

Julitta Gajewska*, Krzysztof Cieniek*

IDENTYFIKACJA MIKROORGANIZMÓW TWORZĄCYCH BIOFILMY NA FILTRACH BASENOWYCH

IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS IN BIOFILMS ON SWIMMING POOL FILTERS

Słowa kluczowe: biofilm, filtry basenowe, ziemia okrzemkowa, środowisko wodne, mikroorganizmy.

Key words: biofilm, swimming pool filter, diatomaceous earth, water environment, microorganisms.

Microorganisms in a water environment can live in a big conglomerate called biofilms, where they are surrounded by polymeric substances forming extracellular matrix, which grants them protection from many bacterial biocides. This biofilm can make on the different environmental places, e.g. on filters in swimming pool. In this paper isolation and identification of microorganisms colonized a diatomaceous earth filters and effectivity of filtration process on reduction of the total number of microbes as a water pollutant were described. It was showed, that in these biofilms can exist Gram-negative and Gram-positive pathogenic or potentially pathogenic bacteria, from the different kinds, like: Escherichia, Pseudomonas, Aeromonas, Citrobacter, Proteus, Staphylococcus, Micrococcus, Enterococcus, Bacillus and Clostridium.

1. WPROWADZENIE

W środowisku, szczególnie w takich miejscach, jak: filtry basenowe, rury kanalizacyjne, zbiorniki retencyjne, powstają biofilmy, będące zbiorami mikroorganizmów otoczonych śluzem, który same wydzielają, przytwierdzone zarówno do powierzchni organicznych, jak i nieorganicznych (Dreeszen 2003). Według Sorysa i in. [2009], biofilm jest przestrzenną

* **Dr Julitta Gajewska i mgr Krzysztof Cieniek – Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; tel.: 22 593 26 35; e-mail:gajewska3@wp.pl**

strukturą złożoną z kolonii bakterii umiejscowionych w masie zewnątrzkomórkowych polimerów, wykazujących zdolność do adhezji do powierzchni i siebie nawzajem. Definicja według Coughlan [1996] określa biofilm jako bakteryjny śluz, który rośnie wszędzie tam, gdzie jest woda. Ten dynamiczny kompleks zagregowanych mikroorganizmów żyje w granicy swoistego matrix, zbudowanego z wydzielanych poza komórki polimerycznych substancji [Donlan i Costerton 2002]. Jeżeli bakterie bytują w biofilmach stale zanurzonych pod wodą, wydzielają do otoczenia lepką substancję, przytwierdzającą je do cząstek gleby, metali, plastików, drewna itp. [Little i Lee 2007]. Komunikacja między mikroorganizmami (*quorum sensing*) jest możliwa zarówno w obrębie jednego, jak i wielu gatunków mikroorganizmów. Możliwość zorganizowanego działania jako grupa daje oczywiste korzyści, m.in. adaptację do zmieniających się warunków środowiska i zasiedlanie różnych nisz ekologicznych [Jaworski i in. 2005].

Biofilmy wytworzone na ścianach basenów kąpielowych, czy też na filtrach, stają się niebezpiecznym rezerwuarem patogenów, a w przypadku filtrów, dodatkowo utrudniają ich prawidłowe funkcjonowanie. Według Paska [2007], na jakość wody w basenie wpływa: stan zdrowia użytkowników, przestrzeganie reguł higieny przez użytkowników (główne źródło pogorszenia jakości stanu wody), sprawność urządzeń technologicznych oraz zanieczyszczenie otaczającego środowiska. Przeciętny użytkownik wnosi do wody: drobnoustroje, pasożyty, zanieczyszczenia fizjologiczne, m.in.: naskórek, włosy, resztki kału, mocz, pot, ślinę, flegmę, wydzieliny z ran, czy resztki jedzenia oraz resztki kosmetyków, środków myjących, włókna odzieży oraz kurz [Pasek 2007]. Według Krogulskiej i Matuszewskiej [2009], wśród ważniejszych zakażeń bakteryjnych, których przyczyną może być woda basenowa, mogą być: zakażenia pokarmowe (*Salmonella* spp., *Shigella* spp.), zakażenia układu oddechowego (*Pseudomonas aeruginosa*) oraz stany zapalne skóry i błon śluzowych (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* i *Pseudomonas aeruginosa*). Na system uzdatniania wody basenowej składają się procesy filtrowania, ozonowania oraz doczyszczania wody na ziemi okrzemkowej, które znacznie redukują liczebność patogenów.

