



INSTYTUT MEDYCYNY PRACY IM. PROF. J. NOFERA

prof. dr hab. med. Irena Szadkowska-Stańczyk
Zakład Środowiskowych Zagrożeń Zdrowia

Recenzja rozprawy

na stopień doktora mgr inż. Justyny Skóry

pt.: „**Wskaźniki zanieczyszczenia mikrobiologicznego środowisk pracy**”.

Problematyka rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Skóry dotyczy zanieczyszczenia wybranych środowisk pracy mikroorganizmami, które mogą zagrażać zdrowiu pracowników. Celem badań przeprowadzonych przez Doktorantkę było wytypowanie drobnoustrojów wskaźnikowych, szkodliwych dla zdrowia, występujących w środowisku pracy kompostowni, garbarni oraz muzeów, archiwów i bibliotek. Ponadto celem jej badań była ocena zdolności toksynotwórczych, alergennych oraz wirulencji określonych drobnoustrojów wskaźnikowych dla wymienionych środowisk pracy z uwzględnieniem przetwarzanych czy przechowywanych materiałów technicznych. Przeprowadzone badania zawierały także aspekt praktyczny w postaci oceny skuteczności różnych metod dezynfekcji objętych oceną środowisk pracy oraz oceną efektywności bioaktywnych ochron dróg oddechowych dla pracowników narażonych na szkodliwe mikroorganizmy.

Przewód doktorski mgr inż. Justyny Skóry jest prowadzony w oparciu o ustawę z dn. 18. 03. 2011 r., a promotorem jest Prof. dr hab. Beata Gutarowska z Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej.

Rozprawa doktorska ma formę spójnego tematycznie zbioru opublikowanych prac. Na cykl prac składa się dziesięć prac opublikowanych w następujących czasopismach: Medycyna Pracy (2 prace), Aerobiologia, Journal of the Air and Waste Management Association, World Mycotoxin Journal, International Journal of Environmental Research and Public Health, The International Journal of Current Microbiology and Applied Science, Fibres and Textiles in Eastern Europe,

Bezpieczeństwo Pracy – Nauka i Praktyka oraz Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine.

Prace te zostały opublikowane w latach 2012 – 2015, w tym 8 z nich w 2014 i 2015 roku. Spośród 10 prac, 8 zostało zamieszczonych w czasopismach posiadających wskaźnik wpływu (IF), którego wartość mieściła się w zakresie 0,316 -1,993. Wszystkie prace są wielo autorskie ale w sześciu z nich Doktorantka jest pierwszym autorem. W pozostałych czterech pracach pierwszym autorem jest Prof. Gutarowska – promotor rozprawy, zaś mgr Justyna Skóra jest drugim (3 prace) bądź trzecim (1 praca) autorem. Z załączonych oświadczeń Doktorantki wynika, iż jej udział w każdej z prac przekraczał 50%, a w przygotowaniu 5 publikacji przekraczał 60%. Z opisu uczestnictwa w badaniach i przygotowaniu prac wynika, iż mgr inż. Justyna Skóra uczestniczyła w każdym z kolejnych etapów badań począwszy od koncepcji badań, opracowania metodyki, przez wykonanie ilościowych i jakościowych analiz mikrobiologicznych, sformułowania wniosków oraz przygotowania tekstu publikacji. Załączony cykl prac spełnia wszystkie warunki określone w art. 13 ustawy i może być przedstawiony jako rozprawa doktorska.

Rozprawa jest uzupełniona 52 stronicowym tekstem zawierającym szerokie wprowadzenie do problematyki czynników biologicznych w środowisku pracy oraz jasne i logicznie ułożone omówienie osiągnięć badawczych przedstawionych w cyklu prac podlegających ocenie.

Zagadnienia badawcze podejmowane przez mgr Justynę Skórę, udokumentowane cyklem prac należą do ważnych tematów związanych z narażeniem na szkodliwe czynniki biologiczne i w istotny sposób uzupełniają wiedzę w zakresie metod oceny ekspozycji na te czynniki w środowisku pracy. W szczególności dotyczy to opracowania kryteriów i skali oceny klasyfikacji mikroorganizmów środowiskowych jako podstawy ustalenia wskaźników zanieczyszczeń mikrobiologicznych określonych środowisk pracy. Niezwykle istotnym wątkiem badawczym jest określenie właściwości cytotoksycznych, toksynotwórczych oraz alergicznych poszczególnych mikroorganizmów w zależności od materiałów na których czynniki te wzrastają w poszczególnych środowiskach zawodowych.

Poniżej omówię wyniki prac stanowiących rozprawę doktorską.

