

AUTOREFERAT

dr inż. Jacek Grzyb

Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu

Spis treści

1. Dane osobowe -----	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe -----	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych -----	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce [Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.] -----	4
4.1. Omówienie powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe -----	4
4.1.1. Tytuł osiągnięcia naukowego -----	4
4.1.2. Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe -----	4
4.1.3. Omówienie osiągnięcia naukowego -----	5
4.2. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych -----	35
4.2.1. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora (1995 - 2003) -----	35
4.2.2. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (2003 - 2022) -----	38
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej -----	46
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę -----	46
6.1. Osiągnięcia dydaktyczne -----	46
6.2. Osiągnięcia organizacyjne -----	46
6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę -----	47
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej -----	47

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: **Jacek Grzyb**

ORCID ID: 0000-0002-5715-9202

Researcher ID: AAB-3274-2021

Scopus ID: 36747489500

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

Uzyskany tytuł: magister inżynier

Rok uzyskania: 1995

Katedra Fizjologii Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie

Uzyskany stopień: doktor nauk rolniczych w zakresie agronomii

Podmiot nadający tytuł: Rada Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego Akademii Rolniczej im. H. Kołłątaja w Krakowie

Rok uzyskania: 2003

Tytuł pracy doktorskiej: „Oddziaływanie czynników hydrochemicznych i mikrobiologicznych na aktywność fosfataz alkalicznej i kwaśnej glonów i bakterii w rzece Rabie” (**zał. A1**)

Promotor: dr hab. Henryk Kasza

Recenzenci: prof. dr hab. Wiesław Barabasz, prof. dr hab. Lesław Badura

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.08.1995 – 30.09.1995: Instytut Zootechniki, Państwowy Instytut Badawczy w Krakowie, Zakład Hodowli Trzody Chlewnej; **zootechnik**

01.10.1995 – 31.12.2007: Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie, Katedra Mikrobiologii; **asystent**

01.01.2008 – obecnie: Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie, Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu; **adiunkt**

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce [Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.]

4.1. Omówienie powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe

4.1.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Ocena mikrobiologiczna bioaerozoli pomieszczeń dla zwierząt w wybranych ogrodach zoologicznych”

4.1.2. Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe

H1. Grzyb Jacek, Lenart-Boroń Anna, 2019, Bacterial bioaerosol concentration and size distribution in the selected animal premises in a zoological garden, *Aerobiologia*. 35: 253-268. DOI: 10.1007/s10453-018-09557-9

[IF = 2,708, Liczba punktów wg MNiSW/MEiN=70]

H2. Grzyb Jacek, Lenart-Boroń Anna, 2020, Size distribution and concentration of fungal aerosol in animal premises of a zoological garden, *Aerobiologia*, 36: 233-248. DOI: 10.1007/s10453-020-09625-z

[IF = 2,410, Liczba punktów wg MNiSW/MEiN=70]

H3. Grzyb Jacek, Pawlak Krzysztof, 2021, Impact of bacterial aerosol, particulate matter, and microclimatic parameters on animal welfare in Chorzów (Poland) zoological garden. *Environmental Science and Pollution Research* (2021) 28:3318–3330. DOI: 10.1007/s11356-020-10680-9

[IF = 4,223, Liczba punktów wg MNiSW/MEiN=100]

H4. Grzyb Jacek, Pawlak Krzysztof, 2021, Staphylococci and fecal bacteria as bioaerosol components in animal housing facilities in the Zoological Garden in Chorzów. *Environmental Science and Pollution Research* 28, 56615–56627. DOI: 10.1007/s11356-021-14594-y

[IF = 4,223, Liczba punktów wg MNiSW/MEiN=100]

Osiągnięcie naukowe sumarycznie: IF=13,564; Liczba punktów: 340

Oświadczenia współautorów publikacji wraz z moim udziałem znajdują się w **załączniku nr 5**.

Kopie prac stanowiących osiągnięcie naukowe zawiera **załącznik nr 6**.

4.1.3. Omówienie osiągnięcia naukowego

4.1.3.1. Wprowadzenie

Mikroorganizmy jako składniki bioaerozolu mogą być obecne w powietrzu jako żywotne, to znaczy posiadające zdolność do reprodukcji lub wykazujące aktywność metaboliczną, albo cząstki nieżywotne (martwe lub żywe, ale pozbawione zdolności do namnażania się). Skutkuje to tym, że zdolności infekcyjne wobec organizmów żywych wykazują tylko formy żywotne, natomiast formy nieżywotne (jako całe komórki lub ich fragmenty) mogą mieć jedynie właściwości alergogenne lub toksyczne. Składnikami bioaerozolu negatywnie oddziałującymi na organizmy żywe są mikroorganizmy (bakterie, grzyby, wirusy, promieniowce), alergeny, toksyny i związki działające podobnie do nich (endotoksyny produkowane przez bakterie gram-ujemne, egzotoksyny, β -glukany, lotne związki organiczne), kancerogeny (głównie mykotoksyny) oraz biologicznie aktywne fragmenty mikroorganizmów w rozmiarach submikronowych i nanometrycznych (Górny 2010; Després et al. 2012; Roy i Reed 2012). Drobnoustroje i inne aktywne składniki bioaerozoli mogą wnikać do wnętrza organizmów ludzkich i zwierzęcych trzema drogami: przez naskórek (głównie rąk u ludzi oraz odnóży u zwierząt), nabłonek (ust, nosa oraz przez spojówki) oraz pęcherzyki płucne (Górny 2010).

W większości przypadków drobnoustroje w formie komórek bakterii oraz ich przetrwalników, zarodników grzybów i promieniowców, fragmentów grzybnii i tym podobnych elementów biologicznych nie występują w środowisku powietrznym samoistnie. Unoszą się w nim na niebiologicznych cząstkach pyłowych lub włóknach, tworząc agregaty; mogą też przyłączać się do innych cząstek biologicznych. Rozmiary uformowanych struktur wpływają na ich właściwości aerodynamiczne, co determinuje czas ich unoszenia się w powietrzu. Składniki mikrobiologiczne aerozolu w mniejszej części są gładkie i kuliste, w większości przypadków są asymetryczne z nierównymi lub porowatymi powierzchniami. Powoduje to, że fizyczne wymiary cząstek bioaerozolu różnią się od ich średnic aerodynamicznych, co również wpływa na ich stabilność w powietrzu, a jednocześnie determinuje poziom dróg oddechowych, do których te cząstki mogą wnikać (Górny et al. 2017).

Bioaerozole mają istotne znaczenie epidemiologiczne, choć w normalnych warunkach środowiska zdecydowana większość jego składników organicznych jest nieszkodliwa. Jednak niektóre składniki bioaerozolu mogą stanowić czynniki zakaźne lub alergizujące, mogą

przenosić toksyczne lub drażniące substancje lub metabolity. Zarówno u ludzi, jak i u zwierząt mogą występować stany obniżonej odporności organizmu. W takich przypadkach normalnie nieszkodliwy bioaerozol cechuje się warunkową zjadliwością, może być źródłem szczepów patogennych wywołujących zoonozy i epizoocje (Chang et al. 2001).

Z analizy dostępnej literatury wynika, że narażenie na pyłowe i mikrobiologiczne zanieczyszczenia środowiska wewnątrz jest związane z szeregiem ostrych lub przewlekłych niekorzystnych skutków zdrowotnych i chorób (Kaliste et al. 2002; Douwes et al. 2003; Lorenz 2004; Samadi et al. 2013). Dotyczy to szczególnie pomieszczeń bez odpowiedniej wentylacji lub w przypadku braku w nich mechanizmów eliminacji cząstek bioaerozolu (Cox i Wathes 1995). Można się spodziewać, że w środowisku ogrodów zoologicznych występują podobne problemy zdrowotne. Mogą one dotyczyć zarówno zwierząt, jak i pracujących z nimi opiekunów, którzy karmią zwierzęta i wykonują ich codzienną obsługę. Pracownicy obsługujący zwierzęta mogą być narażeni zarówno na oddziaływanie bioaerozoli, jak również na choroby odzwierzęce. Drugą grupą osób narażonych na kontakt z tymi zanieczyszczeniami są osoby odwiedzające ogrody zoologiczne. Przy czym bardziej narażone od dorosłych są małe dzieci, których drogi oddechowe są bardziej podatne na zakażenie. Wynika to z kilku czynników: innych proporcji poszczególnych elementów dróg oddechowych, większej aktywności ruchowej, wdychania większej ilości powietrza w stosunku do rozmiaru ciała, mniejszej dojrzałości ich układu odpornościowego (Yoon et al. 2011; D’Arcy et al. 2012).

Bioaerozol wnika do górnych i dolnych dróg oddechowych zarówno ludzi, jak i zwierząt. Jeśli zawiera patogenne drobnoustroje może wywoływać w ich obrębie schorzenia. Górne drogi oddechowe są miejscem występowania chorób uczuleniowych (alergicznego nieżytu nosa lub zapalenia zatok) (Lopardo et al. 2012; May et al. 2012). Dolne drogi oddechowe (zwłaszcza oskrzela i pęcherzyki płucne) są celem dla wielu żywotnych form bakterii (pod postacią komórek i przetrwalników) wywołujących choroby takie jak np. zapalenie oskrzeli lub zapalenie płuc (paciorkowce, *Legionella* sp., *Haemophilus influenzae*). Te rejony mogą być zakażane również przez wirusy ptasiej grypy H5N1 lub wirusy paragrypy (Hall 2001; Douglas et al. 2018). W tych rejonach układu oddechowego swoje szkodliwe działanie wykazują również nieżywotne fragmenty komórek drobnoustrojów wywołujące efekty alergiczne i toksyczne takie jak astma, przewlekła obturacyjna choroby płuc (POChP) oraz alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych. Te problemy zdrowotne dotyczą nie tylko ludzi, ale również zwierząt (Reynolds et al. 2013; Sferrazza et al. 2014).

Ogrody zoologiczne spełniają niezwykle pożyteczną rolę. Z jednej strony stanowią miejsce odpoczynku oraz umożliwiają oglądanie z bliska wielu gatunków zwierząt, które w ich normalnych siedliskach są trudne lub wręcz niemożliwe do obejrzenia, a z drugiej strony jest w nich prowadzona praca hodowlana. Jest to istotny aspekt szczególnie w przypadku zwierząt zagrożonych wyginięciem, by próbować rozmnożyć te zwierzęta i reintrodukować je do pierwotnych środowisk ich występowania. Największe szanse na ratowanie takich gatunków zwierząt mają ogrody zoologiczne, co jednocześnie sprzyja zachowaniu bioróżnorodności i ochronie zasobów genowych (Tombarkiewicz et al. 2008).

Na przestrzeni ostatnich 100 lat znacznie wydłużyło się życie zwierząt w ogrodach zoologicznych dzięki rozwojowi specjalistycznej medycyny weterynaryjnej, lepiej dobranym paszom wraz z dodatkami mineralno-witaminowymi. Obecnie dzięki pogłębionej znajomości etiologii można zapewnić zwierzętom lepiej dopasowane do ich wymagań pomieszczenia, jak i wybiegi. Dzięki odpowiednim parametrom pomieszczeń: właściwej powierzchni i kubaturze, dobrze dobranej ilości światła, a także temperaturze i wilgotności zapewniamy zwierzętom tzw. dobrostan. Prócz wyżej wymienionych elementów to pojęcie obejmuje również dostęp do czystej wody pitnej oraz właściwej jakości paszy (Pawlak et al. 2008; Kruszewicz 2011).

Spełnienie warunków dobrostanu wpływa na kondycję, stan zdrowia i odporność zwierząt. Do dobrego stanu zdrowia zwierząt przyczyniają się również odpowiednie warunki higieniczne panujące w pomieszczeniach, a utrzymanie w nich czystości nie jest sprawą prostą. Często w takich pomieszczeniach znajduje się ściółka, która sama w sobie jest źródłem drobnoustrojów. W ściółce zalega kał i mocz oraz resztki karmy zwiększające ładunek mikroorganizmów. Istotnym źródłem drobnoustrojów jest też sierść lub pióra zwierząt. Aby zwierzęta mogły czuć się w swoich pomieszczeniach komfortowo należy zapewnić im właściwą temperaturę i wilgotność. Optymalne dla zwierząt parametry mikroklimatyczne sprzyjają wzrostowi i namnażaniu się drobnoustrojów. U zwierząt zachodzi szereg procesów fizjologicznych, dzięki którym drobnoustroje odzwierzęce stają się składnikami bioaerozoli; można do nich zaliczyć oddychanie, kichanie, kaszel, prychnięcie, plucie, defekację, czy oddawanie moczu. Drobnoustroje lub ich fragmenty wchodzące w skład bioaerozolu mogą też pochodzić z sierści, skóry, piór oraz błon śluzowych. Pomieszczenia dla zwierząt wymagają sprzątania, mycia klatek, przegród oraz usuwania ściółki i odchodów, co powoduje znaczne zwiększenie ładunku zanieczyszczeń mikrobiologicznych i pyłowych w powietrzu pomieszczeń (Jones i Harrison 2004). Na koncentrację bioaerozolu wpływa jakość ściółki, częstość jej

wymiany wraz z odchodami zwierząt, sposób sprzątania (na sucho lub na mokro). Uważa się, że rodzaj i stopień skażenia mikrobiologicznego powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt jest wskaźnikiem ich stanu sanitarno-higienicznego (Matković et al. 2009; Budzińska et al. 2014).

Osoby obsługujące zwierzęta w ogrodach zoologicznych narażone są na szereg chorób odzwierzęcych. Choroby te wymienione wg częstotliwości występowania w Polsce to: salmonelloza, kampylobakterioza, jersinioza, listerioza, tularemia, VTEC, gorączka Q, bruceloza oraz gruźlica. W skali Europy najczęściej występuje kampylobakterioza, która jest stwierdzana 2,5 razy częściej niż salmonelloza. W Polsce jest na odwrót - 12 razy częściej występuje salmonelloza. Większość wyżej wymienionych chorób przenoszonych jest na drodze pokarmowej, jedynie gruźlica wywoływana przez *Mycobacterium bovis* lub *M. caprae* jest przenoszona drogą powietrzną. Oprócz bakteryjnych chorób odzwierzęcych istnieją choroby wywoływane przez grzyby: aspergiloza, blastomykoza, kryptokokoza i kryptosporidioza oraz promieniowce (nokardioza) (Gliński i Kostro 2013; Gliński i Kostro 2014; Osek i Wieczorek 2021).