2. CEL, MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Celem pracy była izolacja i identyfikacja mikroorganizmów w wodzie basenowej oraz tworzących biofilmy na filtrach basenowych z ziemi okrzemkowej, a także określenie skuteczności filtracji.

Obiektem badań był ogólnie dostępny basen kryty znajdujący się w dzielnicy Bielany w Warszawie. Woda w basenie wymieniana jest bardzo często, tzn. jeden raz w tygodniu, ze względu na wzrost ciśnienia powodowany osadzaniem biofilmów i zapychaniem filtrów. Filtry stanowią specjalny system działający na zasadzie podciśnień, z użyciem jako czynnika filtrującego ziemi okrzemkowej, sprowadzanej z USA. Podczas wymiany wody niecka basenu jest dokładnie czyszczona.

Do jakościowych i ilościowych badań mikrobiologicznych użyto następujących podłoży:

- dla bakterii heterotroficznych (kopirotroficznych) – agar odżywczy z dodatkiem lub bez dodatku 10% odwłóknionej krwi baraniej oraz TSA (Tryptic Soy Agar); *Streptococcus* Agar;
- dla beztlenowców z rodzaju *Clostridium* – podłoże *Pseudomonas* Agar i podłoże MRS dla bakterii fermentacji mlekowej (według Mana, Rogosa i Sharpe'a);
- dla bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* – Endo, McConkey'a i Kliglera – podłoże stałe i płynne Wilsona-Blair'a – dla bakterii *Clostridium perfringens* redukujących siarczyny;
- według Dubos'a dla bakterii celulolitycznych tlenowych (stałe i płynne) oraz dla grzybów mikroskopowych – podłoże Martina i Sabouraud'a.

Próbki wody z basenu (nr 1 – z lewej strony; nr 2 – z prawej strony i nr 3 – z jacuzzi), pobrano zgodnie z normą ISO 5667-2. Butelki zawierały odpowiednio 0,1 ml sterylne-go 1,8% (m/m) roztworu tiosiarczanu (VI) sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Badania mikrobiologiczne zostały podjęte w jedną godzinę po pobraniu materiału. Oznaczono ogólną liczebność bakterii w wodzie metodą płytkową Kocha, zgodnie z normą PN-EN ISO 8199:2001). Hodowle bakterii psychrofilnych prowadzono w temperaturze 22°C przez 72 godziny, bakterii mezofilnych – w temperaturze 37°C, a bakterii celulolitycznych i promieniowców – w temperaturze 28°C przez okres 10 dni.

Do badań jakościowych i ilościowych (metodą płytkową Kocha) biofilmów na ziemi okrzemkowej (filtr basenowy) pobrano cztery próbki: trzy bezpośrednio ze zbiornika filtrującego (ziemia okrzemkowa z biofilmami), jedna jako kontrola – zawierająca czystą ziemię okrzemkową. Pobór próbek przeprowadzono w specjalnie przystosowanym do tego celu kombinezonie, jałowych rękawiczkach z użyciem jałowych, szczelnie zamkniętych zbiorników. Wyniki badań ilościowych podano w przeliczeniu na suchą masę.

Identyfikację izolatów bakterii występujących w wodzie basenowej oraz tworzących biofilmy na filtrach basenowych oparto na cechach biochemicznych, na podstawie testów Api firmy bioMerieux:

- API 20E – identyfikację szczepów z rodzaju *Enterobacteriaceae*;
- API STAPH – identyfikacja gronkowców i innych szczepów z rodziny *Micrococcaceae*.

