

Prof. dr hab. med. Wojciech Hanke
Kierownik Zakładu Epidemiologii Środowiskowej
Instytut Medycyny Pracy im. Prof. J. Nofera w Łodzi

Recenzja pracy doktorskiej

mgr Michała Kowalskiego

pt. „Przeżywalność mikroorganizmów bakteryjnych i grzybowych w powietrzu i jej wpływ na strukturę bioaerozolu.

Problem pyłowych i gazowych zanieczyszczeń powietrza, w ciągu ostatnich lat coraz częściej odbierany jest jako jeden z priorytetów ochrony środowiska, głównie ze względu na ich negatywny wpływ na zdrowie. Dysponujemy aktualnie ogólnokrajowym systemem monitorowania, normatywami oraz potrafimy określić w skali populacji konsekwencje zdrowotne ekspozycji. Sytuacja wygląda zupełnie inaczej w przypadku ekspozycji na bioaerozol, czyli mieszaninę cząstek pochodzenia biologicznego. Na dzisiaj, potrafimy jedynie oceniać wielkość ekspozycji, niestety bez możliwości oceny jej w kategoriach normatywów i szacowania skutków zdrowotnych.

Dobrze znane są źródła bioaerozolu w powietrzu. Mogą one obejmować sytuacje powszechnie występujące, takie jak przejazd samochodem wyposażonym w klimatyzację, ale również wyjątkowe, takie jak zamieszkanie w sąsiedztwie ferm drobiarskich, które oprócz bioaerozolu dodatkowo emitują lotne związki chemiczne o przykrym zapachu.

Wielu decydentów bagatelizuje problem, wskazując na jego postrzeganą niewielką szkodliwość. Z drugiej strony wyniki wielu badań dowodzą, że problem jest ważny, aktualny i wymagający unormowania w naszych aktach prawnych.

W przedstawionej wyżej sytuacji, z dużym zainteresowaniem zapoznałem się z pracą mgr Michała Kowalskiego dotyczącą czynników wpływających na przeżywalność cząstek bioaerozolu, a więc wpływających na wielkość i strukturę ekspozycji.

Praca ma standardowy układ i liczy 154 strony, w tym podstawowe rozdziały zwykle ujmowane w pracy doktorskiej. Po wprowadzeniu, mającym charakter ogólny, Doktorant przechodzi do zwięzłego wstępu teoretycznego, po którym następuje sformułowanie celu głównego i celów szczegółowych oraz zaprezentowanie materiału i metody badania. Kolejne rozdziały to podsumowanie i dyskusja wyników. Jest to najbardziej obszerna część pracy i prezentuje duży wysiłek jaki włożył Doktorant w realizację pracy doktorskiej. Pracę zamykają wnioski korespondujące z celami szczegółowymi oraz bibliografia (w układzie alfabetycznym nieponumerowana) i 15 załączników.

Doktorant umiejętnie prezentuje główne aspekty bioaerozoli, wskazując na ich zróżnicowane właściwości fizyko-chemiczne. Bardzo trafnie prezentuje stanowisko, że cząsteczki zawieszane w powietrzu to stan przejściowy. Przekonuje, że powietrze to nie jest

naturalne środowisko życia dla bioaerozolu. Głównym ich przeznaczeniem jest wzrost, a ten jest możliwy dopiero po osadzeniu na powierzchni. Właśnie dlatego, badania poziomów stężeń aerozoli bakteryjnych i grzybowych opiera się głównie na metodach hodowli mikrobiologicznej.

Doktorant zdaje sobie sprawę, że ocena stężenia mikroorganizmów w danym środowisku powietrznym jedynie na podstawie sedymentacji jest obciążona błędem. Przedstawia takie metody, jak 6-stopniowy kaskadowy impaktor Andersena, służący do pobierania próbek powietrza i dokładnego wyznaczenia stężeń. Impaktor pozwala na wyznaczenie stężenia żywych mikroorganizmów tworzących kolonie na podłożach stałych.

Doktorant proponuje przyjęcie definicji bioaerozolu jako "stężenie żywych mikroorganizmów", przeciwstawiając ten pogląd przyjmowanej czasami definicji bioaerozolu ujmującej stężenie bioaerozolu całkowitego. Ta ostatnia definicja, mająca uzasadnienie, niestety natrafia na problemy metodyczne przy jej zastosowaniu.