4.1.3.2. Cel i zakres badań

W literaturze naukowej można znaleźć wiele doniesień na temat bioaerozolu w wielkotowarowych budynkach inwentarskich, takich jak chlewnie, obory czy kurniki. Obsada zwierząt w takich budynkach to setki lub nawet tysiące osobników (Matković et al. 2007; Matković et al. 2009; Millner 2009; Sowiak et al. 2012; Viegas et al. 2013; Budzińska et al. 2014; Zhao et al. 2014; Douglas et al. 2018). Znacznie mniej liczne są doniesienia o obiektach, w których obsada zwierząt jest mniejsza, np. stajnie z końmi hodowlanymi lub sportowymi (Witkowska et al. 2012; Wolny-Koładka 2018; Grzyb et al. 2022). Natomiast najrzadziej można spotkać publikacje dotyczące jakości powietrza i składu bioaerozolu w pomieszczeniach obiektów rekreacyjnych, np. w ogrodach zoologicznych. W literaturze światowej brakuje doniesień dotyczących badań mikrobiologicznych skupiających się na bioaerozolu z jednoczesnym określeniem stężenia pyłu zawieszonego w powietrzu oraz mikroklimatu w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych.

Doceniając istotność tych zagadnień w kontekście potencjalnego narażenia zdrowia zarówno pracowników ogrodów zoologicznych, osób odwiedzających te ogrody oraz zwierząt zamieszkujących pomieszczenia w ogrodach zoologicznych wykonano cykl badań, które zostaną przedstawione w niniejszym osiągnięciu naukowym. Osiągnięcie to pokazuje nowe i

unikalne wyniki badań, które w znacznym stopniu poszerzają wiedzę w zakresie mikrobiologii środowiskowej oraz stanowią cenny wkład w rozwój aerobiologii.

Głównym celem naukowym badań była ilościowa i jakościowa charakterystyka mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych. W oparciu o główny cel naukowy wyróżniono cele szczegółowe, których wyjaśnienie było przedmiotem badań przeprowadzonych w ramach opisywanego osiągnięcia naukowego.

Podjęte badania miały na celu:

- a. określenie rozkładów ziarnowych mikroorganizmów wchodzących w skład mikrobioty powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych w celu wyznaczenia hipotetycznej głębokości penetracji układu oddechowego przez poszczególne frakcje cząstek bioaerozolu i prognozy ewentualnych niekorzystnych skutków zdrowotnych wynikających z inhalacyjnego narażenia na oddziaływanie badanych bioaerozoli,
- b. określenie zmienności sezonowej aerozoli bakteryjnego i grzybowego w powietrzu badanych pomieszczeń dla zwierząt w wybranych ogrodach zoologicznych,
- c. określenie wpływu parametrów mikroklimatycznych na stężenie aerozoli bakteryjnego i grzybowego w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt w wybranych ogrodach zoologicznych,
- d. określenie wpływu zapylenia na stężenie aerozoli bakteryjnego i grzybowego w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych,
- e. określenie udziału w mikrobiocie powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych poszczególnych grup drobnoustrojów (bakterii, grzybów, bakterii wskaźnikowych),
- f. określenie poziomu intoksykacji pomieszczeń dla zwierząt przez badane grupy drobnoustrojów,
- g. określenie, czy wielkość zwierząt wpływa na poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego pomieszczeń, w których przebywają zwierzęta w ogrodach zoologicznych,
- h. określenie, czy wiek budynków, które zamieszkują zwierzęta w ogrodach zoologicznych wpływa na skażenie mikrobiologiczne tych pomieszczeń,
- i. oznaczenie antybiotykooporności gronkowców wyizolowanych z powietrza

pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych.

Badania stanowiące osiągnięcie naukowe prowadzono na terenie dwóch ogrodów zoologicznych. Wytypowano te ogrody zoologiczne, ze względu na podobną powierzchnię, częściowo zbieżne gatunki hodowanych w nich zwierząt oraz porównywalny rozmiar pomieszczeń. W badanych ogrodach zoologicznych wybrano pomieszczenia, w których zwierzęta spędzały większą część doby niezależnie od pory roku. Pomiary stężeń bioaerozolu wykonano przy użyciu identycznej metodyki i jednolitego sprzętu, co pozwoliło porównać ze sobą uzyskane wyniki.

We wszystkich pracach stanowiących osiągnięcie naukowe wykonano pomiary stężenia bioaerozolu przy użyciu 6-stopniowego impaktora Andersena-Graseby (model WES-710, Westech Instrument, Wielka Brytania). W pracy **H1** badano aerozol bakteryjny w Ogrodzie Zoologicznym w Krakowie (**OZK**), który obejmował ogólną liczbę bakterii (**TB**) oraz bakterie wskaźnikowe: Gram-ujemne bakterie kałowe (**FB**), gronkowce mannitolu-dodatnie (**ST-POS**) oraz mannitolu-ujemne (**ST-NEG**). W pracy **H2** analizowano aerozol grzybowy w tym samym ogrodzie zoologicznym. Z kolei w pracach **H3** i **H4** badano aerozol bakteryjny w Śląskim Ogrodzie Zoologicznym w Chorzowie (**OZCh**). W pracy **H3** analizowano ogólną liczbę bakterii (**TB**), natomiast w **H4** – bakterie wskaźnikowe (**FB**, **ST-POS**, **ST-NEG**).

Badania dotyczące wyżej wymienionych bakterii wskaźnikowych są bardzo istotne w kontekście ich właściwości. Są one potencjalnie chorobotwórcze, a ich transmisja w środowisku wewnętrznym odbywa się nie tylko na drodze inhalacji bioaerozolu, ale również często poprzez brudne dłonie lub na drodze pokarmowej mogą stanowić zagrożenie dla personelu zajmującego się zwierzętami oraz w mniejszym stopniu dla osób odwiedzających ogrody zoologiczne.

W impaktorze Andersena przez kolejne stopnie w głowicy przepływa powietrze zawierające bioaerozol, które podlega podziałowi w oparciu o średnice aerodynamiczne cząstek bioaerozolu. Przez kolejne stopnie w głowicy przechodzi bioaerozol, podzielony na frakcje (F1 – F6), którego cząstki mają następującą średnicę aerodynamiczną: **F1: 7 - 11 μm** ; **F2: 4,7 - 7 μm** ; **F3: 3,3 - 4,7 μm** ; **F4: 2,1 - 3,3 μm** ; **F5: 1,1 - 2,1 μm** oraz **F6: 0,65 - 1,1 μm** . Sumę frakcji **F1 - F6** traktuje się jako całkowite stężenie bioaerozolu (**TC**), frakcje **F3 - F6** (poniżej 4,7 μm) klasyfikuje się jako frakcję respirabilną bioaerozolu (**RF**). Podział strumienia powietrza umożliwia określenie miejsca depozycji poszczególnych frakcji w konkretnym miejscu układu oddechowego człowieka. Stanowi to o znaczącej przewadze wyników uzyskanych dzięki użyciu

impaktora Andersena w stosunku do impaktorów jednostopniowych. Zdecydowana większość badań bioaerozolu jest wykonywana za pomocą impaktorów jednostopniowych, mierzących jedynie fragment spektrum cząstek bioaerozolu.

Badania poziomu zapylenia w **OZK (H1, H2)** prowadzono przy użyciu pyłomierza DustTrak™ II model 8530 (TSI Inc., USA). Pyłomierz ten mierzy stężenia 4 frakcji pyłu zawieszonego: PM₁₀ (czyli cząsteczki pyłowe o średnicy aerodynamicznej poniżej 10 µm), PM₄, PM_{2,5} oraz PM₁ (cząstki o średnicy poniżej odpowiednio: 4 µm, 2,5 µm oraz 1 µm). Dzięki temu można porównywać ze sobą stężenia poszczególnych frakcji bioaerozolu ze stężeniami frakcji pyłu zawieszonego ze względu na zbliżone punkty odcięcia średnic aerodynamicznych cząsteczek pyłu. W przypadku pracy **H3** realizowanej w **OZCh** używano do pomiaru zapylenia stacji pomiarowej UMS mierzącej stężenie frakcji pyłu PM₁₀.

Równie istotne w pracach stanowiących osiągnięcie naukowe były pomiary czynników mikroklimatycznych, gdyż aktywność i szybkość namnażania się drobnoustrojów jest zależna od temperatury oraz wilgotności w pomieszczeniach dla zwierząt. Parametry mikroklimatyczne (temperatura oraz wilgotność względna) były mierzone w pracach **H1** i **H2** za pomocą miernika Kestrel 4000 (Nielsen-Kellerman, USA), natomiast w pracy **H3** za pomocą termoanemometru TA440 (Airflow™ Instruments, USA).

Z doniesień literaturowych wynika, że ze względu na szereg problemów (m.in. brak wystarczającej ilości badań epidemiologicznych, trudności w identyfikacji czynnika odpowiedzialnego za obserwowany efekt zdrowotny, różnej wrażliwości organizmu ludzkiego na działanie identycznego czynnika) nie opracowano dotychczas żadnych norm dla bioaerozolu w pomieszczeniach dla zwierząt - zarówno na poziomie lokalnym, jak i światowym. Uzyskane wyniki badań własnych odniesiono do propozycji wypracowanych przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych (**ZEChB**), traktując pomieszczenia dla zwierząt jako pomieszczenia robocze skażone pyłem organicznym (tabela 1). Wytyczne te są przydatne przy ocenie narażenia na działanie bioaerozoli w środowiskach wewnątrz. W przypadku ich przekroczenia wskazują na konieczność podjęcia odpowiednich działań profilaktycznych oraz prewencyjnych w tych środowiskach (Augustyńska i Pośniak 2016).

Interpretując wyniki dotyczące poziomu pyłu zawieszonego odniesiono się do Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 24 sierpnia 2012 r. w *sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu* (Dz.U.2012.1031). Zawarta w tym rozporządzeniu wartość progowa ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3 = 0,05 \text{ mg}/\text{m}^3$) odnosi się jedynie do frakcji pyłu PM₁₀ i dotyczy powietrza

atmosferycznego; nie ustalono wartości progowej dla zapylenia powietrza w pomieszczeniach. Oceniając istotność wyników odniesiono się także do wartości normatywnych zawartych w Rozporządzeniu Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Socjalnej *w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy* (Dz.U.2017.1348), które określa maksymalne stężenie wdychanego pyłu na 2 mg/m^3 .

Tabela 1. Propozycje zalecanych stężeń drobnoustrojów opracowane przez Zespół Ekspertów ds. Czynniki Biologiczne w oparciu o które prowadzono ocenę zanieczyszczenia powietrza [jtk/m^3]

Czynnik mikrobiologiczny	Całkowite stężenie (TC)	Frakcja respirabilna (RF)
Bakterie mezofilne	100.000	50.000
Bakterie Gram-ujemne	20.000	10.000
Grzyby	50.000	25.000
Gronkowce	---	---

Źródło: Augustyńska i Pośniak (2016)

W pracach **H1** i **H2** pomiary stężeń bioaerozoli, pyłu oraz badania mikroklimatyczne były wykonywane w pomieszczeniach dla zwierząt w godzinach porannych (7.00 - 9.00), przed otwarciem bram OZK dla osób odwiedzających. W tym czasie pracownicy ogrodu zoologicznego sprząтали pomieszczenia oraz przygotowywali karmę dla zwierząt. Analizy wykonywano w okresie od jesieni do wiosny (październik – maj), czyli w okresie chłodnym, kiedy zwierzęta przebywały praktycznie cały czas w swoich pomieszczeniach. W badaniach nie uwzględniono sezonu letniego, ponieważ w tym okresie zwierzęta spędzały większość czasu poza swoimi pomieszczeniami na wybiegach. W pracy **H1** w oparciu o badania przeprowadzone w OZK dokonano oceny jakości bakteriologicznej powietrza mierząc stężenia: ogólnej liczby bakterii mezofilnych (**TB**), gronkowców mannitolu-dodatnich (**ST-POS**), mannitolu-ujemnych (**ST-NEG**) oraz Gram-ujemnych bakterii kałowych (**FB**). Pomiary prowadzono w czterech odrębnych pomieszczeniach w OZK, w których utrzymywane są zwierzęta: żyrafy Rothschilda (*Giraffa camelopardalis rothschildi*), małpy (mandryle *Mandrillus sphinx*, mangaby *Lophocebus aterrimus*, gerezy abisyńskie *Colobus guereza* oraz gibony *Hylobates lar*), bażanty srebrzyste (*Lophura nycthemera*) i strusie afrykańskie (*Struthio camelus*). Dobór zwierząt do badań opierał się na dwóch kryteriach. Pierwszym kryterium wyboru była wielkość zwierząt: małe (małpy i bażanty) oraz duże (żyrafy i strusie). Drugim kryterium selekcji był wiek budynków. Żyrafy i strusie zamieszkiwały w co najwyżej kilkuletnich obiektach, a bażanty i małpy w starszych (przynajmniej 10-letnich). W pracy **H2** badania

wykonywano w OZK w pomieszczeniach dla 8 grup zwierząt, w tym pięciu gatunków ssaków: żyraf Rothschilda (*Giraffa camelopardalis rothschildi*), małp (mandryli *Mandrillus sphinx*, mangab *Lophocebus aterrimus*, gerez abisyńskich *Colobus guereza* oraz gibbonów *Hylobates lar*), tapirów anta (*Tapirus terrestris*), hipopotamów karłowatych (*Hexaprotodon liberiensis*), surykatek (*Suricata suricatta*) oraz dwóch gatunków ptaków: bażantów (*Lophura nycthemera*) i strusi (*Struthio camelus*), a także w egzotarium zamieszkanym przez różne gatunki płazów, gadów i ryb. Tutaj również przyjęto jako pierwsze kryterium podziału wielkość zwierząt: duże (żyrafy, strusie, tapiry, hipopotamy karłowate) oraz małe (małpy, bażanty oraz surykatki). Podobnie jak w pracy **H1** drugim kryterium był wiek pomieszczeń. Stosunkowo nowe obiekty zamieszkiwały żyrafy, strusie oraz tapiry, a w starszych: bażanty, małpy, surykatki, hipopotamy karłowate oraz cała obsada egzotarium.