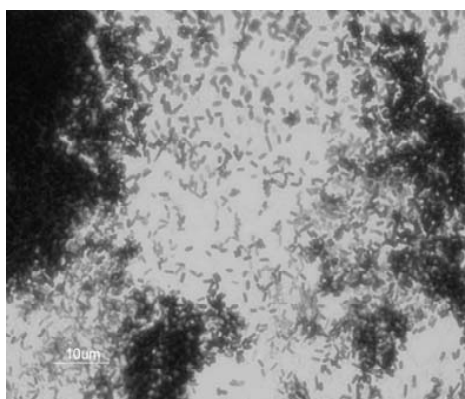
Odczyt profili biochemicznych badanych drobnoustrojów polegał na obserwacji zmiany zabarwienia hodowli bakteryjnych w mikroprobówkach. Identyfikację taksonomiczną przeprowadzono za pomocą programu komputerowego API LAB, przedstawiającego gatunek lub listę gatunków, łącznie z procentowym prawdopodobieństwem ich identyfikacji.

Oznaczano również gatunki bakterii na podstawie cech morfologicznych i fizjologicznych, zgodnie z systematyką według Bergey'a [Bergey 1984; Garrity i in. 2005; Holt i Seath 1986].

Preparaty przyżyciowe i barwione metodą Grama oglądano w mikroskopie Nikon E600 z kamerą, wykonując dokumentację zdjęciową.

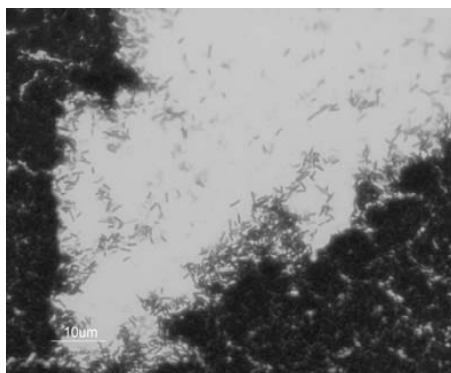
3. WYNIKI BADAŃ

Badania jakościowe mikroorganizmów tworzących biofilmy: obraz preparatu bakteriynego biofilmu, barwiony metodą Grama (fot.1), przedstawia konsorcja bakterii, występujące zarówno w skupiskach, jak i pojedynczo, z wyraźną dominacją Gram-ujemnych pałeczek. Na podstawie wyników badań, przedstawionych w tabelach 1 i 2, izolaty zostały zidentyfikowane jako *Pseudomonas fluorescens* (fot. 2). Kontrolę stanowiły czyste filtry, tzn. ziemia okrzemkowa. W preparacie z ziemi okrzemkowej, barwionym metodą Grama (fot. 3), nie widać, oprócz pozostałości barwników, żadnych mikroorganizmów, co wskazuje na nienaganną jakość filtrów.



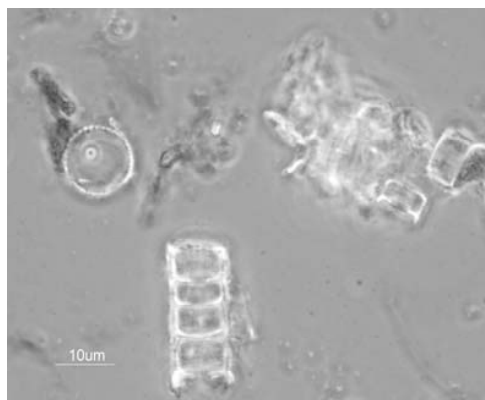
Fot. 1. Preparat barwiony metodą Grama przedstawiający biofilm na filtrze basenowym z ziemi okrzemkowej, pow. 1000x

Phot. 1. Prepare dyed by Gram method, presented biofilm on swimming pool filter; 1000x increase



Fot. 2. Preparat bakterii *Pseudomonas fluorescens* barwiony metodą Grama, pow.1000x

Phot. 2. Prepare of *Pseudomonas fluorescens* bacteria dyed by Gram method, presented biofilm on swimming pool filter; 1000x increase