Doktorant identyfikuje główne źródła emisji bioaerozoli. Po krótkiej ich charakterystyce przechodzi do źródeł antropogenicznych. Słusznie uznaje, że ważnym problemem są zanieczyszczenia powietrza wewnątrz pomieszczeń zarówno mieszkalnych, jak również środowiska pracy. Dotyczy to w szczególności pomieszczeń słabo wentylowanych. Prezentuje ciekawe dane dotyczące sytuacji w przedszkolach, szkołach, domach opieki. Zwraca uwagę na zagrożenie w zakładach usług komunalnych, w których wykonywano, oprócz pomiarów stężeń bioaerozolu, także pomiary stężeń endotoksyn.

Zgadzam się z Doktorantem, że aktualnie największy problem stwarzają składowiska odpadów, oczyszczalnie ścieków. Badania w tym ostatnim środowisku prowadzone były również z udziałem Doktoranta i znalazły odzwierciedlenie w publikacji.

Doktorant z dużą wiedzą identyfikuje skutki zdrowotne u narażonych na bioaerozole. Jednakże mam wątpliwości, czy modelowanie depozycji bioaerozolu w układzie oddechowym człowieka, w zależności od rozmiaru i kształtu cząstek, przy użyciu modelu probalisticznego płuc pozwoli na określenie ich szkodliwości. Badania takie wskazują jednak jedynie na potencjalne ryzyko, a nie dają informacji o jego wielkości. Te możliwe są jedynie w dobrze zaplanowanych badaniach epidemiologicznych, dysponujących długoterminową oceną ekspozycji w kohortach narażonych osób, ale również czułymi markerami stanu zdrowia.

Doktorant wspomina o badaniach dotyczących występowania alergii, jednakże zgodnie z celem pracy nie poświęca im dużo czasu. Przeciwnie, tematyka dotycząca procesów sterylizacyjnych (naturalnych i sztucznych) to bardzo rozwinięta część przeglądu. Na poziom stężeń aerozoli biologicznych mają przede wszystkim wpływ parametry meteorologiczne, takie jak temperatura i wilgotność powietrza, umożliwiające cząstkom biologicznym warunki do wzrostu. Samej sedymentacji sprzyjają poziome ruchy powietrza. Na podstawie tych parametrów podejmowane są próby modelowania stężeń zarodników grzybów takich jak *Altenaria* i *Cladosporium*. Decydującym jest w tych przypadkach wpływ

temperatury. Jednakże coraz większe znacznie mają epizody smogowe i intensywne opady deszczu, które wbrew oczekiwaniom mogą zwiększać stężenia cząstek biologicznych.

Doktorant słusznie konkluduje, że w piśmiennictwie nadal nierozstrzygnięty jest problem ilościowej oceny wpływu promieniowania słonecznego, temperatur, wilgotności, występowania opadów czy poziomych ruchów powietrza na stężenie żywych cząstek bakteryjnych i grzybowych. Wskazuje również na brak szczegółowej wiedzy, uzyskanej za pomocą modelowania, na temat przeżywalności w atmosferze tych mikroorganizmów.

Główny cel pracy to próba oceny ilościowej wpływu podstawowych parametrów meteorologicznych i środowiskowych na przeżywalność cząstek bakteryjnych i grzybowych zawartych w powietrzu atmosferycznym. Celowi głównemu podporządkowano 6 celów szczegółowych.

W rozdziale poświęconym metodyce opisano stanowisko pomiarowe, aparaturę pomiarową, którą stanowił kaskadowy impaktor Andersena, metody hodowlane, analizę morfologiczną i identyfikację mikroorganizmów z wykorzystaniem testów biochemicznych oraz analizy stężenia całkowitego aerozolu bakteryjnego oraz jego struktury. Opisane zostały również zastosowane metody statystyczne.

Prezentacja i dyskusja wyników przeprowadzona została łącznie. Zebrany materiał to badania poziomów stężeń aerozoli biologicznych prowadzonych w okresie kwiecień 2015-wrzesień 2016. Parametry meteorologiczne uzyskano z raportów IMIGW. Pomiary stężeń aerozolu grzybowego i bakteryjnego wykazywały dużą zmienność sezonową – z tendencją do najwyższych stężeń w miesiącach wiosenno-letnich.

Zgadzam się z Doktorantem, że badania zmienności sezonowej i ocena uwarunkowań kształtowania się poziomów stężeń aerozoli bakteriologicznych były już przedmiotem badań i zostały opisane w literaturze przedmiotu. Warto jednak podkreślić, iż brak jest opracowań dokumentujących mechanizmy zachodzących przemian.