W pracach **H3** i **H4** badania wykonywane były w Śląskim Ogrodzie Zoologicznym w Chorzowie (OZCh) w godzinach przedpołudniowych (10.00 - 13.00). W czasie wykonywania pomiarów pomieszczenia dla zwierząt były już wysprzątane i zwierzęta miały podaną karmę. Badania prowadzono w okresie całego roku. W porze zimnej (od jesieni do wiosny) zwierzęta spędzały w swych pomieszczeniach większość lub nawet całość doby. W sezonie letnim zwierzęta tylko okresowo przebywały w swoich pomieszczeniach. Pomiary przeprowadzono w pięciu obiektach, w których przebywały następujące zwierzęta: żyrafy siatkowane (*Giraffa camelopardalis reticulata*), słonie indyjskie (*Elephas maximus*), wielbłądy dwugarbne (*Camelus bactrianus*), małpy - gerezy (*Colobus guereza*) i kangury rude (*Macropus rufus*). Podobnie, jak w pracach **H1** i **H2** dobór gatunków zwierząt do badań oparto na wielkości zwierząt. Do zwierząt dużych zaliczono żyrafy, słonie oraz wielbłądy, a do małych: małpy i kangury. Drugim kryterium doboru był wiek pomieszczeń, które zamieszkiwały wybrane zwierzęta. Żyrafy i małpy przebywały w nowych budynkach, a słonie, wielbłądy i kangury w starszych.

4.1.3.3. Opis uzyskanych wyników

4.1.3.3.A. Stężenia bioaerozoli

Zakres stężeń bioaerozolu uzyskany w pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (**H1** - **H4**) był bardzo szeroki i zawierał się w przedziale od 0 do 105.576 jtk/m³ powietrza, przy czym ta ostatnia wartość odnosiła się do stężenia TB w powietrzu pomieszczeń dla słoni w OZCh (**H3**). Najwyższe stężenie grzybów odnotowano w egzotarium w OZK (**H2**) –

wynosiło ono 28.433 jtk/m³ i stanowiło 26% maksymalnego stężenia bakterii.

Stężenia aerozolu bakteryjnego uzyskane w 2 ogrodach zoologicznych dla tych samych grup zwierząt – małp i żyraf (prace **H1** i **H3**) różniły się między sobą w sposób znaczący. Minimalne stężenia bakterii (TB) w powietrzu pomieszczeń dla żyraf były 2-krotnie wyższe w OZCh w stosunku do OZK (dla TC i RF), podczas gdy stężenia maksymalne były wyższe od 25 (TC) do 31 razy (RF). Z kolei w powietrzu pomieszczeń dla małp zakres stężeń bakterii w OZK mieścił się w przedziale 6.040 - 6.880 jtk/m³ (TC), a w OZCh 847 - 5.182 jtk/m³, czyli w OZK zakres stężeń był znacznie mniejszy, ale odnotowane stężenia były wyższe. W pracy **H1** najniższe stężenia bakterii stwierdzono dla TB w przypadku powietrza w pomieszczeniu dla bażantów, w pracy **H3** – w powietrzu pomieszczeń dla małp. Najwyższe stężenia TB w pracy **H1** (OZK) stwierdzono w powietrzu pomieszczeń dla małp, a w pracy **H3** (OZCh) - w przypadku powietrza w pomieszczeniach dla słońi.

Prace **H1** i **H4** umożliwiły porównanie stężeń bakterii wskaźnikowych (FB oraz ST-POS oraz ST-NEG) w powietrzu pomieszczeń w obu badanych ogrodach zoologicznych. W przypadku Gram-ujemnych bakterii kałowych (FB) odnotowane stężenia były najniższe spośród wszystkich badanych grup bakterii. Porównując stężenia FB w powietrzu pomieszczeń dla żyraf i małp stwierdzono, że ich stężenia były porównywalne oraz niskie; mieściły się w przedziale od 0 do 212 jtk/m³. Najczystsze, jeśli o obecność FB w powietrzu były pomieszczenia dla strusi w OZK oraz dla wielbłądów w OZCh, w których nie stwierdzono występowania FB. Najwyższe stężenie FB stanowiące około 4 % maksymalnego stwierdzonego stężenia TB odnotowano w powietrzu pomieszczeń dla słońi w OZCh. Całkowite stężenia (TC) gronkowców mannitolu-dodatnich (ST-POS) oraz mannitolu-ujemnych (ST-NEG) w powietrzu pomieszczeń dla żyraf w OZCh były wyższe odpowiednio 35-krotnie oraz 3-krotnie w stosunku do OZK. W przypadku aerozolu w pomieszczeniach dla małp również odnotowano wyższe maksymalne stężenia w OZCh; dla ST-POS wyższe o 1/3, dla ST-NEG – 4-krotnie wyższe. Najniższe stężenia aerozolu zawierającego ST-POS odnotowano w powietrzu żyrafiarni w OZK, a najwyższe w powietrzu pomieszczenia dla strusi również w OZK. Jeśli chodzi o ST-NEG najniższe stężenie odnotowano w powietrzu pomieszczenia dla małp w OZK, najwyższe – w powietrzu pomieszczenia dla wielbłądów.

Ze względu na to, że obiekty dla żyraf w obu ogrodach zoologicznych są w tym samym wieku, różnica w stężeniu aerozolu bakteryjnego może wynikać z różnej powierzchni pomieszczenia przypadającej na jedno zwierzę (OZK: 244m²; OZCh: 66,8m²). Z kolei w

przypadku aerozolu w pomieszczeniach dla małąp różnica w stężeniu aerozolu bakteryjnego może wynikać z obecności ściółki (OZK – trociny bukowe) lub jej braku (OZCh). Typ ściółki w pomieszczeniach dla zwierząt jest istotnym czynnikiem wpływającym na poziom aerozolu bakteryjnego, jak i grzybowego (Samadi et al., 2012).

Uwzględniając wyniki z prac **H1**, **H3** i **H4** sporządzono ranking czystości bakteriologicznej powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt w obydwóch ogrodach zoologicznych w oparciu o TC oraz RF. Pomieszczenia uszeregowano od takiego z najbardziej zanieczyszczonym powietrzem pod względem bakteriologicznym do najczystsze: (1) OZK-strusie, (2) OZCh-kangury, (3) OZCh-wielbłądy, (4) OZCh-żyrafy, (5) OZCh-słonie, (6) OZK-mały, (7) OZK-bażanty, (8) OZK-żyrafy, (9) OZCh-mały. Z powyższego zestawienia wynika, że czystsze są pomieszczenia w OZK. W przypadku RF ranking jest bardzo zbliżony – zmianie uległy tylko pozycja (2) z pozycją (3).

Prowadzenie badań przez okres całego roku kalendarzowego (**H3**) umożliwiło porównanie stężeń aerozolu bakteryjnego w pomieszczeniach dla zwierząt w różnych porach roku. Dla 3 grup badanych zwierząt (żyraf, słoni i wielbłądów) najwyższe stężenie TB stwierdzono w powietrzu ich pomieszczeń podczas wiosny, zawierało się ono w przedziale od 17.675 jtk/m³ do 105.200 jtk/m³. W przypadku pomieszczeń dla małąp oraz kangurów najwyższe stężenia odnotowano podczas badań wykonanych w sezonie zimowym (odpowiednio 5.182 jtk/m³ oraz 20.150 jtk/m³). Najniższe stężenie aerozolu bakteryjnego odnotowano w powietrzu pomieszczeń dla małąp podczas badań wykonywanych na wiosnę (848 jtk/m³).

Zakres stężeń aerozolu grzybowego (**H2**) w powietrzu badanych pomieszczeń w OZK mieścił się dla TC w przedziale od 840 jtk/m³ (obiekt dla hipopotamów) do 28.433 jtk/m³ (egzotarium), natomiast dla RF: od 636 jtk/m³ (pomieszczenie dla tapirów) do 27.029 jtk/m³ (egzotarium). Na stężenie aerozolu grzybowego wpływał wiek budynków, rodzaj zamontowanej w nim wentylacji, a w egzotarium wilgotność względna. Wśród badanych pomieszczeń dla zwierząt najmłodsze budynki zamieszkiwały żyrafy (rok budowy – 2013); obserwowane w tym obiekcie stężenia aerozoli grzybowych w powietrzu były jednymi z najniższych. Przeprowadzone badania pozwoliły na uszeregowanie pomieszczeń dla zwierząt poczynając od tego mającego najbardziej zanieczyszczone powietrze przez aerozol grzybowy: (1) egzotarium, (2) strusie, (3) mały, (4) surykatki, (5) żyrafy, (6) bażanty, (7) tapiry, (8) hipopotamy karłowate.

Przeprowadzona w pracy **H1** jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA wykazała, że różnice w stężeniach aerozolu bakteryjnego między pomieszczeniami dla zwierząt były istotne statystycznie. Test Tukeya wykazał, że dla stężenia całkowitego aerozolu bakteryjnego różnice były istotne statystycznie w przypadku TB i ST-POS, natomiast dla frakcji respirabilnej aerozolu istotne różnice uzyskano dla TB, ST-POS oraz FB. Różnice w stężeniach aerozolu bakteryjnego pomiędzy pomieszczeniami dla małąp i strusi, a obiektami dla innych zwierząt wykazały wyższą istotność statystyczną, niż w przypadku żyraf i bażantów.

Na podstawie uzyskanych wyników badań oceniono stężenia drobnoustrojów w odniesieniu do wartości normatywnych proponowanych przez ZECB. W pracy **H1** najwyższe stężenia bakterii (TB) występowały w powietrzu pomieszczeń dla małąp; w stosunku do proponowanych wartości normatywnych wynosiły odpowiednio 6,9% dla TC oraz 11,7% dla RF. Znacznie niższe były maksymalne stężenia Gram-ujemnych bakterii kałowych (FB), stwierdzono je w powietrzu pomieszczeń dla bażantów; wynosiły 0,8% dla TC oraz 1,2% dla RF. Gronkowce celem odniesienia do wartości normatywnych potraktowano jak ogólną ilość bakterii mezofilnych (TB). Maksymalne stężenie ST-POS w powietrzu pomieszczeń dla strusi wynosiło 23% (dla TC) oraz 32,5% (dla RF) dopuszczalnej przez ZECB wartości, zatem wartości normatywne nie zostały przekroczone. Najwyższe zmierzone stężenia ST-NEG występowały w powietrzu pomieszczeń dla żyraf; były one kilkanaście razy niższe od najwyższych stężeń dla ST-POS (wynosiły dla TC: 1,3%, a dla RF: 1,4%).

Dopuszczalne stężenie aerozolu bakteryjnego (TB) zostało przekroczone jedynie jednokrotnie w powietrzu pomieszczeń dla słoń w OZCh (**H3**) - podczas wiosennej sesji pomiarowej (dla frakcji TC o 111% oraz RF – o 85%). W przypadku powietrza w innych pomieszczeniach dla zwierząt TC zawierały się w przedziale od 5,1% (małąpiarnia) do 41,2% (żyrafiarnia), a dla RF w tych samych pomieszczeniach od 6,8% do 61,6% w stosunku do proponowanych wartości normatywnych.

Maksymalne stężenia bakterii kałowych w powietrzu pomieszczeń w OZCh (**H4**) były kilka razy wyższe niż w OZK; wynosiły około 5% dla TC oraz 10% dla RF dopuszczalnej wartości. Nie odnotowano również przekroczenia dopuszczalnych stężeń gronkowców dla TC, natomiast wystąpiło jednokrotnie przekroczenie dla frakcji RF o około 24% w powietrzu pomieszczeń dla słoń. Na podstawie powyższych danych można stwierdzić, że bioaerozol bakteryjny w stężeniach opisanych powyżej nie stanowi zagrożenia dla zdrowia pracowników krakowskiego zoo (OZK), natomiast w przypadku OZCh występuje niewielki stopień

zagrożenia.

Większość stężeń grzybów zmierzonych w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt w OZK (H2) była poniżej wartości dopuszczalnej. Tylko w jednym przypadku - w egzotarium stężenie RF (27.000 jtk/m³) przekroczyło o 8% wartość graniczną. W pozostałych pomieszczeniach dla zwierząt maksymalne stężenia aerozolu grzybowego w powietrzu w stosunku do wartości granicznej dla TC zawierały się w przedziale od 2,6% (w pomieszczeniach dla hipopotamów) do 34,2% (w pomieszczeniach dla strusi), a dla RF odpowiednio od 5% do 61,3%. Na podstawie tych wyników powietrze w badanych obiektach dla zwierząt uznano zasadniczo za nieskażone mykologicznie.

Powyższe badania wpisują się w obszar mikrobiologii środowiskowej poszerzając dostępną wiedzę w zakresie aerobiologii. Uzyskane efekty w przedstawionym osiągnięciu naukowym są nowatorskie, ponieważ dotyczą badań w zakresie bioaerozoli występujących w ogrodach zoologicznych. W dostępnej literaturze brakuje doniesień naukowych w podjętej problematyce badawczej.