Fot. 3. Ziemia okrzemkowa. Preparat barwiony metodą Grama, pow. 1000x

Phot. 3. The diatomaceous earth. Preparete dyed by Gram method; 1000x increase

Tabela 1. Charakterystyka morfologiczna i fizjologiczna bakterii *Pseudomonas fluorescens* (klasa *Gammaproteobacteria*, rząd *Pseudomonadales*, rodzina *Pseudomonadaceae*)

Table 1. The morphological and physiological characteristics of *Pseudomonas fluorescens* bacteria (class: *Gammaproteobacteria*, order: *Pseudomonadales*, family: *Pseudomonadaceae*)

Cecha	Wynik
Reakcja według Grama	ujemny
Kształt	paleczka
Rozmiar	0,5 – 1,0 μm x 1,5 – 5,0 μm
Wzrost w warunkach tlenowych i produkcja śluzu	dodatni
Wzrost w warunkach beztlenowych i produkcja śluzu	dodatni
Endospory	brak
Produkcja kwasu z glukozy	ujemny
Barwnik fluorescencyjny w podłożu	dodatni
Reakcja na oksydazę	dodatnia

Tabela 2. Profil biochemiczny szczepu bakterii *Pseudomonas fluorescens* (Test Api 20NE – 92,3% prawdopodobieństwa)

Table 2. The biochemical profile of *Pseudomonas fluorescens* bacteria (Api 20NE Test – 92,3% of probability)

Test	Substrat	Reakcja
NO ₃ ⁻	azotan sodu	+
TRP	L – tryptofan	–
GLU	D – glukoza	–
ADH	L – arginina	–
URE	mocznik	–
ESC	eskulina	–

GEL	żelatyna	–
PNG	4 – nitrofenilo – β D – galaktopiranozyd	-
GLU	D – glukoza	+
ARA	L – arabinoza	+
MNE	D – mannoza	+
MAN	D – mannitol	+
NAG	N – acetyloglukozamina	-
MAL	D – maltoza	-
GNT	glukonian potasu	+
CAP	kwask dekanowy	+
ADI	kwask adypinowy	-
MLT	kwask jabłkowy	+
CIT	cytrynian trisodowy	+
PAC	kwask fenylloctowy	+
OX	oksydaza cytochromowa	+

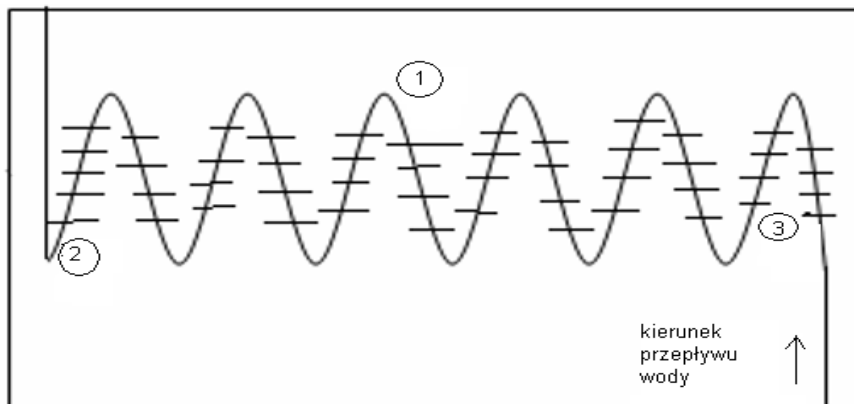
W wyniku badań biofilmów tworzących się na filtrach (ziemi okrzemkowej) udało się wyizolować i zidentyfikować następujące chorobotwórcze bądź potencjalnie chorobotwórcze G(+) i G(-) bakterie: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter amalonaticus*, *C. freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus luteus*, *Enterobacter* sp., *Enterococcus faecalis*, *Clostridium* sp. (tab. 3). Nie stwierdzono obecności bakterii patogennych *Clostridium perfringens* (red. siarczyny), *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* oraz drożdży i grzybów strzępkowych, a także niechorobotwórczych bakterii tlenowych celulolitycznych oraz bakterii fermentacji mlekowej z rodziny *Lactobacillaceae*.