W odniesieniu do głównego czynnika, wpływającego na badane zjawiska – temperatury powietrza atmosferycznego, Doktorant zaobserwował, zgodnie z oczekiwaniami, zależność wprost proporcjonalną. Jednakże obserwowana była ona tylko do pewnych wartości, różnych dla rodzaju bioaerozolu (wyższa dla bioaerozolu grzybowego). Jest to wymierne osiągnięcie Doktoranta. Nie wykazano wpływu wilgotności, wiatru i słaby wpływ ciśnienia atmosferycznego.

Opady atmosferyczne w sposób szczególny wpływały na kształtowanie bioaerozolu. Na początku obserwowano wzrost aerolizacji mikroorganizmów, ale po ich ustąpieniu stężenia obniżały się.

Doktorant potwierdził własności sterylizacyjne promieniowania UV. Najsilniejsze jego działanie ma miejsce w godzinach południowych.

Ciekawych informacji dostarczyło wyznaczanie współczynników sterylizacyjnych charakteryzujących wrażliwość aerozolu na promieniowanie słoneczne. Wartości dla bioaerozolu bakteryjnego były wyższe niż dla grzybowego

Zmienność dobową została oceniona jako istotna. Generalnie najwyższe stężenia aerozolu bakteryjnego są rano, potem maleją w godzinach południowych, aby nieznacznie wzrosnąć w godzinach popołudniowych. W przypadku aerozolu grzybowego, bardziej wrażliwego na ozon, nie obserwowano wzrostu w godzinach popołudniowych.

Rozkłady ziarnowe badanych aerozoli wskazują, że w niekorzystnych warunkach pogodowych (lato i zima) cząstki aerozolu bakteryjnego przeżywają w mniejszych skupieniach, bądź zwiększają liczbę przetrwalników. Doktorant nie zaobserwował takiej prawidłowości dla grzybów.

W pracy wykazano również że ma miejsce przesunięcie udziału frakcji w kierunku drobniejszych pyłów wraz z intensywnością sterylizacji powietrza w wyniku promieniowania UV i ozonu.

Badania taksonomiczne wskazują na dominującą rolę bakterii Gram-dodatnich bez znaczących zmian sezonowych.

Bardzo ciekawych wyników dostarczyły analizy stężeń bioaerozolu całkowitego. Zimą notowane są bardzo niskie poziomy stężenie bioaerozolu żywego, przy jednoczesnym niskim wskaźniku stosunku aerozolu całkowitego do form żywych. W pozostałych porach roku wskaźnik ten był wyższy. Ta część pracy nie ma odniesienia do celów szczegółowych. Pięć wniosków wieńczy pracę.

Pytanie do Doktoranta:

Czy i jakie widzi możliwości wykorzystania uzyskanych wyników dla celów planowania przyszłych badań epidemiologicznych lub innych z zakresu zdrowia środowiskowego?

Podsumowanie:

Przedstawiona do oceny praca spełnia wymogi stawiane rozprawom przy ubieganiu się o stopień doktora. Świadczy ona, że Doktorant mgr Michał Kowalski posiada umiejętność planowania badań naukowych, poprawnej ich realizacji i opisu oraz wnikliwej interpretacji uzyskanych rezultatów. Recenzowana przeze mnie praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wskazuje na ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata w problematyce oceny ekspozycji na bioaerozole, a także na umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Doktorant poprawnie wybrał cel i zakres badań, właściwie dobrał metody badawcze i na ich podstawie uzyskał wiarygodne wyniki, które posłużyły do sformułowania wniosków mających duże znaczenie dla uprawianej dziedziny nauki.

Przedstawiona rozprawa spełnia warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym. Dlatego też mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Inżynierii Środowiskowej i Energetyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach wniosek o dopuszczenie mgr Michała Kowalskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę duży wysiłek podjęty przez Doktoranta przy opracowaniu koncepcji pracy, staranność w formułowaniu celów badawczych, bardzo dużą pracowitość zaplanowanych badań oraz kompleksowość przeprowadzonych analiz statystycznych uwieńczonych zasadnymi wnioskami wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Inżynierii Środowiskowej i Energetyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Michała Kowalskiego.

4.09.2017

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. Kowalski', is written in a cursive style.