W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano zakresy stężeń bioaerozolu występujących w powietrzu wybranych pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych. Wykazano, że stężenia bioaerozolu w powietrzu przybierają odmienne wartości w pomieszczeniach dla zwierząt w obrębie jednego ogrodu zoologicznego, ale mogą także wykazywać znaczące różnice dla takiej samej grupy zwierząt w różnych ogrodach zoologicznych. Stwierdzono, że pod względem bakteriologicznym czystsze powietrze występowało w pomieszczeniach dla zwierząt w krakowskim ogrodzie zoologicznym. W pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oceniono również stężenia drobnoustrojów w powietrzu w odniesieniu do wartości normatywnych proponowanych przez ZECB. W większości przypadków proponowane wartości normatywne nie zostały przekroczone, można zatem przyjąć, że aerozol bakteryjny nie stanowi zagrożenia dla zdrowia pracowników ogrodu zoologicznego w Krakowie. W przypadku Śląskiego Ogrodu Zoologicznego w Chorzowie, ze względu na wyższe stwierdzone stężenia bakterii występuje tylko niewielki stopień zagrożenia. Wykazano również, że aerozol grzybowy nie przekraczał wartości normatywnych, zatem nie stanowi on także zagrożenia dla zdrowia pracowników OZK.

4.1.3.3.B. Frakcje bioaerozoli

W pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (**H1**, **H3**, **H4**) wykazano, że największy udział w całkowitym stężeniu aerozolu bakteryjnego w powietrzu w obydwóch ogrodach zoologicznych posiadała frakcja F4 (2,1 - 3,3 μm). Bioaerozol z tej frakcji dociera do oskrzeli drugorzędowych. W mniejszej ilości przypadków największy udział miała frakcja F5 (1,1 - 2,1 μm). Częsteczki bioaerozolu z tej frakcji trafiają do pęcherzyków płucnych. Najmniejszy procentowy udział dotyczył frakcji F2 (4,7 - 7 μm).

Rozkład frakcyjny aerozolu grzybowego (**H2**) w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt był bardzo zróżnicowany, jednak podobnie jak w przypadku aerozolu bakteryjnego dominowała frakcja F4 (2,1 - 3,3 μm). Najmniejszy udział w całkowitym stężeniu aerozolu grzybowego miały frakcje F1 i F6. Najbardziej nierównomierny rozkład wielkości cząstek aerozolu grzybowego stwierdzono w pomieszczeniu dla hipopotamów karłowatych: prawie 60% stanowiły dwie frakcje F4 (2,1 - 3,3 μm) i F5 (1,1 - 2,1 μm), podczas gdy frakcje F1 i F2 (4,7 - 7 μm i 7 - 11 μm) wspólnie stanowiły mniej niż 12%.

Jeśli udział frakcji respirabilnej (RF) w całkowitym stężeniu bioaerozolu (TC) przekracza 80%, może to stanowić zagrożenie dla zdrowia osób narażonych na jego działanie. Cząstki wchodzące w skład frakcji respirabilnej bioaerozolu mogą dotrzeć do dolnych dróg oddechowych zwierząt, pracowników i gości ogrodu zoologicznego. Ekspozycja na frakcję respirabilną bioaerozoli może prowadzić do wystąpienia zapalenia oskrzeli, obturacyjnej choroby płuc, astmy alergicznej lub zapalenia pęcherzyków płucnych. W pracy **H1** stwierdzono, że średni udział frakcji respirabilnej w całkowitym stężeniu wszystkich analizowanych grup drobnoustrojów w OZK wynosił około 68,0%, choć dla konkretnych przypadków ten udział był znacząco wyższy, np. w powietrzu pomieszczeń dla małp dla TB wynosił 89,3%, dla ST-NEG: 91,1%, a dla ST-POS aż 98,0%. Najmniejszy udział frakcji respirabilnej odnotowano również w powietrzu pomieszczeń dla małp dla FB (12,8%). Największy udział RF w przypadku powietrza w pomieszczeniach dla słoń w Śląskim Ogrodzie Zoologicznym (**H3**) wynosił 86,9%, a najmniejszy wynoszący 62,9% w pomieszczeniach dla małp. W przypadku bakterii wskaźnikowych w OZCh (**H4**) najwyższy udział RF wynoszący 85,35% stwierdzono w powietrzu żyrafiarni; najniższy – w powietrzu pomieszczenia dla małp (71,85%). Oceniono także zmienność sezonową udziału frakcji respirabilnej aerozolu bakteryjnego dla bakterii wskaźnikowych (**H4**); najmniejszy udział RF odnotowano podczas lata (65,93%), a najwyższy podczas zimy (74,28%), różnica pomiędzy sezonami wynosi 12,7%.

Większe różnice stwierdzono w OZCh dla TB (**H3**); w przypadku pomieszczeń dla słoń - różnica wynosiła 22,2% (lato – 77,5%; zima – 94,7%). Z kolei w przypadku pomieszczeń dla kangurów pomiędzy wiosną (41,2%) a zimą (87,4%) różnica sięgała aż 112,1%.

W przypadku aerozolu grzybowego (**H2**) również odnotowano dużą zmienność pomiędzy poszczególnymi pomieszczeniami; frakcja respirabilną aerozolu grzybowego stanowiła od 62,6% w powietrzu małpiarni do 89,2% w egzotarium, przy średniej dla wszystkich pomieszczeń wynoszącej 73,5%. W przypadku trzech obiektów w OZK udział RF w TC wynosił ponad 80%: w powietrzu pomieszczeń dla hipopotamów (85,6%), strusi (78,4%) oraz w egzotarium (89,2%).

Użycie impaktora kaskadowego Andersena w badaniach pozwala, w oparciu o rozmiary aerodynamiczne cząstek bakterii na oszacowanie możliwego poziomu penetracji cząstek bioaerozolu w układ oddechowy człowieka. Madsen et al. (2018) oszacował, do jakiej frakcji bioaerozolu należą gronkowce w oparciu o średnicę aerodynamiczną agregatów, które tworzą te bakterie. Wg tego autora 70% bioaerozolu zawierającego gronkowce ma agregaty o wielkości pomiędzy 7 - 11 μm , co oznacza, że są one deponowane w górnych drogach oddechowych, 22% trafia do oskrzeli pierwszo- i drugorzędowych, a 8% do oskrzelików płucnych. W badaniach własnych (**H4**) uzyskano odmienne wyniki; do frakcji 7 - 11 μm aerozolu zawierającego gronkowce należało jedynie 11,2%, największy udział miała frakcja 1,1 - 2,1 μm (27%), co oznacza, że ta część bioaerozolu może dotrzeć do oskrzelików płucnych.

Frakcja respirabilna stanowiła znaczącą część aerozolu zarówno bakteryjnego, jak i grzybowego (77,6%). Jak wynika z danych literaturowych cząsteczki bioaerozolu o średnicy poniżej 2,5 μm stanowią największe zagrożenie dla osób mających z nimi kontakt, ponieważ ta frakcja penetruje głęboko do dolnych dróg oddechowych (do pęcherzyków płucnych) skutkując występującymi często problemami zdrowotnymi takimi jak: niska waga urodzeniowa noworodków, choroby serca i płuc, nowotwory i przedwczesna śmierć (Morakinyo et al. 2016).

W pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego dzięki użyciu impaktora kaskadowego Andersena oszacowano możliwy poziom penetracji układu oddechowego człowieka przez cząstki bioaerozolu występujące w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych, co znacząco poszerza wiedzę odnośnie bioaerozoli w środowisku ogrodów zoologicznych i wnosi istotny wkład w rozwój aerobiologii. Wykazano, że największy udział w całkowitym stężeniu aerozoli bakteryjnych oraz grzybowych w

obydwóch badanych ogrodach zoologicznych miała frakcja F4 (2,1 - 3,3 μm). Bioaerozol zawarty w tej frakcji dociera do oskrzeli drugorzędowych. Mniejszy udział w całkowitym stężeniu bioaerozolu miała frakcja F5 (1,1 - 2,1 μm). Częsteczki bioaerozolu z tej frakcji trafiają do pęcherzyków płucnych. Najmniejszy udział w przypadku aerozolu bakteryjnego posiadała frakcja F2 (4,7 - 7 μm), penetrująca górne drogi oddechowe i zatrzymywana w gardle. W przypadku aerozolu grzybowego najmniejszy udział miały frakcje skrajne F1 (7 - 11 μm), która jest deponowana w jamie ustnej i nosowej) i F6 (0,65 - 1,1 μm) osadzająca się w pęcherzykach płucnych.

Stwierdzono, że w aerozolu części pomieszczeń dla zwierząt w badanych ogrodach zoologicznych udział frakcji respirabilnej (RF) w bioaerozolu przekracza 80%, co może stanowić zagrożenie dla zdrowia osób narażonych na jego działanie. Kontakt z takim bioaerozolem może prowadzić do wystąpienia zapalenia oskrzeli, obturacyjnej choroby płuc, astmy alergicznej lub zapalenie pęcherzyków płucnych.

4.1.3.3.C. Intoksykacja pomieszczeń

Miarą jakości mikrobiologicznej powietrza wewnątrz badanych pomieszczeń w ogrodach zoologicznych jest również stosunek stężenia bioaerozolu na zewnątrz budynków (O-outdoor) w stosunku do stężeń występujących w badanych wnętrzach (I-indoor) określany jako intoksykacja. Jest to bardzo istotny wskaźnik w kontekście oceny istnienia wewnętrznych źródeł emisji drobnoustrojów (American Industrial Hygiene Association 1989). Jeśli współczynnik I/O jest wyższy od 1 stanowi to potwierdzenie istnienia takiego źródła lub źródeł. W badaniach przedstawionych jako osiągnięcie naukowe oceniono współczynnik intoksykacji (I/O). W przypadku aerozolu bakteryjnego ten współczynnik miał zawsze wartości wyższe od 1, w przypadku aerozolu grzybowego w pomieszczeniach dla dwóch grup zwierząt (dla tapirów i hipopotamów w OZK) był niższy od 1. Stwierdzono zależność ocenianego współczynnika od badanej grupy drobnoustrojów oraz od gatunku zwierząt. Dla całkowitego stężenia (TC) ogólnej ilości bakterii (TB) wartości tego współczynnika były stosunkowo niskie, choć różniły się znacznie pomiędzy badanymi ogrodami zoologicznymi; minimalna wartość I/O w małpiarni w OZK wyniosła 12, maksymalna w OZCh w pomieszczeniu dla słoni - 344. Znacznie wyższe wartości tego współczynnika odnotowano w przypadku ST-POS. W przypadku tej grupy drobnoustrojów kilkadziesiąt razy wyższe wartości tego współczynnika również odnotowano w OZCh. Różnica pomiędzy stężeniem gronkowców w powietrzu pomieszczeń w stosunku do

powietrza na zewnątrz budynków była bardzo wysoka, co uzasadnia wybór tej grupy drobnoustrojów jako bakterii wskaźnikowych. W przypadku aerozolu grzybowego w OZK współczynniki I/O były porównywalne z wartościami uzyskanymi dla TB. Najwyższą wartość I/O dla aerozolu grzybowego wynoszącą 16 stwierdzono w egzotarium (OZK).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono zależność współczynnika intoksykacji od pory roku. Najniższa intoksykacja pomieszczeń występowała w sezonie zimowym, co mogło być spowodowane niską aktywnością zwierząt oraz brakiem przemieszczania się zwierząt pomiędzy pomieszczeniami a wybiegami. Niskie wartości współczynnika I/O najczęściej występowały latem, kiedy zwierzęta opuszczały swoje pomieszczenia wychodząc na wybiegi. Najwyższe poziomy intoksykacji występowały podczas pomiarów wykonywanych na wiosnę oraz w jesieni, szczególnie w przypadku gronkowców. Można to tłumaczyć tym, że gronkowce stanowią naturalną mikrobiotę skóry, sierści i błon śluzowych zwierząt. Proces wymiany sierści występujący u części badanych zwierząt (np. u wielbłądów) w tych okresach niewątpliwie wpływa na stężenie gronkowców, jak również bakterii kałowych w powietrzu badanych pomieszczeń.

Oceniając poziom intoksykacji w badanych pomieszczeniach dla zwierząt wykazano istnienie wewnętrznych źródeł emisji drobnoustrojów. Poziom intoksykacji powodowanej szczególnie przez gronkowce był wysoki. Źródłami emisji drobnoustrojów do powietrza są zwierzęta, ich pasze oraz ściółka. Ocena intoksykacji stanowi nowy, ważny aspekt w badaniach środowiskowych, nie będący dotąd przedmiotem badań naukowych. Niniejsze badania w środowisku ogrodów zoologicznych są jedynymi związanymi z tym zagadnieniem. Celnie wytypowano gronkowce, jako drobnoustroje wskaźnikowe świadczące o poziomie skażenia mikrobiologicznego pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych. Uzyskane wyniki potwierdzają słuszność tego wyboru.

4.1.3.3.D. Pył zawieszony

Pył zawieszony (**PM**) w pomieszczeniach dla zwierząt składa się w większości z materii organicznej. Jest to mieszanina produktów płynnych i stałych, w tym paszy, sierści, moczu, kału i mikroorganizmów (m.in. bakterii wraz z przetrwalnikami, grzybów pleśniowych i ich zarodników). Poziom zapylenia jest istotnym wskaźnikiem skażenia powietrza, gdyż z większością cząsteczek pyłu zawieszonego połączone są drobnoustroje, fragmenty ich komórek lub metabolity (np. mykotoksyny, glukany, endotoksyny). Poziomy penetracji układu

oddechowego przez różne frakcje pyłu zawieszonego są podobne do bioaerozolu. W pracach **H1**, **H2** oraz **H3** wchodzących w skład osiągnięcia naukowego mierzono stężenia pyłu zawieszonego PM₁₀, które można odnieść do całkowitego stężenia bioaerozolu (TC) w kontekście jego depozycji w układzie oddechowym. Częsteczki pyłowe należące do frakcji PM₄ mające wielkość poniżej 4 µm zalicza się do frakcji respirabilnej pyłu.

W pracy **H1** badania stężenia pyłu zawieszonego były prowadzone w powietrzu czterech pomieszczeń dla zwierząt w OZK. Najwyższe średnie stężenia poszczególnych frakcji pyłowych odnotowano częściowo w powietrzu żyrafiarni (frakcje PM₁₀ oraz PM₄), a częściowo w powietrzu pomieszczenia dla strusi (frakcje PM_{2,5}, PM₁). Najniższe średnie stężenia dla frakcji PM₁₀ oraz PM₄ odnotowano w powietrzu pomieszczeń dla bażantów, PM_{2,5} – u małp, a PM₁ – jednocześnie u małp i bażantów.