Tabela 3. Zestawienie zidentyfikowanych bakterii izolowanych z biofilmów powstałych na ziemi okrzemkowej (kolumny 1 – 3)

Table 3. The comparison of identified bacteria isolated from biofilm samples produced on diatomaceous earth (1 – 3 number)

1		2		3	
G-	G+	G-	G+	G-	G+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>C. amalonaticus</i> <i>C. freundii</i>	<i>Staphylococcus</i> sp.
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
<i>Citrobacter amalonaticus</i> <i>C. freundii</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Enterobacter</i> sp.				<i>Proteus vulgaris</i>	
<i>Aeromonas hydrophila</i>				<i>Aeromonas hydrophila</i>	

Badanie ilościowe wody i biofilmów miało na celu sprawdzenie skuteczności filtracji w miarę zbliżania się wody do ponownego wpłynięcia do basenu. Kolejność poboru próbek oraz kierunek przepływu wody przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat zbiornika, w którym filtrowana była woda wracająca do basenu

Fig. 1. The scheme of water filtration container for returning water

Zestawienie wyników posiewu wglębnego wody basenowej i inkubacji heterotrofów przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Ogólna liczebność bakterii mezofilnych (37°C) i psychofilnych (22°C) oraz grzybów mikroskopowych (28°C) oznaczona w wodzie basenowej metodą płytkową (jtk • cm⁻³)

Table 4. Determination of the total number of mesophilic (37°C) and psychrophilic (22°C) bacteria and microscopic fungi (28°C) by a plate method in a swimming pool water (c.f.u. cm⁻³)

Podłoże	Ogólna liczebność bakterii w wodzie w basenie				Ogólna liczebność bakterii w wodzie w jacuzzi – nr 3	
	lewa strona – nr 1		prawa strona – nr 2		lewa strona	prawa strona
	37°C	22°C	37°C1	22°C	37°C	22°C
TSA	2,33	40	1,59	60	7,66	75
Agar z krwią	0	0	0	0	0	0
Czapek-Doxa	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> agar	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus</i> agar	0	0	0	0	0	0
McConkey'a	0	0	0	0	0	0
Wilson-Blair'a	0	0	0	0	0	0
Martina	0	0	0	0	0	0

Wynik ogólnej liczebności bakterii przedstawiono w jednostkach tworzących kolonie (jtk) według wzoru:

$$Cs=N \times Vs / (n1V1F1)+(n2V2F2)+...+(niViFi)$$

gdzie:

Cs – liczba jtw w objętości odniesienia Vs próbki;

N – suma wszystkich policzonych kolonii na płytkach pochodzących z rozcieńczeń Fs;

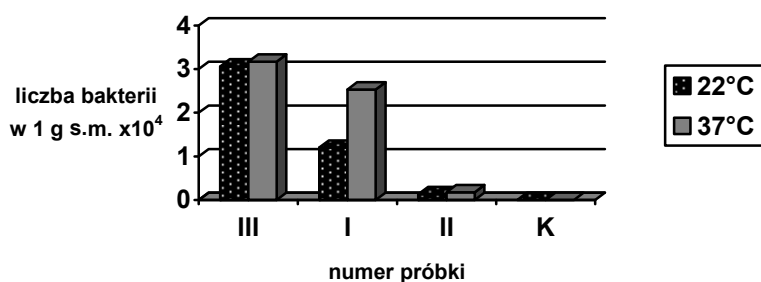
n1, n2... ni – liczba płytek policzonych z rozcieńczeniem F1, F2...Fi;

V1, V2... Vi – objętość próbki analitycznej użytej z rozcieńczeń F1;

F2...Fi; F1, F2...Fi – rozcieńczenia użyte w próbce V1, V2... Vi.

Wyniki analizy ilościowej bakterii wyhodowanych w 37°C i 22°C, pozwalają sądzić, że woda basenowa spełnia wymagania zawarte odpowiednio w normie PN-EN ISO 8199:2001 i nie zagraża zdrowiu ludzkiemu.