Prace nr I – III

- I. **Skóra J., Zduniak K., Gutarowska B., Rębisz D.** *Medycyna Pracy* 63(2):153-165 (2012).
- II. **Skóra J., Gutarowska B., Pielech-Przybylska K., Stępień Ł., Pietrowski P., Pietrzak K., Piotrowska M.** *Aerobiologia* DOI 10.1007/s10453-015-9372-8 (2015).
- III. **Skóra J., Gutarowska B., Pietrzak K.** *Bezpieczeństwo Pracy – Nauka i Praktyka* 6(501):22-24 (2013).

Prace te poświęcono ustalaniu stężeń oraz gatunków wiodących mikroorganizmów w środowisku pracy muzeów, archiwów oraz bibliotek. Analiza rozkładu ziarnowego aerozolu grzybowego w tych środowiskach wykazała, że dominują w nim cząstki o średnicach aerodynamicznych 1,1 -2,1 μm co wskazuje, że mogą one deponować się w pęcherzykach płucnych pracowników narażonych.

Mimo stężeń grzybów pleśniowych nie przekraczających wartości referencyjnych stwierdzone gatunki/rodzaje drobnoustrojów mogą stwarzać zagrożenie dla zdrowia pracowników ze względu na właściwości alergizujące, toksynotwórcze i inwazyjne.

Praca nr IV

- IV. **Skóra J., Gutarowska B., Stępień Ł., Otlewska A., Pielech-Przybylska K.** *Medycyna Pracy* 65(1):15-32 (2014).

Wykazano, iż na zanieczyszczenie mikrobiologiczne na stanowiskach pracy w garbarniach wpływał głównie proces technologiczny, a liczba mikroorganizmów w powietrzu garbarni przewyższa znacznie zanieczyszczenie powietrza atmosferycznego. Jednakże w powietrzu badanych zakładów nie stwierdzono przekroczenia wartości referencyjnych. W tym środowisku pracy dominowały bakterie, stanowiąc 51-92% mikroorganizmów izolowanych z powietrza oraz 60-100% z powierzchni skór. Badania rozkładu ziarnowego bioaerozolu wskazały, iż w powietrzu hali produkcyjnej dominuje aerozol bakteryjny i grzybowy o rozmiarach 1,1-2,1 μm . Znaczący udział (67%) w bioaerozolu miały cząstki grzybów o średnicach aerodynamicznych 0,65-1,1 μm i 1,1-2,1 μm , które mogą penetrować oskrzeliki i pęcherzyki płucne pracowników garbarni i wywoływać u nich dolegliwości zdrowotne.

Wśród zidentyfikowanych w środowisku pracy w garbarniach mikroorganizmów występowały gatunki potencjalnie zagrażające zdrowiu człowieka.

Praca nr V

V. Gutarowska B., **Skóra J.**, Stępień Ł., Szponar B., Otlewska A., Pielech-Przybylska K. *Journal of the Air & Waste Management Association* 65(4):466-478 (2015).

Autorzy przedstawili w tej pracy analizę porównawczą zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz składu jakościowego mikroorganizmów na stanowiskach pracy w dwóch różnych rodzajach kompostowni. Stwierdzono, iż stopień zanieczyszczenia powietrza w zakładzie nie zależy od rodzaju kompostowni i jest raczej specyficzny dla danego zakładu. Na stopień zanieczyszczenia wpływa przede wszystkim liczba drobnoustrojów obecnych w przetwarzanym kompoście.

Ponadto w pracy oszacowano zagrożenie zdrowotne w oparciu o badanie rozkładu ziarnowego bioaerozolu. Stwierdzono, iż w kompostowni dominują cząstki bakteryjne o rozmiarach 0,65-1,1 μ m i 1,1-2,1 μ m, które mogą pochodzić od pojedynczych komórek bakteryjnych. Zdolne są one do głębokiej penetracji drzewa oskrzelowego i pęcherzyków płucnych, stwarzając zagrożenie dla zdrowia pracowników. W aerozolu grzybowym znaczny udział miały cząstki o rozmiarach 1,1-2,1 μ m, 2,1-3,3 μ m i 7-11 μ m. Podano także skład jakościowy mikroorganizmów bakteryjnych i grzybowych charakteryzujący badane kompostownie.

Przedstawione szczegółowe wyniki podane w pracach I-V charakteryzujące ilościowe i jakościowe zanieczyszczenia mikrobiologiczne badanych środowisk pracy dały podstawę do opracowania kryteriów i skali oceny do klasyfikacji mikroorganizmów środowiskowych do grup wskaźników zanieczyszczenia mikrobiologicznego.