Zmierzone stężenia frakcji pyłu zawieszonego w pracy **H2** były porównywalne z podanymi powyżej dla pracy **H1** pomimo tego, że badania wykonywane były w różnych pomieszczeniach dla zwierząt. Najwyższe stężenia pyłu w powietrzu odnotowano dla 3 frakcji (PM₁₀, PM₄ i PM_{2,5}) w pomieszczeniu dla tapirów (mediany wynoszące odpowiednio: 0,186; 0,165; oraz 0,166 mg/m³). Najwyższe stężenie pyłu zawieszonego frakcji PM₁ stwierdzono w egzotarium (mediana: 0,141 mg/m³). Najniższe stężenia dla wszystkich badanych frakcji PM odnotowano w powietrzu pomieszczeń dla surykatek (mediany w przedziale: 0,058 – 0,052 mg/m³).

W pracy **H3** dokonywano pomiarów stężenia pyłu zawieszonego należącego do frakcji PM₁₀. Stwierdzono, że średnie poziomy zapylenia w pomieszczeniach dla zwierząt mieściły się w przedziale od 0,031 do 0,042 mg/m³ i były niższe od stężenia na stanowisku kontrolnym (0,054 µg/m³).

Wziąwszy pod uwagę wyniki uzyskane w pracach **H1**, **H2** i **H3** stwierdzono, że zakres stężeń pyłu należącego do frakcji PM₁₀ mieścił się w zakresie od 0,01 mg/m³ do 0,202 mg/m³. Oznacza to, że maksymalne zmierzone stężenie pyłu frakcji PM₁₀ w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt w badanych ogrodach zoologicznych stanowiło 4-krotność dopuszczalnej zawartości tej frakcji pyłowej zgodnie wytycznymi zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Środowiska w sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu (Rozporządzenie..., 2012). Nie stwierdzono przekroczenia wartości granicznych podanych w Rozporządzeniu Ministra Pracy i Polityki Społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Rozporządzenie..., 2017). Odnotowane stężenia

frakcji PM_4 , której cząsteczki są deponowane w dolnych drogach oddechowych mieściły się w przedziale stężeń od 0,051 (powietrze pomieszczeń dla surykatek w OZK) do 0,204 mg/m^3 (powietrze w egzotarium w OZK). Warto podkreślić, że w przypadku znacznej części wyników badań stężenia pyłu w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt były niższe niż na stanowiskach kontrolnych. Z kolei stężenia frakcji $PM_{2,5}$ i PM_1 były w większości przypadków niższe zarówno od PM_{10} , jak i PM_4 .

Podsumowując ten podpunkt badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego należy podkreślić, że w przypadku znacznej części badanych pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych stężenia pyłu w powietrzu były niższe niż na stanowiskach kontrolnych. Maksymalne stężenia frakcji PM_{10} w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt w badanych ogrodach zoologicznych stanowiło czterokrotność dopuszczalnego stężenia tej frakcji pyłowej w stosunku do wartości granicznej zawartej w stosownym Rozporządzeniu Ministra Środowiska. Przeprowadzone badania w znacznym stopniu poszerzają wiedzę naukową o środowisku wewnątrz ogrodów zoologicznych, jak również mają znaczenie użytkowe.

4.1.3.3.E. Mikroklimat pomieszczeń dla zwierząt

Odpowiednie warunki mikroklimatyczne występujące w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych są bardzo istotne, gdyż z jednej strony gwarantują dobrostan zwierząt, a z drugiej strony mogą wpływać na poziom bioaerozolu w powietrzu tych pomieszczeń. Optymalny zakres zalecanych temperatur dla badanych grup zwierząt zawiera się w przedziale 16 - 30°C (Kończak i Dobrzański 2006). Temperatura w badanych pomieszczeniach dla zwierząt charakteryzowała się najczęściej małą zmiennością przez okres całego roku. Zarejestrowano też przypadki, kiedy ten parametr zmieniał się dość znacząco, np. w OZK w pomieszczeniach dla strusi temperatura zmieniała się w zakresie od 17,2°C do 27,8°C a także w OZCh w pomieszczeniach dla wielbłądów (7 - 22°C). W przypadku tego ostatniego pomieszczenia stwierdzona duża zmienność temperatur była efektem otwartych drzwi pomieszczenia prowadzących na wybieg. Otwarte drzwi powodowały w tym pomieszczeniu intensywny ruch powietrza (0,61 m/s), co wychładzało obiekt oraz przebywające w nim zwierzęta. Stosunkowo wysokie temperatury odnotowano w żyrafiarni w OZK (około 26°C), podczas gdy w żyrafiarni w OZCh były one niższe o około 4,5°C. W pomieszczeniach dla małp w obydwóch ogrodach zoologicznych zaobserwowano podobną zależność. Najwyższe

temperatury i najmniejsze jej wahania odnotowano w egzotarium w OZK (26,2 - 27,6°C). Należy podkreślić, że wszystkie odnotowane temperatury w pomieszczeniach dla zwierząt mieściły się w optymalnym przytoczonym powyżej zakresie.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności pomiędzy temperaturą, a stężeniem pyłu w powietrzu oraz pomiędzy temperaturą a stężeniem bioaerozolu w powietrzu badanych pomieszczeń dla zwierząt (**H1**). Wyniki analizy głównych składowych (PCA) (**H2**) wskazują na ujemną zależność między temperaturą, a poziomem bioaerozolu w powietrzu pomieszczeń dla żyraf i strusi, zróżnicowaną w przypadku małp oraz dodatnią dla bażantów. Z otrzymanych danych wynika, że temperatura nie jest najważniejszym czynnikiem wpływającym na stężenie aerozolu grzybowego w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych. Wykazano, że zmienna temperatura zewnętrzna nie wpływała bezpośrednio na temperaturę panującą wewnątrz pomieszczeń, zwłaszcza w pomieszczeniach, w których systemy wentylacyjno-klimatyzacyjne są używane przez cały rok, a temperatura jest utrzymywana na stałym poziomie.

Wilgotność względna powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt powinna mieścić się w zakresie 50 - 80% (Kończak i Dobrzański 2006). Większość otrzymanych wyników badań mieściła się w tym zalecanym przez zoohigienistów zakresie. Jedynie w pomieszczeniach dla strusi w OZK wilgotność nieznacznie przewyższała 80%. Specyficznym przypadkiem w kontekście wilgotności względnej powietrza było pomieszczenie egzotarium w OZK. Wymagania przebywających w nim zwierząt (płazów oraz gadów) zarówno pod względem wilgotności, jak i temperatury różnią się od wymagań ptaków i ssaków, stąd zaobserwowana w nim wilgotność względna (84,7 - 86%) była optymalna dla tych zwierząt. Należy podkreślić, że w pomieszczeniach dla zwierząt jest wiele źródeł wilgoci, zatem większym problemem niż utrzymanie właściwej temperatury jest zapewnienie odpowiedniej wilgotności względnej powietrza. Część wilgoci pochodzi z powietrza zewnętrznego, duży udział w dostarczaniu wody mają mokre podłogi, wilgotne ściany oraz pożywienie, reszta pochodzi bezpośrednio od samych zwierząt. Zbyt wysoka lub zbyt niska wilgotność względna powietrza powoduje dyskomfort u zwierząt. Nadmierna wilgotność zapewnia także optymalne warunki do namnażania się drobnoustrojów, a jednocześnie zwiększa się stopień wychłodzenia zwierząt. Z kolei przy niskiej wilgotności względnej powietrza skóra i błony śluzowe zwierząt mogą wysychać i pękać, co zwiększa ryzyko infekcji.

Istotność parametrów mikroklimatycznych w badanym środowisku wykazano

wykonując analizy statystyczne. W pracy **H1** wykazano istnienie korelacji pomiędzy wilgotnością względną, a stężeniami trzech frakcji aerozolu bakteryjnego (F3, F4, F5), całkowitym stężeniem tego aerozolu (TC) oraz stężeniem frakcji respirabilnej (RF). Również w pracy **H2** analiza korelacji wykazała, że stężenia poszczególnych frakcji i stężenie całkowite aerozolu grzybowego (TC) były dodatnio skorelowane z wilgotnością względną powietrza. Stwierdzoną w OZK (**H2**) zależność potwierdzają również wyniki analizy skupień, która grupuje wilgotność względną powietrza z TC oraz wszystkimi frakcjami aerozolu grzybowego. Także wyniki analizy głównych składowych (PCA) wskazują na dodatnią zależność między aerozolem grzybowym, a wilgotnością względną w przypadku zgrupowania pomieszczeń dla żyraf, surykatek, małp i strusi.

Badania dotyczące warunków mikroklimatycznych występujących w pomieszczeniach dla zwierząt są niezbędnym uzupełnieniem badań mikrobiologicznych. Pozwalają na zbadanie wpływu tych czynników na poziom stężeń mikroorganizmów stanowiących mikrobiotę powietrza tych pomieszczeń. Jak wskazują zoohigienięści optymalny zakres temperatur zalecanych dla badanych grup zwierząt zawiera się w przedziale 16 - 30°C, natomiast wilgotność względna powinna wynosić od 50 do 80%. Większość uzyskanych wyników badań mieściła się w tych zakresach. Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że wilgotność względna powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych jest ważnym czynnikiem determinującym stężenie mikroorganizmów.

4.1.3.3.F. Identyfikacja wyizolowanych gronkowców oraz ich antybiotykooporność

W pracy **H4** przedstawiono wyniki identyfikacji wyizolowanych szczepów gronkowców występujących w powietrzu badanych obiektów dla zwierząt w OZCh metodą MALDI-TOF. Należy podkreślić, że MALDI-TOF to nowoczesna metoda identyfikacji drobnoustrojów oparta na technice spektrometrii mas z wykorzystaniem desorpcji/ionizacji laserowej, wspomagana matrycą z analizatorem czasu przelotu. Niewątpliwą zaletą tej metody jest wysoka precyzja identyfikacji mikroorganizmów.

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że najwięcej zidentyfikowanych szczepów należało do gatunku *Staphylococcus succinus*. Stanowił on prawie 1/3 wyizolowanych szczepów gronkowców. Mniej szczepów należało do gatunków: *S. sciuri* (19,1%) oraz *S. vitulinus* (12,6%). Inne zidentyfikowane gatunki mające malejący udział

procentowy w mikrobiocie powietrza to: *S. xylosus*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. equorum*, *S. capitis*, *S. gallinarum*, *S. chromogenes* oraz *S. lentus*. Najrzadziej spośród wyizolowanych gronkowców występował *S. haemolyticus* mający 0,5% udział w liczbie zidentyfikowanych szczepów. W powietrzu wszystkich badanych pomieszczeń dla zwierząt najczęściej występował gatunek *S. succinus*; stanowił on od 29,9% wszystkich szczepów gronkowców występujących w powietrzu pomieszczeń dla wielbłądów, poprzez 34% w powietrzu pomieszczeń dla słońi, 34,8% w powietrzu żyrafiarni, 40,3% w powietrzu pomieszczeń dla kangurów do 57% w powietrzu małpiarni. W aerozolu bakteryjnym poszczególnych pomieszczeń najmniejszy udział miały: *S. chromogenes* (występował tylko w powietrzu pomieszczeń dla żyraf oraz wielbłądów), *S. epidermidis* (stwierdzony w powietrzu pomieszczeń dla słońi oraz kangurów) oraz *S. haemolyticus* (obecny w powietrzu pomieszczeń dla małp). Stwierdzono również, że w bioaerozolu pomieszczeń dla zwierząt występowało od 6 (w pomieszczeniach dla żyraf i małp) do 9 gatunków gronkowców (w obiektach dla wielbłądów i kangurów).

Z racji tego, że gronkowce zawsze występują w miejscach przebywania ludzi oraz zwierząt są dobrym wskaźnikiem skażenia mikrobiologicznego pomieszczeń. Z tego też powodu często określa się je mianem bakterii wskaźnikowych. Pełnią one w środowisku powietrznym podobną rolę, jak w wodzie bakterie z grupy coli czy enterokoki. Należy podkreślić, że w przedstawionym osiągnięciu naukowym zbadano lekooporność wyizolowanych szczepów gronkowców. Lekooporność gronkowców, ich zdolność do mutacji i nabierania oporności na kolejne generacje chemioterapeutyków wymaga prowadzenia jeszcze wielu interdyscyplinarnych badań. Wykonując w badaniach własnych testy antybiotykoodporności wyizolowanych szczepów gronkowców stwierdzono, że wykazywały one największą oporność na działanie kwasu fusydowego (42% szczepów było opornych), ryfampicyny (36% opornych szczepów), tetracykliny (27% opornych szczepów) oraz klindamycyny (22% szczepów było opornych). Jednocześnie badane szczepy gronkowców odznaczały się całkowitą wrażliwością na działanie 4 antybiotyków: chloramfenikolu, gentamycyny, tigecykliny oraz erytromycyny. Największą średnią oporność na testowane antybiotyki wykazywały szczepy należące do gatunku *S. epidermidis* (22,5%), nieco niższą (około 20%) - *S. sciuri* i *S. lentus*, *S. succinus* (13,2%), *S. capitis* (10%), a najniższą *S. xylosus* (4%).

Przeprowadzone badania dotyczące lekooporności szczepów gronkowców

wyizolowanych z bioaerozolu pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych są nowatorskie i stwierdzono brak doniesień w dostępnej literaturze na ten temat. Prezentowane wyniki w tej części osiągnięcia naukowego są pierwszymi wykonanymi w Polsce. Wykazano, że spośród wyizolowanych gronkowców dominowały szczepy należące do gatunku *Staphylococcus succinus*. Wyizolowane szczepy odznaczały się największą opornością na działanie kwasu fusydowego oraz ryfampicyny. Odznaczały się też całkowitą wrażliwością na działanie 4 badanych antybiotyków.