Wyniki badań ilościowych bakterii biofilmów na filtrach mikroorganizmów ziemi okrzemkowej przedstawiono na rysunku 2. Kontrolę stanowiła czysta ziemia okrzemkowa, pobrana z tego samego worka, z którego resztę ziemi użyto do filtrowania wody w zbiorniku filtrującym. Zapewniło to wiarygodność wyników i świadomość, że badano jedynie mikroorganizmy, które znajdowały się w wodzie lub zostały tam przyniesione przez człowieka, a nie takie, które mogły zakazić ziemię wcześniej, np. w trakcie transportu.



Rys. 2. Ogólna liczebność mikroorganizmów biofilmów na filtrach basenowych: psychrofilnych (22°C) i heterotroficznych (37°C), kolejno na poszczególnych etapach filtracji wody basenowej (III – jacuzzi, I – lewa strona basenu, II – prawa strona basenu, K – ziemia okrzemkowa jako kontrola)

Fig. 2. The total number of biofilm microorganisms on swimming pool filters: psychrophilic (22°C) and mesophilic (37°C) bacteria, in turn on individual stages of filtration process of a swimming pool water (III – jacuzzi; I – level side of pool; II – dexter side of pool; K – diatomaceous earth as control)

Na rysunku 2 przedstawiono liczebności bakterii środowiskowych – wodnych psychrofilii (22°C) i mezofili antropogenicznych (37°C), wyrosłych na podłożu TSA. Widoczne jest, że kolejność przepływu wody (III, I, II) oraz liczba bakterii, która zebrała się na filtrach, świadczą o dobrym procesie filtracji, w wyniku którego liczba mikroorganizmów zmniejsza się w miarę postępującej filtracji. Na tej podstawie stwierdzono, że filtracja z użyciem ziemi

okrzemkowej zapewnia wysoką jakość wody w basenie, skutecznie ograniczając liczbę mikroorganizmów. Należy jednak pamiętać, że filtry te muszą być stale kontrolowane, żeby one same nie stały się źródłem zakażenia wody w wyniku nadmiernej kumulacji bakterii w postaci biofilmów. Badania wykazały, że kontrola biofilmów, czyli czysta ziemia okrzemkowa, była jałowa w momencie wprowadzania jej jako filtra do zbiornika filtrującego. Pozostałe próbki zawierały znaczące liczby bakterii, co ilustruje wykres na rysunku 2 (według kolejności przepływu wody).

4. Dyskusja

Biofilmy powstałe na złożach ziemi okrzemkowej stanowiącej filtr basenowy zawierały następujące rodzaje i gatunki bakterii: *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Enterococcus faecalis*, *Citrobacter amalonaticus*, *C. freundii*, *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* oraz *Aeromonas hydrophila*. Jak widać, biofilm tworzyły zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne, zróżnicowane morfologicznie (pałeczki, laseczki i ziarniaki). Wszystkie otoczone były wspólnymi, wydzielanymi do środowiska śluzami, chroniącymi je przed otoczeniem.

W wielu pracach badawczych dotyczących mukowiscydozy, m.in. Hardiego i in. [2005], mowa była o *Pseudomonas* sp. jako o rodzaju skupiającym gatunki tworzące duże ilości śluzów; podobne obserwacje zanotowali Sharma i Yadav [2008], w odniesieniu do niektórych bakterii z rodziny *Staphylococcaceae*. Wykazano obfite wydzielanie śluzów przez glebowe bakterie *Pseudomonas fluorescens*, zdolnych do bioremediacji gleby skażonej etyliną; intensywne produkcje śluzu była przyczyną zapychania się skimerów [Gajewska 2001].

W wodzie basenowej nie zaobserwowano obecności gatunków ściśle beztlenowych, czego powodem mógł być duży ruch wody w zbiorniku; jednakże znaleziono laseczki beztlenowe z rodzaju *Clostridium* w biofilmie na ziemi okrzemkowej. Według Borenstein [1994] obecność bezwzględnych beztlenowców jest możliwa w głębszych warstwach biofilmów, gdzie mogą stworzyć się warunki beztlenowe.