Podstawą proponowanej koncepcji oceny zagrożeń mikrobiologicznych w środowisku pracy jest wyróżnienie **trzech grup wskaźnikowych** (I – mikroorganizmy nie związane ze specyfikacją środowiska pracy; II – mikroorganizmy stale występujące w środowisku pracy; III – wskaźniki zanieczyszczenia mikrobiologicznego). Przynależność drobnoustrojów do poszczególnych grup oceniana jest na podstawie trzech punktowanych kryteriów: - częstości izolacji szczepu ze środowiska, - źródła pochodzenia szczepu, - szkodliwości zdrowotnej dla ludzi.

Za **wskaźniki zanieczyszczenia mikrobiologicznego** (grupa III) uznano gatunki drobnoustrojów ściśle związane ze specyfiką miejsca pracy (np. przetwarzanym surowcem czy rodzajem składowanego i przechowywanego materiału, występujące z wysoką częstością w miejscu pracy oraz stanowiące zagrożenie zdrowia dla pracowników w oparciu o przedstawione dane literaturowe. W **publikacji I** umieszczono pełną klasyfikację mikroorganizmów ze środowiska pracy w muzeach do grup wskaźników zanieczyszczenia mikrobiologicznego.

W **publikacji III** zaproponowano gatunki wskaźnikowe dla zanieczyszczenia mikrobiologicznego w archiwach i bibliotekach.

Na podstawie **pracy nr IV** oraz **V** można ustalić wskaźniki zanieczyszczenia mikrobiologicznego w garbarniach i kompostowniach.

Praca nr VI

VI. Skóra J., Gutarowska B. Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine 17(3):52-61 (2014).

W pracy przedstawiono nowatorskie badania czynników wirulencji mikroorganizmów wskaźnikowych wyizolowanych z miejsc pracy, a także wykazano związek pomiędzy specyfiką konkretnego środowiska pracy, a czynnikami wirulencji drobnoustrojów. Potwierdzono występowanie wybranych czynników wirulencji u niektórych gatunków bakterii i drożdży wskaźnikowych zanieczyszczenia mikrobiologicznego w wybranych środowiskach pracy.

Praca nr VII

VII. Gutarowska B., Skóra J., Stępień Ł., Twarożek M., Błajet-Kosicka A., Otlewska A., Grajewski J. World Mycotoxin Journal 7:345-355 (2014).

Autorzy tej pracy chcieli ustalić czy materiały obecne w środowisku pracy mogą modyfikować toksynotwórczość i cytotoksyczność pleśni. Wykazano, iż pięć spośród dziewięciu badanych gatunków mikroorganizmów wskaźnikowych było cytotoksycznych wobec komórek nerek świńskich. Zaobserwowano, iż obecność w pożywce ekstraktu z kompostu, fragmentów skóry oraz celulozy modyfikuje właściwości toksynotwórcze i cytotoksyczne pleśni. Przeprowadzone badania wskazują na konieczność prowadzenia analizy wtórnych metabolitów pleśni z hodowli w warunkach jak najbardziej zbliżonych do panujących w środowisku,

z którego izolowano dany szczep. Potwierdzono także konieczność analizy szczepów wyizolowanych ze środowisk pracy pod względem cech cytotoksyczności i toksynotwórczości.

Praca nr VIII

VIII. Skóra J., Otlewska A., Gutarowska B., Leszczyńska J., Majak I., Stępień Ł. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12:2164-2183 (2015).

W przeprowadzonych badaniach stanu mikrobiologicznego miejsc pracy w muzeach, archiwach, bibliotekach, kompostowniach i garbarniach wykazano, iż pleśnie z rodzaju *Alternaria* były izolowane z wysoką częstością wynoszącą w powietrzu 14-64%, na powierzchniach 14-50%. Dlatego poddano ocenie występowanie genu *Alt al* kodującego białko Alt al oraz zdolności do wytwarzania alergenu Alt al przez pleśnie z rodzaju *Alternaria* wyizolowane z miejsc pracy w bibliotekach, muzeum, kompostowni i garbarni. Badania miały określić czy materiały: celuloza, kompost i skóra wet-blue, składowane/przetwarzane w środowisku pracy, z których izolowano grzyby *Alternaria* sp. mogą stymulować/hamować ilość wytwarzanego alergenu Alt al. Wykazano, iż gen *Alt al* kodujący główny alergen pleśni *Alternaria alternata* wykryto nie tylko dla tego gatunku ale również dla innych gatunków z rodzaju *Alternaria*. W pracy nie potwierdzono wpływu materiału technicznego pochodzącego z miejsca pracy, z którego izolowano szczepy na wytwarzanie Alt al. Ponieważ wyniki różniły się w tym zakresie od innych autorzy widzą tu pole do dalszych badań.