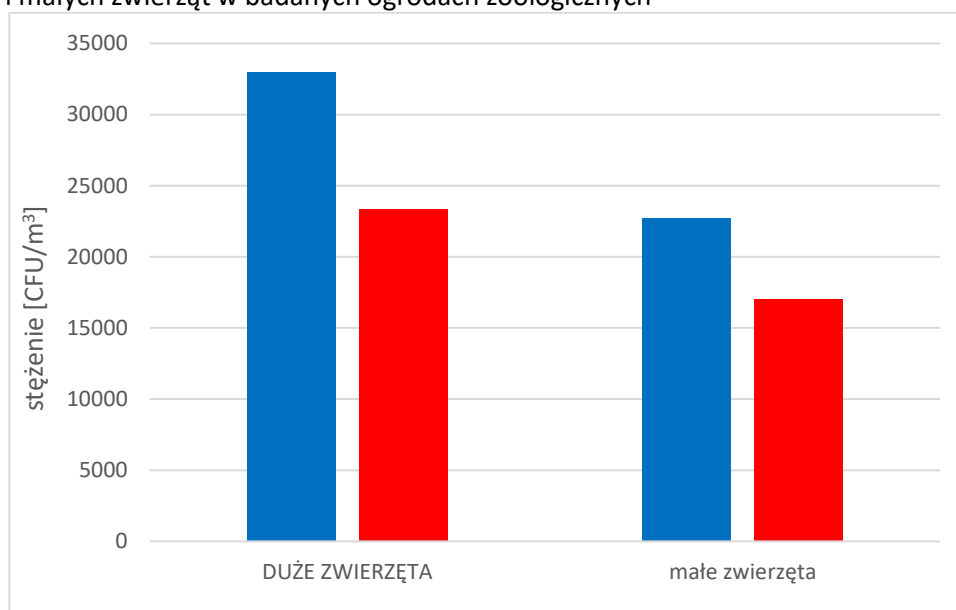
4.1.3.4. Podsumowanie i najważniejsze wnioski wynikające z przeprowadzonych badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

4.1.3.4.A. Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych badań własnych pozwoliły odpowiedzieć na pytanie, czy bardziej skażone mikrobiologicznie było powietrze w pomieszczeniach ogrodów zoologicznych dla małych, czy dużych zwierząt. W obydwóch analizowanych ogrodach zoologicznych, w powietrzu pomieszczeń dla dużych zwierząt stwierdzono występowanie wyższych stężeń bakterii (rycina 1). Stwierdzono, że dla całkowitego stężenia bakterii (TC) różnica ta wynosiła 45,3%, natomiast dla frakcji respirabilnej bakterii (RF) – 36,8%. W przypadku aerozolu grzybowego w OZK (rycina 2) zależności były podobne. Stężenie całkowite bioaerozolu (TC) było wyższe o 52%, a stężenie frakcji respirabilnej (RF) aż o 82% w pomieszczeniach dla dużych zwierząt. Zależność tę można tłumaczyć znacznie większym zapotrzebowaniem dużych zwierząt na paszę oraz ściółkę, co wpływa na ilość emitowanych drobnoustrojów z tych elementów środowiska do powietrza. Źródłem drobnoustrojów są również zwierzęta. Znaczne ilości mikroorganizmów stanowiące składniki bioaerozolu pochodzą z powierzchni ich ciał oraz z wydanych odchodów.

Oceniając wpływ wieku pomieszczeń na stężenia bioaerozolu w powietrzu tych pomieszczeń założono, że w nowszych pomieszczeniach powietrze będzie mniej skażone mikrobiologicznie niż w starych. Jak wynika z ryciny 3, na której przedstawiono dane dotyczące aerozolu bakteryjnego wyniki były zgodne z założeniami, w starszych pomieszczeniach stężenia były wyższe o 5,4% dla TC oraz 18,0% dla RF.

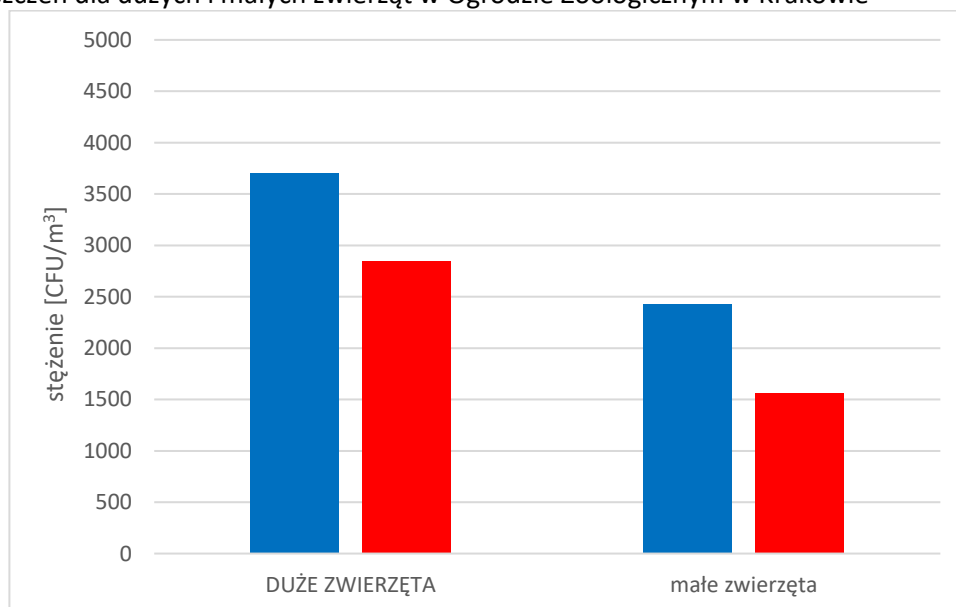
Rycina 1. Porównanie średnich stężeń bakterii (dla frakcji TC oraz RF) w powietrzu pomieszczeń dla dużych i małych zwierząt w badanych ogrodach zoologicznych



Legenda:

-  - stężenie całkowite aerozolu bakteryjnego (TC)
-  - stężenie frakcji respirabilnej aerozolu bakteryjnego (RF)

Rycina 2. Porównanie średnich stężeń grzybów pleśniowych (dla frakcji TC oraz RF) w powietrzu pomieszczeń dla dużych i małych zwierząt w Ogrodzie Zoologicznym w Krakowie



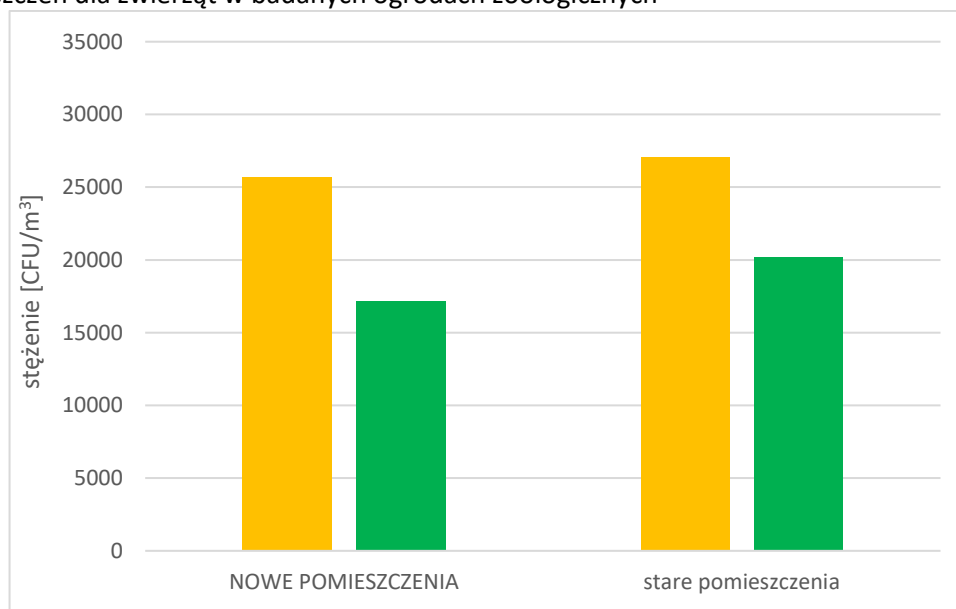
Legenda:

-  - stężenie całkowite aerozolu grzybowego (TC)
-  - stężenie frakcji respirabilnej aerozolu grzybowego (RF)

W przypadku aerozolu grzybowego w nowych pomieszczeniach w OZK stężenia grzybów w powietrzu były ponad 2-krotnie wyższe (123% dla TC i 155% dla RF) niż w starych pomieszczeniach (rycina 4). W odniesieniu do aerozolu grzybowego założenie dotyczące wieku pomieszczeń nie zostało potwierdzone. Uzyskany wynik jest efektem oddziaływania wielu czynników. Można założyć, że najistotniejszym z tych czynników jest wielkość zwierząt, bowiem duże zwierzęta zamieszkiwały nowsze pomieszczenia, poza tym wprowadzają one do powietrza zarówno większe ilości drobnoustrojów, jak i cząsteczek pyłowych (PM) oraz otrzymują więcej paszy.

Jako jeden z celów przyjęto określenie udziału wytypowanych grup bakterii w mikrobiocie powietrza badanych pomieszczeń w ogrodach zoologicznych. Jak wynika z uzyskanych wyników udział poszczególnych grup bakterii znacząco się różnił pomiędzy badanymi ogrodami zoologicznymi (tabela 2). Stwierdzono, że najmniejszy udział w aerozolu bakteryjnym badanych pomieszczeń w obydwóch ogrodach zoologicznych miały bakterie kałowe (około 0,5%). W OZK największy udział procentowy wśród bakterii miały ST-POS (wynoszący 2/3 ogółu bakterii), natomiast w OZCh – przeważała ogólna liczba bakterii (TB).

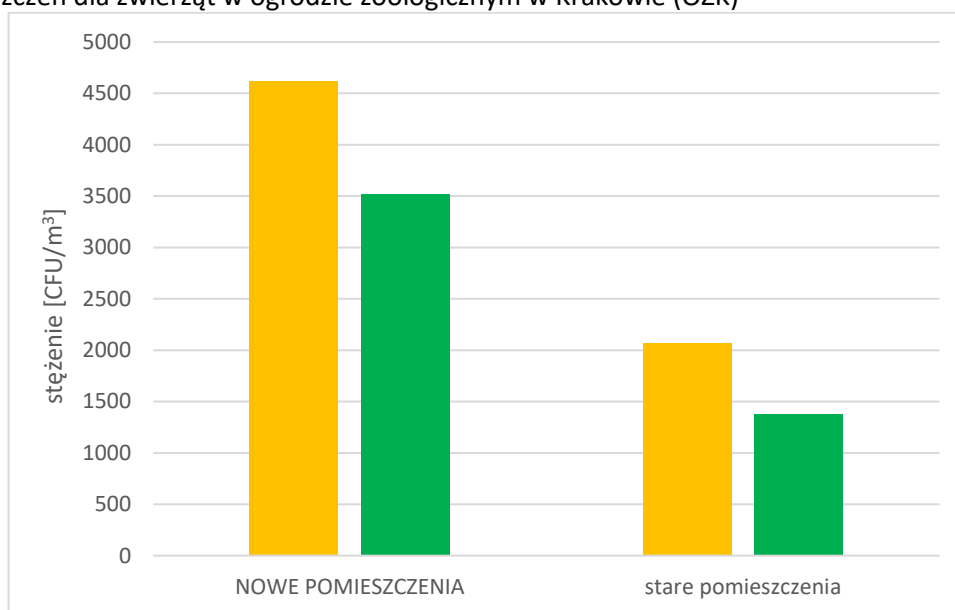
Rycina 3. Porównanie średnich stężeń bakterii (dla frakcji TC oraz RF) w powietrzu nowych i starych pomieszczeń dla zwierząt w badanych ogrodach zoologicznych



Legenda:

-  - stężenie całkowite aerozolu bakteryjnego (TC)
-  - stężenie frakcji respirabilnej aerozolu bakteryjnego (RF)

Rycina 4. Porównanie średnich stężeń grzybów (dla frakcji TC oraz RF) w powietrzu starych i nowych pomieszczeń dla zwierząt w ogrodzie zoologicznym w Krakowie (OZK)



Legenda:

- stężenie całkowite aerozolu grzybowego (TC)
- stężenie frakcji respirabilnej aerozolu grzybowego (RF)

Tabela 2. Procentowy udział poszczególnych grup badanych bakterii w składzie aerozolu w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych

Grupa bakterii	Ogród Zoologiczny w Krakowie (OZK)	Śląski Ogród Zoologiczny w Chorzowie (OZCh)
Ogólna liczba bakterii (TB)	25,9%	60,6%
Gronkowce mannitolododatnie (ST-POS)	66,4%	14,6%
Gronkowce mannitoloujemne (ST-NEG)	7,0%	24,1%
Gram-ujemne bakterie kałowe (FB)	0,7%	0,6%

Ważnym osiągnięciem naukowym było zbadanie stężeń bioaerozolu wraz z jego rozkładem ziarnowym oraz zapylenia w pomieszczeniach dla szerokiej gamy zwierząt w dwóch wybranych ogrodach zoologicznych. Starano się wykazać wpływ wielkości zwierząt, a także wieku pomieszczeń na jakość mikrobiologiczną powietrza. Są to zagadnienia ważne z powodu specyfiki ogrodów zoologicznych, które są zarówno środowiskiem życia zwierząt, środowiskiem pracy, jak i bardzo popularnymi obiektami turystycznymi odwiedzanymi przez rodziny z małymi dziećmi. Warto podkreślić, że nie spotyka się w dostępnej literaturze tego typu badań, więc jest to znaczący przyczynek poszerzający wiedzę o aerobiologii ogrodów zoologicznych.