W roku 2002 Berit i in. zaobserwowali, że gatunki grzybów z rodzaju *Candida* często występują w biofilmach razem z bakteriami, zapewniając im „ochronę” przed niektórymi antybiotykami, np. wankomycyną. Nie zaobserwowano jednak wzrostu grzybów ani promieniowców w biofilmach powstałych na ziemi okrzemkowej. Gajewska i Witomski [2000] stwierdzili w biofilmie powstałym na ścianach zbiornika z wodą obecność bakterii *Pseudomonas fluorescens*, silnie wytwarzających śluzu, bakterii nitkowatych *Crenothrix polyspora*, zdolnych do utleniania związków żelaza i manganu oraz drożdży.

W pracy Krogulskiej i Matuszewskiej [2009] zauważono potrzebę badania wody basenowej nie tylko pod względem zanieczyszczeń fekalnych i ogólnej liczby drobnoustrojów, ale także bakterii, wywołujących różne choroby, mogące przenosić się za pośrednictwem wody. W biofilmach występujących na filtrach basenowych zaobserwowano wzrost bakterii

charakterystycznych nie tylko dla środowisk wodnych, ale także dla bioty człowieka. Wynik taki jest jak najbardziej zrozumiały ze względu na obecność dużej liczby osób uczęszczającej na basen. Zauważono, że bakterie autochtoniczne bioty ludzkiej doskonale przystosowują się do warunków panujących na basenie, nadmiernie się rozmnażają, a tym samym powodują szybkie powstawanie biofilmów, których usuwanie prowadzi musi do częstej wymiany filtrów. Niektóre z tych bakterii były oportunistycznymi patogenami.

Wzrostu grzybów w konglomeratach nie zaobserwowano. Możliwą tego przyczyną może być brak wzajemnych powiązań między grzybami i bakteriami tworzącymi biofilm na ziemi okrzemkowej.

W badaniach przeprowadzonych przez Wyczarską-Kokot i Piechurskiego [2002] wykazano zależności między okresami wymiany złóż a jakością wody. Ze względu na to należy stwierdzić, że ziemia okrzemkowa jako filtr, spełnia swoje zadanie, zatrzymując mikroorganizmy na powierzchni, pod warunkiem jej regularnej wymiany. Ponieważ zapewnia dogodne środowisko życia i rozwoju bakterii w formie biofilmów, w celu uniknięcia wtórnego zakażenia wody, należy przestrzegać terminów wymian. Mając na uwadze wyżej wymienione aspekty stosowania takiego filtru, stwierdzono, że zapewnia on odpowiednią jakość wody w basenach.

5. WNIOSKI

1. Zaobserwowano różnorodność mikroflory bakteryjnej występującej w biofilmie na ziemi okrzemkowej, filtrującej wodę basenową, m.in. nieprzetrwalikujące gram-ujemne bez-tlenowce względne, bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, jak i przetrwalikujące gram-dodatnie z rodzaju *Bacillus* oraz *Clostridium* sp., bez udziału promieniowców i grzybów mikroskopowych.
2. Wśród bakterii izolowanych z wody basenowej i biofilmu stwierdzono obecność chorobotwórczych, bądź potencjalnie chorobotwórczych bakterii, jak *E. coli*, *Staphylococcus* sp., *Proteus vulgaris* czy *Enterococcus faecalis*.
3. Ze względu na wytwarzanie bakteryjnego biofilmu na filtrach z ziemi okrzemkowej, z intensywnie tworzonymi śluzami, m.in. przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, koniecznością staje się częsta wymiana filtrów.
4. Zastosowanie ziemi okrzemkowej do filtracji wody basenowej jest metodą skuteczną, prowadzącą do znacznej redukcji liczebności bakterii, w tym chorobotwórczych.
5. Ze względu na szybko powstające biofilmy na filtrach, zachodzi potrzeba systematycznej ich wymiany, co może zapewnić jakość wody basenowej na najwyższym poziomie.
6. Możliwość usunięcia i zutylizowania całego złoża ziemi okrzemkowej jest technologią stosunkowo łatwą do wykonania, chociaż kosztowną; nie powoduje to jednak dodatkowych problemów, jakie mogłyby nastąpić podczas zastosowania uzdatniania wody, np. podczas czyszczenia filtrów.