Praca nr IX

IX. Gutarowska B., Pietrzak K., Skóra J. *The International Journal of Current Microbiology and Applied Science* 3(3):945-959 (2014).

Autorki oceniały skuteczność trzech różnych metod dezynfekcji (jonizacji fotokatalitycznej, promieniowania UV, zamglawiania chemicznego) powietrza i powierzchni w środowisku pracy muzeów i bibliotek, zwracając szczególną uwagę na stopień eliminacji grzybów pleśniowych o znacznej szkodliwości dla zdrowia. Stwierdzono wystarczającą skuteczność odnośnie stosowania jonizacji oraz promieniowania UV w badanych środowiskach. Praca ma dużą wartość praktyczną.

Praca nr X

X. Gutarowska B., Skóra J., Nowak E., Łysiak I., Wdówka M. *Fibres and Textiles in Eastern Europe* 22;3(105):120-125 (2014).

W publikacji przedstawiono wyniki badania skuteczności eliminacji drobnoustrojów przez biofiltry- włókniny napawane biocydem stosowane w półmaskach przeznaczonych dla ochrony dróg oddechowych pracowników narażonych na szkodliwe dla zdrowia mikroorganizmy. Oceniono różne technologie przygotowania materiału filtrującego oraz badano jego skuteczność w różnych warunkach i po różnym czasie eksploatacji. Praca ma istotne znaczenie praktyczne.

Bardzo wysoko oceniam opisową część rozprawy. Jest to logicznie ułożony i napisany bardzo ładnym językiem wstęp przygotowany z wykorzystaniem aktualnego piśmiennictwa, który wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z narażeniem na mikroorganizmy w środowisku pracy oraz efektami zdrowotnymi tej ekspozycji. W kolejnej części tego opracowania Doktorantka przedstawiła zagadnienia badawcze rozpatrywane w przedstawionym cyklu prac, łącząc logicznie poszczególne zagadnienia w jedną spójną całość tematyczną i uzasadniając, że przeprowadzony cykl badań z jej udziałem w pełni realizuje założone cele, które opisałam w pierwszej części recenzji. Podsumowując praca opisowa została bardzo dobrze zredagowana i świadczy o dużej biegłości autorki w poruszanych przez nią zagadnieniach.

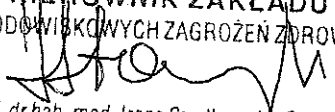
Cykl prac w których przedstawiono podstawy opracowanych kryteriów dla wskaźników zanieczyszczenia mikrobiologicznego środowiska pracy oraz zastosowano te kryteria i wyodrębniono wskaźniki w określonych środowiskach uważam za bardzo ważne, prezentujące ciekawe podejście do problemu oceny narażenia pracowników na czynniki biologiczne. Szczególnie wyróżniłabym tu pracę nr V – *Journal of the Air & Waste Management Association* gdzie przedstawiono zanieczyszczenie mikroorganizmami środowiska różnych typów kompostowni z zastosowaniem omawianych wskaźników. Wyznaczenie wskaźników zanieczyszczenia mikrobiologicznego pozwala ograniczyć zakres badań mikrobiologicznych w miejscu pracy, a obecność gatunków wskaźnikowych może pośrednio świadczyć o zagrożeniu dla zdrowia pracowników.

Wśród uzyskanych wyników badawczych wyróżniam szczególnie prace dotyczące zdolności alergennych mikroorganizmów występujących na stanowiskach pracy w zależności od stosowanych materiałów technicznych (praca VIII- International Journal of Environmental Research and Public Health 12, 2015) oraz badania nad toksynotwórczością grzybów pleśniowych w różnych warunkach środowiska pracy przedstawione w pracy nr VII- World of Mycotoxin Journal 7, 2014 .

Poziom warsztatowy i badawczy wyżej wymienionych prac uważam za wysoki. Ponadto o ich wysokiej wartości świadczy fakt, że zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych posiadających łączny wskaźnik wpływu IF przekraczający 8. Na tej podstawie wnoszę o wyróżnienie całej rozprawy doktorskiej. Załączam także oddzielne uzasadnienie tego wniosku.

Jednocześnie stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia a nawet znacznie przekracza wszystkie wymagania ustawowe i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Justynę Skórę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Irena Szadkowska-Stańczyk

KIEROWNIK ZAKŁADU
ŚRODOWISKOWYCH ZAGROZEŃ ZDROWIA

prof. dr hab. med. Irena Szadkowska-Stańczyk