Po przeprowadzeniu całego cyklu badań opisanego w pracach **H1 - H4** można wskazać niezbędne działania, które powinny być podejmowane w ogrodach zoologicznych, by zmniejszyć stężenia niepożądanych mikroorganizmów. Oprócz codziennego sprzątania pomieszczeń dla zwierząt, w szczególności usuwania odchodów oraz wymiany ściółki, należy rozważyć okresową dezynfekcję tych pomieszczeń. Czyszczenie pomieszczeń powinno być prowadzone na mokro, by zmniejszyć poziom zapylenia oraz stężenie drobnoustrojów w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt. Ze względu na możliwość przenoszenia się drobnoustrojów przez brudne ręce należałoby zainstalować również dozowniki z preparatem dezynfekcyjnym. Chcąc zapewnić zwierzętom tzw. dobrostan oraz chronić je przed niewłaściwymi warunkami mikroklimatycznymi mogącymi wpływać na zmniejszenie ich odporności oraz zwiększyć możliwość zapadania na choroby należy zwracać uwagę na utrzymanie odpowiednich parametrów mikroklimatycznych w pomieszczeniach.

4.1.3.4.B. Wnioski

1. Wyniki badań przeprowadzonych w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych jednoznacznie wskazują, że stężenia bioaerozolu były w zdecydowanej większości przypadków na zróżnicowanym, lecz akceptowalnym w odniesieniu do zaleceń ZECB poziomie.
2. Sezonowa zmienność jest ważnym czynnikiem wpływającym na poziomy stężeń bioaerozoli w pomieszczeniach dla zwierząt. Prognozując skutki zdrowotne wynikające z narażenia na bioaerozole w środowisku ogrodów zoologicznych należy opierać się na pomiarach wykonanych w różnych porach roku.
3. Wyznaczenie rozkładów ziarnowych bioaerozoli pozwala stworzyć dokładny obraz kontaminacji powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt w ogrodach zoologicznych i umożliwia wykonanie prognozy narażenia zdrowia człowieka uwzględniającej oddziaływanie drobnoustrojów rozprzestrzeniających się w postaci aerozoli biologicznych.
4. Badania potwierdziły występowanie w pomieszczeniach dla zwierząt zjawiska intoksykacji. Poziom intoksykacji był zależny od pory roku, grupy drobnoustrojów oraz gatunku zwierząt przebywających w konkretnym pomieszczeniu.
5. Wyniki przeprowadzonych badań pyłu zawieszonego wewnątrz pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych potwierdziły, że jego stężenia niezależnie od frakcji są na

stosunkowo niskim poziomie, szczególnie w okresie zimowym niższym niż na zewnątrz budynków.

6. Kontrola podstawowych parametrów mikroklimatycznych (temperatury i wilgotności względnej powietrza) jest warunkiem koniecznym do prawidłowego przeprowadzenia badań środowiska pomieszczeń, a ich wyniki są niezbędne do właściwej interpretacji badań mikrobiologicznych. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że czynnikiem, który w największym stopniu determinuje stężenia aerozoli zarówno bakteryjnych, jak i grzybowych była wilgotność względna powietrza.
7. Analiza uzyskanych wyników dotycząca populacji gronkowców w pomieszczeniach dla zwierząt nie wykazała obecności gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*). Stwierdzone gatunki gronkowców były saprofityczne lub potencjalnie patogenne.
8. Przeprowadzone testy antybiotykoodporności szczepów gronkowców wyizolowanych z powietrza pomieszczeń dla zwierząt w Śląskim Ogrodzie Zoologicznym w Chorzowie wykazały średnią oporność wobec testowanych antybiotyków na poziomie od 4 do 22,5%. Badane gronkowce odznaczały się największą opornością na działanie kwasu fusydowego oraz ryfampicyny.
9. Określając udział różnych grup bakterii w mikrobiocie powietrza ogrodów zoologicznych stwierdzono, że jest ona zróżnicowana. Wśród badanych grup bakterii w Ogrodzie Zoologicznym w Krakowie dominowały gronkowce mannitolo-dodatnie, natomiast w Śląskim Ogrodzie Zoologicznym - ogólna liczba bakterii.
10. Stwierdzono, że wyższe stężenia drobnoustrojów występowały w powietrzu pomieszczeń dla dużych zwierząt, co wynikało ze znacznie większego zapotrzebowania dużych zwierząt na paszę oraz ściółkę, ilości produkowanych przez nie odchodów oraz znacznie większej powierzchni ich ciał.
11. Wykazano, że wyższe stężenia bakterii występowały w powietrzu starszych pomieszczeń dla zwierząt w ogrodach zoologicznych, a wyższe stężenia grzybów pleśniowych w nowszych pomieszczeniach.
12. Uzyskane wyniki dostarczyły cennych informacji na temat typowych stężeń bioaerozoli, które mogą posłużyć do opracowania propozycji dopuszczalnych stężeń drobnoustrojów w powietrzu pomieszczeń dla zwierząt. Nie ulega wątpliwości, że potrzebne jest prowadzenie dalszych szeroko zakrojonych badań w tym zakresie.

4.1.3.5. Literatura

1. American Industrial Hygiene Association, 1989, The practitioner's approach to IAQ investigations. In: Weekes DM, Gammage RB (ed), Proceedings of the indoor air quality international symposium. St. Louis, USA, Fairfax, pp 43–66
2. Augustyńska D, Pośniak M (Eds.), 2016, Harmful factors in the working environment—Limit values. Interdepartmental Commission for Maximum Admissible Concentrations and Intensities for Agents Harmful to Health in the Working Environment: CIOPIB (in Polish)
3. Budzińska K, Szejniuk B, Jurek A, Traczykowski A, Michalska M, Berleć K, 2014, Microbial air contamination in the piggery. *Probl Agric Eng*, X-XII, 4(86):91-100 (in Polish)
4. Chang CW, Chung H, Huang CF, Su HJ, 2001, Exposure of workers to airborne microorganisms in open-air swine houses. *Appl Environ Microbiol* 67(1):155-161. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.155-161.2001>
5. Cox CS, Wathes CM (Eds.), 1995, *Bioaerosols Handbook*, Lewis Publishers/CRC Press, Inc, Boca Raton
6. D'Arcy N, Canales M, Spratt DA, 2012, Healthy schools: Standardisation of culturing methods for seeking airborne pathogens in bioaerosols emitted from human sources. *Aerobiologia (Bologna)*, 28:413–422
7. Després VR, Huffman JA, Burrows SM, Hoose C, Safatov A, Buryak G, Fröhlich-Nowoisky J, Elbert W, Andreae M, Pöschl U, Jaenicke R, 2012, Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. In: *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 64:15598. <https://doi.org/10.3402/tellusb.v64i0.15598>
8. Douglas P, Robertson S, Gay R, Hansell AL, Gant TW, 2018, A systematic review of the public health risks of bioaerosols from intensive farming. *Int J Hyg Environ Health*, 221(2):134-173. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.10.019>
9. Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D, 2003, Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *Ann Occup Hyg*, 47:187-200
10. Gliński Z, Kostro K, 2013, Zagrożenie zoonozami od zwierząt towarzyszących. Część I. Wścieklizna, choroba ptasia, erlichioza, leptospiroza, kamylobakterioza, salmonelloza i listerioza. *Życie Wet* 88(12):1032-1037
11. Gliński Z, Kostro K, 2014, Zagrożenie człowieka chorobami zakaźnymi od zwierząt towarzyszących. Część II. Jersinioza, bartonelozy, kolibakterioza, zakażenie *Mycobacterium marinum*, grzybica skóry i kryptokokoza. *Życie Wet*, 89(4):326-329
12. Górny RL, 2010, Aeorozole biologiczne – rola normatywów higienicznych w ochronie środowiska i zdrowia, *Med Środ*, 13(1):41-51
13. Górny RL, Gołofit-Szymczak M, Cyprowski M, Stobnicka A, Ławniczek-Wałczyk A, 2017, Effect of electrical charges on potential of fibers for transport of microbial particles in dry and humid air. *J Aerosol Sci*, 116:66–82
14. Grzyb J, Podstawski Z, Bulski K, 2022, Bacterial aerosol, particulate matter, and microclimatic parameters in the horse stables in Poland. *Environ Sci Pollut Res*, 29:26992–27006. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18142-6>
15. Hall CB, 2001, Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus, *N Engl J Med*, 344:1917–1928
16. Jones AM, Harrison RM, 2004, The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - a review. *Sci Total Environ*, 326:151–180
17. Kaliste E, Linnainmaa M, Meklin T, Nevalainen A, 2002, Airborne contaminants in conventional laboratory rabbit rooms. *Lab Anim* 36(1):43-50
18. Kołacz R, Dobrzański Z (2006) *Hygiene and welfare of livestock animals*. AR Wrocław Publishing House (in Polish)
19. Kruszewicz AG, 2011, The role of zoos in saving endangered species and improving the welfare of non-domestic animals. *Anim Prod Rev*, 11:8-9. (in Polish).
20. Lopardo G, Calmaggi A, Clara L, Levy Hara G, Mykietiuik A, Pryluka D, et al., 2012, Consensus guidelines for the management of upper respiratory tract infections, *Medicina (Buenos Aires)*, 72:484–494
21. Lorenz H (2004) *Bioaerosols in university animal care facilities*. Theses and Dissertations 1520. The University of Toledo. Medical College of Ohio
22. Madsen AM, Kurdi I, Feld L, Tendal K, 2018, Airborne MRSA and total *Staphylococcus aureus* as associated with particles of different sizes on Pig Farms. *Ann Work Expo Heal* 62(8):966–977. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxy065>
23. Matković K, Vučemilo M, Vinković B, Pavičić Ž, Matković S, Benić M, 2009, Airborne fungi in a dairy barn with emphasis on microclimate and emissions. *Vet Arhiv*, 79:207-218.
24. Matković K, Vučemilo M, Vinković B, Šeol B, Pavičić Ž, Matković S, 2007, Qualitative structure of airborne

- bacteria and fungi in dairy barn and nearby environment. *Czech J Anim Sci*, 52(8):249-254.
25. May S, Romberger DJ, Poole JA, 2012, Respiratory health effects of large animal farming environments. *J Toxicol Environ Health - B: Crit Rev*, 15:524–541
 26. Millner PD, 2009, Bioaerosols associated with animal production operations. *Bioresour Technol* 100:5379–5385. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.026>
 27. Morakinyo OM, Mokgobu MI, Mukhola MS, Hunter RP, 2016, Health outcomes of exposure to biological and chemical components of inhalable and respirable particulate matter. *Int J Environ Res Public Health* 13(6):592. <https://doi.org/10.3390/ijerph13060592>
 28. Obwieszczenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 7 czerwca 2017 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Pracy i Polityki Społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy [Dz.U.2017.1348]
 29. Osek J, Wieczorek K, 2021, Bakteryjne choroby odzwierzęce u ludzi oraz ich czynniki etiologiczne u zwierząt i w żywności w krajach Unii Europejskiej w 2019 r. *Życie Wet*, 96(7):510-516
 30. Owen MK, Ensor DS, Sparks LE, 1992, Airborne particle sizes and sources found in indoor air. *Atmos Environ A, Gen Top*, 26(12):2149-2162.
 31. Pawlak K, Grzyb J, Rakowska A, Tombarkiewicz B, Niedziółka J, 2008, The impact of the maintenance of cows on the sanitary conditions in dairy cattle barns. *Ecol Tech* 16(5A):138-141 (in Polish)
 32. Reynolds SJ, Nonnenmann MW, Basinas I, Davidson M, Elfman L, Gordon J, Kirychuck S, Reed S, Schaeffer JW, Schenker MB, Schlunssen V, Sigsgaard T, 2013, Systematic review of respiratory health among dairy workers. *J Agromedicine*, 18:219–243
 33. Roy CJ, Reed DS, 2012, Infectious disease aerobiology: miasma incarnate. *Front Cell Infect Microbiol*, 2:1–2
 34. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 sierpnia 2012 r. w sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu [Dz.U.2012.1031]
 35. Samadi S, Wouters IM, Heederik DJJ (2013) A review of bio-aerosol exposures and associated health effects in veterinary practice. *Ann Agr Env Med* 20(2):206-221
 36. Sferrazza Papa GF, Pellegrino GM, Pellegrino R, 2014, Asthma and respiratory physiology: putting lung function into perspective. *Respir*, 19:960–969
 37. Sowiak M, Bródka K, Buczyńska A, Cyprowski M, Kozajda A, Sobala W, Szadkowska-Stańczyk I, 2012, An assessment of potential exposure to bioaerosol among swine farm workers with particular reference to airborne microorganisms in the respirable fraction under various breeding conditions. *Aerobiologia* 28(2):121-133
 38. Tombarkiewicz B, Sulińska M, Grzyb J, Pawlak K, Niedziółka J, 2008, Evaluation of sanitary and hygienic conditions in the monkey house of the Krakow Zoological Garden. *Ecol Tech* 16(5A):182-185
 39. Viegas S, Faisca VM, Dias H, Clerigo A, Carolino E, Viegas C, 2013, Occupational exposure to poultry dust and effects on the respiratory system in workers. *J Toxicol Environ Health, Part A* 76:230-239. <https://doi.org/10.1080/15287394.2013.757199>
 40. Witkowska D, Kwiatkowska-Stenzel A, Joźwiak A, Chorąży Ł, Wojcik A, 2012, Microbiological contamination of air inside and around stables during different seasons of the year. *Pol J Environ Stud* 21(4):1061–1066
 41. Wolny-Koładka K, 2018, Microbiological quality of air in free-range and box-stall stable horse keeping systems. *Environ Monit Assess* 190:269. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6644-0>
 42. Yoon C, Lee K, Park D, 2011, Indoor air quality differences between urban and rural preschools in Korea. *Environ Sci Pollut* 18:333-345
 43. Zhao Y, Aarnink AJA, De Jong MCM, Groot Koerkamp PWG, 2014, Airborne microorganisms from livestock production systems and their relation to dust. *Crit Rev Env Sci Tec* 44:1071-1128

4.2. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

4.2.1. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora (1995 - 2003)

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora moja praca naukowa była związana z tematyką dotyczącą aktywności mikrobiologicznej gleb i występowaniem w nich nitrozoamin. W tym zagadnieniu badawczym pracowałem pod opieką naukową **prof. dr. hab. Wiesława Barabasa**. Uzyskane wyniki badań opublikowano w dwóch artykułach naukowych (II.4.1 oraz II.4.2) oraz w rozdziałach monografii (II.2.1, II.2.3). Przeprowadzone badania wykazały, że ilościowy wzrost stężenia nitrozoamin (NDMA, NDEA, i NDPA) następował przy nawożeniu gleb azotem w dawce powyżej 120 kg N/ha/rok. Wykazano, że największe uzdolnienia do degradacji wyżej wymienionych nitrozoamin w warunkach laboratoryjnych posiadają *Arthrobacter globiformis* oraz *Streptomyces albus*.

