complaints, allergic diseases, hygiene behaviors and knowledge of biohazards among workers of waste sorting plants. *Medycyna Pracy* 60(6): 491–499. (in Polish)
- Krajewski JA, Tarkowski S, Cyprowski M, Szarapinska-Kwaszewska J, Dudkiewicz B (2002): Occupational exposure to organic dust associated with municipal waste collection and management. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 15, 289–301.

- Lacey J (1981): The aerobiology of conidial fungi. In: Cole GT and Kendrick B (eds.): *Biology of conidial fungi*. Academic Press, New York, 373–416.
- Lehtinen J, Tolvanen O, Nivukoski U, Veijanen A, Hanninen K (2013): Occupational hygiene in terms of volatile organic compounds (VOCs) and bioaerosol at two solid waste management plants in Finland. *Waste Management*, 33, 964–973. doi: 10.1016/j.wasman.2012.11.010.
- Malmros P, Sigsgaard T, Bach B (1992): Occupational health problems due to garbage sorting. *Waste Management & Research*, 10, 227–234. doi: 10.1177/0734242X9201000303.
- Marchand G, Lavoie J, Lazure L (1995): Evaluation of bioaerosols in a municipal solid waste recycling and composting plant. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 45, 778–781. doi: 10.1080/10473289.1995.10467406.
- Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V (2013): Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218–237. doi: 10.1016/j.fct.2013.07.047.
- Marth E, Reinthaler FF, Schaffler K, Jelovcan S, Haselbacher S, Eibel U, Kleinhappl B (1997): Occupational health risks to employees of waste treatment facilities. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 4, 143–147.
- Nersting L, Malmros P, Sigsgaard T, Petersen C (1991): Biological health risk associated with resource recovery, sorting of recycle waste and composting. *Grana*, 30, 454–457. doi: 10.1080/00173139109432008.
- Nucci M, Anaissie E (2007): *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Review*, 20, 695–704. doi: 10.1128/CMR.00014-07.
- Ozcan M, Ozcan MK, Karaarslan A, Karaarslan F (2003): Concomitant otomycosis and dermatomycoses: a clinical and microbiological study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 260, 24–27. doi: 10.1007/s00405-002-0514-6.
- Pahren HR, Clark CS (1987): Microorganisms in municipal solid waste and public health implications. *Critical Reviews in Environmental Control*, 17, 187–228. doi: 10.1080/10643388709388334.
- Park DU, Ryu SH, Kim SB, Yoon CS (2011): An assessment of dust, endotoxin, and microorganism exposure during waste collection and sorting. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 61, 461–468. doi: 10.3155/1047-3289.61.4.461.
- Pasanen AL, Juutinen T, Jantunen MJ, Kalliokoski P (1992): Occurrence and moisture requirements of microbial growth in building materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 30, 273–283. doi: 10.1016/0964-8305(92)90033-K.

- Pasanen AL, Pasanen P, Jantunen MJ, Kalliokoski P (1991): Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release into the air. *Atmospheric Environment. Part A. General Topics*, 25, 459–462. doi: 10.1016/0960-1686(91)90316-Y.
- Pastuszka JS, Paw UKT, Lis DO, Wlazło A, Ulfig K (2000): Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmospheric Environment*, 34, 3833–3842. doi: 10.1016/S1352-2310(99)00527-0.
- Pinto MJDV, Veiga JM, Fernandes P, Ramos C, Gonçalves S, Velho MMLV, Guerreiro JS (2015). Airborne microorganisms associated with packaging glass sorting facilities. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78, 685–696. doi: 10.1080/15287394.2015.1021942.
- Rahkonen P (1992): Airborne contaminants at waste treatment plants. *Waste Management & Research*, 10, 411–421. doi: 10.1016/0734-242X(92)90115-2.
- Raper KB, Fennell DI (1977): *The Genus Aspergillus*. Krieger Publishing Company, New York.
- Reinthal FF, Haas D, Feierl G, Schlacher R, Pichler-Semmelrock FP, Köck M, Wüst G, Feenstra O, Marth E (1999) Comparative investigations of airborne culturable microorganisms in selected waste treatment facilities and in neighbouring residential areas. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 202, 1–17. doi: 10.1016/S0934-8859(99)80046-7.
- Robb CW, Malouf PJ, Rapini RP (2003): Four cases of dermatomycosis: superficial cutaneous infection by *Alternaria* or *Bipolaris*. *Cutis*, 72, 313–316.
- Santos V, Figueiredo JP, Pinto MV, Santos J (2018): Occupational exposure to bioaerosols in the waste sorting industry. In: *Proc. 6th International Symposium on Occupation Safety and Hygiene (SHO 2018), Occupational Safety and Hygiene VI*, Guimarães, Portugal, 291-296.
- Sigsgaard T, Back B, Malmros P (1990): Respiratory impairment among workers in a garbage-handling plant. *American Journal of Industrial Medicine*, 17, 92–93. doi: 10.1002/ajim.4700170127.
- Sigsgaard T, Malmros P, Nersting L, Petersen C (1994): Respiratory disorders and atopy in Danish refuse workers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 149, 1407–1412. doi: 10.1164/ajrccm.149.6.8004291.
- Teixeira JV, Miranda S, Monteiro RA, Lopes FV, Madureira J, Silva GV, Pestana N, Pinto E, Vilar VJP, Boaventura RRA (2013): Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185, 59–72. doi: 10.1007/s10661-012-2533-0.