PIŚMIENNICTWO

- BORENSTEIN S.B. 1994. Microbiologically Influenced Corrosion Handbook, Industrial Press INC. New York.
- COUGHLAN A. 1996. Slime city, New Scientist 15: 1–21.
- DREESZEN P.H. 2003. Edstrom Industries, INC. The key to understanding and controlling bacterial growth in Automated Drinking Water Systems. Second Edition: 1–19.
- GAJEWSKA J., WITOMSKI P. 2000. Colonization of resin – glass laminate by *Crenothrix polyspora*, *Pseudomonas fluorescens* and yeast in a water tank and sensitivity of disinfectants. Med. Sci. Monit., 6, Suppl. 3, E/P – 38: 141.
- GAJEWSKA J. 2001. Selekcja mikroorganizmów zasiedlających środowisko glebowe po skażeniu etyliną 94. W: Drobnoustroje środowiska glebowego – aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne. Wyd. UMK, Toruń: 129–134.
- GARRITY G.M., BRENNER D.J., KRIEG N.R., STALEY J.T. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd ed. Vol. 2: The *Gammaproteobacteria*: 965–1559.
- HARDIE K.R., BADWIN T., WILLIAM P. 2005. Molecular basis of bacterial adaptation to pathogenic life style. In: Borriello SP, Murray PR, Funke G. Ed. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 10th. Ed. Hodder Arnold, ASM Press: 147–182.
- HOLT J.H. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th. Ed. Williams A. Wilkins, Baltimore.
- HOLT J.H., SNEATH H.A. 1986. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 1st ed., vol. 2. Gram-positive Bacteria other than Actinomycetes: 965–1559.
- Jakość wody. Ogólne wytyczne oznaczania liczby bakterii metodą hodowli.** PN-EN ISO 8199:2001.
- Jakość wody – pobieranie próbek. Część 2: Przewodnik po pobieraniu próbek.** ISO 5667-2
- JAWORSKI A., SERWECIŃSKA L., STĄCZEK P. 2005. Quorum sensing – komunikowanie się komórek w populacji bakterii przy udziale chemicznych cząstek sygnałowych. Postępy Biologii Komórki 32: 231–256.
- KROGULSKA B., MATUSZEWSKA R. 2009. Baseny kąpielowe – wymagania sanitarno-higieniczne i bakteriologiczne, Państwowy Zakład Higieny Zakład Higieny Komunalnej. Sympozjum Instalacje Basenowe.
- LITTLE B.J., LEE S.J. 2007. Microbiologically influenced Corrosion. Wiley-Interscience. A. John Wiley and Sons, INC.
- Mikrobiologia. Ogólne zasady przygotowywania rozcieńczeń do badań bakteriologicznych.** ISO 6887.
- PASEK A. 2007. Utrzymanie standardów higienicznych basenów kąpielowych, Państwowa Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Gryficach. Seminarium w dniu 26.06.2007 r.
- SHARMA A.M., YADAV S. 2008. Biofilms: Microbes and Disease, The Braziliiana Journal of Infectious Diseases 12(6): 526–530.

- SORYS K., SORYS P., POŁOCZEK A. 2009. Metoda zapobiegania rozwojowi biofilmu, Water & Wastewater Technic. WWT Polska, Sp. z o.o. (<http://www.wwtpolska.pl> ; strona aktualna na dzień 09.07.2009.).
- WYCZARSKA-KOKOT J., PIECHURSKI F. 2002. Ocena skuteczności filtracji wody i jakości wód popłucznych w instalacjach basenowych. Ochrona środowiska 1(84): 33–36.