Tolvanen OK (2001): Airborne bio-aerosols and noise in a dry waste treatment plant in Pietarsaari, Finland. *Waste Management & Research*, 19, 108–114. doi: 10.1177/0734242X0101900203.

Tolvanen OK, Hänninen KI (2006): Mechanical–biological waste treatment and the associated occupational hygiene in Finland. *Waste Management*, 26, 1119–1125. doi: 10.1016/j.wasman.2005.07.020.

Tolvanen OK, Hänninen KI, Lappi SH, Rantala P (1999): Occupational hygiene at a dry waste treatment plant in Finland. In: *Proc. 7th North American Waste-to-Energy Conference*, Tampa, Florida, USA, 163–172.

Viegas C, Gomes AQ, Abegao J, Sabino R, Graca T, Viegas S (2014a): Assessment of fungal contamination in waste sorting and incineration – Case study in Portugal. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 77, 57–68. doi: 10.1080/15287394.2014.865583.

Viegas S, Osteresch B, Almeida A, Cramer B, Humpf HU, Viegas C (2018): Enniatin B and ochratoxin A in the blood serum of workers from the waste management setting. *Mycotoxin Research*, 34, 85–90. doi: 10.1007/s12550-017-0302-1.

Viegas S, Veiga L, Figueiredo P, Almeida A, Carolino E, Viegas C (2014b): Assessment of workers' exposure to aflatoxin B1 in a Portuguese waste industry. *Annals of Occupational Hygiene*, 59, 173–181. doi: 10.1093/annhyg/meu082.

Vieira MR, Milheiro A, Pacheco FA (2001): Phaeohyphomycosis due to *Cladosporium cladosporioides*. *Medical Mycology*, 39, 135–137. doi: 10.1080/mmy.39.1.135.137.

Würtz H, Breum NO (1997): Exposure to microorganisms during manual sorting of recyclable paper of different quality. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 4, 129–135.

Corresponding author:

K. Černá

Address: Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague,
Kamýcká 129, Praha – Suchbát, 165 00, Czech Republic

Telephone number: +420 22438 2851, E-mail: cernakristyna@fzp.czu.cz

ODBORNÝ ŽIVOTOPIS

Osobní informace:

Jméno: Mgr. Ing. Kristýna Černá

VŠ, fakulta: Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta životního prostředí

Pracoviště: Katedra aplikované ekologie

Forma studia: Ph.D. student prezenční forma

Studijní obor: Aplikovaná a krajinná ekologie

Odborné zaměření: problematika kontaminace ovzduší mikroskopickými houbami

Vzdělání:

2012 – současnost Doktorské studium: Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta životního prostředí, Katedra aplikované ekologie, obor Aplikovaná a krajinná ekologie; téma DSP: Rizika mikrobiologické kontaminace pracovního prostředí zařízení pro nakládání s odpady

2009 – 2012 Magisterské studium: Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, obor: Rostlinná produkce; SZZ (Biologické principy pěstování rostlin, Pěstování rostlin, Ekonomika pěstování rostlin), téma DP: Mykoflóra semen máku, udělen titul Ing.

2009 – 2012 Magisterské studium: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, obor: Botanika, zaměření: Mykologie; SZZ (Botanika – Mykologie), téma DP: Vliv pancířníků na složení společenstva hub v opadu borovice lesní, udělen titul Mgr.

2009 – 2012 Mimořádné studium učitelství: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta; SZZ (Pedagogika a Psychologie, Didaktika biologie), téma ZP: Zařazení mykotoxinů do výuky na střední škole

2006 – 2009 Bakalářské studium: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta; obor Molekulární biologie a biochemie organismů; SBZ (Molekulární biologie a biochemie), téma BP: Interakce hub a pancířníků v lesním opadu, udělen titul Bc.

Vzdělávací kurzy zakončené certifikátem a osvědčením

2014: *Determinační kurz pro hydrobiologii 2014* (Vodňany), SZÚ, Praha

2014: *Laboratorní metody, vzorkování a způsoby hodnocení povrchových vod ke koupání*, SZÚ, Praha

2014: *Mikrobiologický kurz mikrobiologie v laboratoři vod*, CSlab spol. s r.o., SZÚ, Praha

2013: *Konzultační den Centra zdraví a životního prostředí*, SZÚ, Praha

Pracovní zkušenosti:

2012 – 2014: *Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem* - pracoviště České Budějovice, Oddělení biologických analýz, pracovní pozice: Přírodovědný analytik-diagnostik

2007-2009: *Přírodovědecká fakulta UK v Praze* - Katedra botaniky, pracovní pozice: laborantka

Odborné stáže:

Říjen 2014: stáž v *Národní referenční laboratoři pro legionely*, ZÚ se sídlem v Ostravě, pracoviště Vyškov

Listopad/prosinec 2010: zahraniční stáž na *Cardiff University*, Wales, Velká Británie

Ostatní:

Řidičské oprávnění: B

Jazyky: Angličtina (B2)

Němčina (A2)

Práce na počítači: MS Office, Windows, Internet, LPIS, Adobe Photoshop

Účast na projektech:

2014 – 2014: IGA FŽP – Kontaminace pracovního prostředí vybraných dotřídňovacích zařízení mikroskopickými houbami (IGA 4222013123163)

2013 – 2013: IGA FŽP – Metody stanovení mikroskopických hub v pracovním prostředí zařízení pro nakládání s odpady (IGA 422201312423162)

2007 – 2009: GAAV - Vliv pancířníků (Acari:Oribatida) na disperzi a kompetici saprotrofních hub: modelová studie na příkladu borového opadu (GAAV KJB601110718)

PUBLIKAČNÍ PŘEHLED

Příspěvky v časopise s IF

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z. (2017): Exposure to airborne fungi during sorting of recyclable plastics in waste treatment facilities. *Medycyna Pracy*, 68(1):1-9.

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z. (2016): Methods of sampling airborne fungi in working environments of waste treatment facilities. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 29(3):493-502.

Koukol O., Mourek J., Janovský Z., Černá K. (2009) Do oribatid mites (Acari: Oribatida) show a higher preference for ubiquitous vs. specialized saprotrophic fungi from pine litter? *Soil Biology and Biochemistry*, 41(6):1124-1131.

Příspěvky v databázi Scopus (s Hirschovým indexem)

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M. (2018/2019): Fungal contamination in working environment of waste sorting facilities: A review. (Předáno do redakce recenzovaného vědeckého časopisu *Scientia Agriculturae Bohemica*.)

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M., Janovský Z. (2015): Seasonal exposure to airborne fungi in paper sorting plant-Case study in Czech Republic. In: Proc. of the 15th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2015, Book 4, Albena, Bulgaria, June 18-24: 755-762.

Příspěvky ve sbornících a jiná sdělení z konferencí

Černá K. (2014) Kontaminace pracovního prostředí dvou dotřídňovacích zařízení mikroskopickými houbami. In: Studentská vědecká konference OU 2014, Přírodovědecká fakulta Ostravské univerzity, Ostrava, 6. 5. 2014. ISBN 978-80-7464-359-0.

Černá K., Wittlingerová Z., Zimová M. (2014) Metody stanovení mikrobiologické kontaminace povrchu vybavení v pracovním prostředí zařízení pro nakládání s odpady. In:

Aktuální otázky bezpečnosti práce 2014. XXVII. Mezinárodní konference, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 19. – 21. 11. 2014. ISBN 978-80-553-1780-9.

Cidlinová A., Petruželková A., Zimová M., Wittlingerová Z., Černá K. (2013): Zdravotní rizika spojená s podáváním cytostatik na bázi platiny v onkologii. In: Aktuální otázky bezpečnosti práce 2013. XXVI. Mezinárodní konference, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 12. – 13. 11. 2013. ISBN 978-80-553-1464-8.

Černá K., Cidlinová A., Zimová M., Wittlingerová Z. (2013): Metody stanovení mikroskopických hub v pracovním prostředí zařízení pro nakládání s odpady. In: Aktuální otázky bezpečnosti práce 2013. XXVI. Mezinárodní konference, Štrbské Pleso, Slovenská republika, 12. – 13. 11. 2013. ISBN 978-80-553-1464-8.

Černá K. (2012): Vztahy mezi houbami a pancířníky v lesním opadu. In: Maršálek M., Tesařová B., Pecharová E. (Eds.) Náhledy do aplikované ekologie: sborník odborných a vědeckých prací studentů DSP - Kostecké Barborky 2012, Lesnická práce, Kostelec nad Černými lesy: 32 – 40. ISSN 0322-9254.