Drugim zagadnieniem, które analizowałem we współpracy z **dr Krystyną Marcinowską** i **dr Heleną Bis** dotyczył mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza na składowiskach odpadów oraz w ich najbliższym otoczeniu. W tym okresie badania prowadzono na krakowskim składowisku odpadów komunalnych Barycz. Pobór próbek bioaerozolu wykonywano w miesięcznych odstępach przez okres całego roku kalendarzowego na stanowiskach badawczych zlokalizowanych zarówno na samym składowisku (w sektorze czynnym i na sektorach zamkniętych poddanych rekultywacji), jak i w strefie jego oddziaływania. Do poboru próbek używano aeroskop SAS-90 włoskiej firmy PBI oraz aeroskop MAS-100 firmy MERCK. Obydwa te urządzenia są pobornikami jednostopniowymi, umożliwiającymi pobranie tylko jednej frakcji bioaerozolu mieszczącego się w przedziale średnic aerodynamicznych 1 - 2 µm. Uzyskane wyniki wskazywały, że stężenia badanych drobnoustrojów (bakterii, grzybów pleśniowych oraz promieniowców) szczególnie w sektorze czynnym składowiska były bardzo wysokie, przekraczając dopuszczalne wartości podawane w Polskich Normach (PN-89/Z-04111/02 i PN-89/Z-04111/03), natomiast zasięg mikrobiologicznego oddziaływania tego składowiska sięgał do kilkuset metrów od jego granic. Wyniki były prezentowane w postaci referatów i doniesień na konferencjach krajowych i sympozjach naukowych, a następnie ukazały się drukiem jako rozdziały w monografiach naukowych (II.2.2, II.2.6 - II.2.10).

W kolejnych latach poszerzono badania o inne składowiska odpadów komunalnych. Realizowano je w ramach projektu krajowego **6PO4G 00221**: „Wpływ składowisk odpadów

komunalnych o różnym okresie eksploatacji w Baryczy, Krzyżu i Bolestawiu na mikrobiologiczne zanieczyszczenie powietrza atmosferycznego” (II.9.2), którego byłem **wykonawcą**. Projekt realizowano w latach 2001 – 2003. Uzyskane fundusze pozwoliły na poszerzenie zakresu badań i realizację pomiarów poza krakowskim składowiskiem również na 2 innych obiektach. Kryterium wyboru nowych obiektów badawczych było zróżnicowanie ich wielkości oraz sposobu składowania odpadów. Wykazano, że na badanych składowiskach zarówno stężenia, jak i skład mikrobiocenotyczny zależał od odległości od czynnego sektora składowiska, kierunku wiejących wiatrów, warunków atmosferycznych oraz natężenia ruchu samochodowego. Stwierdzono, że normy ilościowe PN-89/Z-04111/02 i PN-89/Z-04111/03 były najczęściej przekraczane przez alergogenne promieniowce, rzadziej przez grzyby pleśniowe i bakterie. W powietrzu przeważały organizmy saprofityczne, lecz występowały także potencjalnie chorobotwórcze bakterie z rodzaju *Staphylococcus* oraz grzyby toksynotwórcze z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* oraz *Trichothecium*. Z wyżej wymienionej tematyki badawczej prace opublikowano po obronie pracy doktorskiej.

Następnym zagadnieniem naukowym, którym się interesowałem w tym okresie i kontynuowałem prace w tym kierunku po uzyskaniu stopnia doktora był problem zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza oraz mikroklimat komór sanatoryjnych zlokalizowanych w kopalniach soli w Bochni oraz Wieliczce. Badania były prowadzone w ramach projektu krajowego (**6PO4G 00121**) finansowanego przez KBN: „Charakterystyka mikroklimatyczna i mikrobiologiczna komór sanatoryjnych w Kopalni Soli w Bochni i Wieliczce”, którego także byłem **wykonawcą**. Projekt realizowano w latach 2001 - 2003 (II.9.3). Celem badań było poznanie składu bioaerozolu (bakteryjnego, grzybowego oraz promieniowcowego) oraz mikroklimatu w tych sanatoriach, dokonywano także oceny interakcji pomiędzy tymi elementami. W oparciu o normy dotyczące jakości powietrza atmosferycznego wykazano, że powietrze w komorach sanatoryjnych obu kopalni było niezanieczyszczone mikrobiologicznie; czystsze powietrze było w komorach sanatoryjnych Kopalni Soli w Wieliczce. Stwierdzono także, że specyficzne warunki panujące w korytarzach oraz wyrobiskach wpływają na proces samooczyszczania powietrza z drobnoustrojów. W oparciu o uzyskane wyniki powstały liczne publikacje, większość publikacji ukazała się po obronie pracy doktorskiej. W omawianym okresie opublikowano rozdział w monografii (II.2.4).

Istotna część mojej aktywności naukowej w tym okresie była związana z realizacją

badania do pracy doktorskiej, której promotorem był **dr hab. Henryk Kasza** będący w tym czasie pracownikiem **Zakładu Biologii Wód Polskiej Akademii Nauk w Krakowie**. Badania dotyczyły aktywności fosfataz w wodzie z rzeki Raby oraz wpływu czynników hydrochemicznych i mikrobiologicznych wpływających na tę aktywność. Wykazano, że w wodach rzeki Raby występują fosfatazy alkaliczne i kwaśne, przy czym większą aktywność wykazywały fosfatazy alkaliczne. Około 50% całkowitej aktywności fosfataz przypadało na enzymy pozakomórkowe, natomiast udział frakcji bakteryjnej i glonowej w całkowitej aktywności fosfataz wynosił około 25%. Badania realizowano we współpracy z Zakładem Biologii Wód PAN w Krakowie. Uzyskane wyniki opublikowano w pracach naukowych (**II.4.16, II.4.37, II.4.44**) oraz przedstawiono jako doniesienie na konferencji międzynarodowej (**II.7.2.28**). Chciałbym nadmienić, że za rozprawę doktorską pt.: „Oddziaływanie czynników hydrochemicznych i mikrobiologicznych na aktywność fosfataz alkalicznej i kwaśnej glonów i bakterii w rzece Raby” otrzymałem nagrodę Marszałka Województwa Małopolskiego w ramach konkursu „Praesignis” w 2004 roku (**zał. A8**). Na wykonanie badań do pracy doktorskiej uzyskano dofinansowanie z Komitetu Badań Naukowych w ramach projektu krajowego **6PO4F 05921**: „Badanie wpływu czynników mikrobiologicznych i hydrochemicznych na aktywność fosfataz alkalicznej i kwaśnej glonów i bakterii w rzece Raby”, którego byłem **kierownikiem** (**II.9.1**). Projekt był realizowany w latach 2001 - 2002. Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie występowania aktywnej fosfatazy alkalicznej czynnej w procesach hydrolizy estrów fosforanowych. Stwierdzono, że w wodach płynących badanej rzeki odznaczającej się wysokim poziomem ortofosforanów, wytwarzane są przeważnie fosfatazy konstytutywne, ich aktywność jest niezależna od stężenia fosforanów, lecz od składu fitoplanktonu i jego aktywności metabolicznej. Oceniono, że fosfatazy alkaliczne są bardzo aktywnym składnikiem biocenozy wodnych, spełniającym ważną rolę w intensyfikacji przemian organicznych połączeń fosforu.

4.2.2. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora (2003 - 2022)

4.2.2.1. Oddziaływanie obiektów komunalnych na środowisko – ocena stanu mikrobiologicznego gleby, wody oraz powietrza na składowiskach odpadów oraz w strefie oddziaływania tych obiektów

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałem szeroko zakrojone badania nad wpływem składowisk odpadów komunalnych na stan sanitarny środowiska przyrodniczego.

Badania w tym zakresie w latach 2011 - 2013 były realizowane w ramach projektu naukowego **N N304 308540 (II.9.7)** pt.: „Ocena zagrożeń mikrobiologicznych powodowanych przez drobnoustroje i ich toksyczne metabolity w środowisku przyrodniczym składowiska odpadów komunalnych”, którego byłem **wykonawcą**.

4.2.2.1.A. Wpływ składowiska odpadów komunalnych na środowisko glebowe

Jednym ze środowisk, na które negatywnie oddziałują składowane odpady komunalne jest gleba. Celem badań była ocena zagrożenia mikrobiologicznego gleb przez bakterie chorobotwórcze i grzyby patogenne. Badania prowadzono zarówno na terenie czynnych składowisk odpadów, jak również w ich strefie ochronnej w odległości dochodzącej do kilkuset metrów od środka sektora czynnego. Prowadząc badania w okresie całego roku kalendarzowego oceniano wpływ czynników klimatycznych, rodzaju gleby oraz jej odczynu na aktywność mikroflory glebowej. Stwierdzono, że w glebach na składowisku czynnym, jak i w jego otoczeniu występuje znacznie większa ilość grzybów toksynotwórczych. Metabolity badanych szczepów grzybów toksynotwórczych wykazywały w testach biologicznych silne działanie fitotoksyczne. Najsilniejsze działanie fitotoksyczne wykazywały metabolity *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium redolens*, *Penicillium citrinum* oraz *Penicillium rugulosum*. W przypadku promieniowców stwierdzono wysoce istotną korelację pomiędzy gatunkami występującymi w glebie oraz w powietrzu atmosferycznym. W glebach pochodzących ze składowiska odpadów zidentyfikowano potencjalnie chorobotwórcze bakterie, szczególnie z rodzaju *Staphylococcus*.

Uzyskane wyniki badań przedstawiono jako doniesienia na ogólnopolskich (II.7.2.5, II.7.2.47, II.7.2.50) oraz międzynarodowych (II.7.2.22, II.7.2.26, II.7.2.29, II.7.2.41, II.7.2.44, II.7.2.45) konferencjach naukowych, jak również opublikowano w czasopiśmie krajowych (II.4.18, II.4.43, II.4.48, II.4.53, II.4.56).

4.2.2.1.B. Wpływ składowiska odpadów komunalnych na środowisko wodne

Skażenie mikrobiologiczne wód powoduje występowanie istotnych problemów

sanitarno-higienicznych. Celem prowadzonych badań była ocena wpływu składowisk na zanieczyszczenie mikrobiologiczne tych wód oraz oszacowanie zasięgu oddziaływania skażeń pochodzących ze składowisk. W oparciu o przeprowadzone badania stwierdzono, że woda pobierana z piezometrów na składowisku była skażona mikrobiologicznie niezależnie od pory roku przez bakterie z grupy coli oraz enterokoki. Uznano, że konieczne jest powadzenie monitoringu wód gruntowych wokół składowisk nawet do 30 lat po zakończeniu deponowania na nim odpadów.

Uzyskane wyniki przedstawiono w 4 publikacjach: dwóch dotyczących wód podziemnych (II.4.41, II.4.55) oraz dwóch wód powierzchniowych (II.4.33, II.4.54). Wyniki zaprezentowałem także wygłaszając referat pt.: „Zagrożenia mikrobiologiczne środowiska powodowane przez wody podziemne w strefie oddziaływania składowiska odpadów komunalnych” na XLVIII Międzynarodowym Sympozjum Mikrobiologicznym „Mikrobiologia, a ochrona środowiska” w Warszawie w 2014 roku (II.7.1.2). Wyniki zaprezentowano również w postaci doniesień na konferencjach ogólnopolskich (II.7.2.16, II.7.2.28, II.7.2.43) oraz międzynarodowych (II.7.2.38, II.7.2.49)

4.2.2.1.C. Wpływ składowiska odpadów komunalnych na środowisko powietrzne

Składowiska odpadów oddziałują w dużym stopniu na jakość powietrza atmosferycznego. W okresie kiedy wykonywano badania większość odpadów zmieszanych trafiała bezpośrednio na składowiska, wcześniej będące zwykłymi wysypiskami. Warstwy świeżych odpadów powinny być regularnie przesypywane ziemią lub pokrywane nieprzepuszczalnym materiałem. W przypadku zaniedbań technologicznych do powietrza atmosferycznego przedostawał się swobodnie bioaerozol, przemieszczający się następnie zgodnie z kierunkiem wiejących wiatrów. Najważniejszym celem badań było określenie, na jakie odległości przenoszone są w powietrzu atmosferycznym elementy morfotyczne bakterii, grzybów oraz promieniowców. Prowadząc badania zwracano szczególną uwagę na występowanie w bioaerozolu drobnoustrojów szkodliwych dla zdrowia człowieka oraz określano rozmieszczenie poszczególnych grup drobnoustrojów wokół badanych obiektów.

Duża ilość uzyskanych wyników pozwoliła na ich opublikowanie w różnych czasopismach (II.4.6, II.4.8, II.4.11, II.4.12, II.4.13, II.4.15, II.4.19, II.4.20) oraz jako rozdziały w monografiach (II.2.11, II.2.12). Część wyników zaprezentowano także jako doniesienia na ogólnopolskich (II.7.2.3, II.7.2.20) oraz międzynarodowych (II.7.2.34) konferencjach w ramach popularyzacji

własnych dokonań.

W roku 2005 zostało opublikowane Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie *szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki*. Po tej dacie w badaniach realizowanych na składowiskach odpadów uwzględniłem zapisy zawarte w tym rozporządzeniu, aby móc określić potencjalny wpływ szkodliwych czynników biologicznych (SCB) na pracowników firm zajmujących się przetwarzaniem odpadów. Mając świadomość istotności powyższego rozporządzenia dla silnie narażonych na oddziaływanie SCB pracowników firm komunalnych w 2007 roku przygotowałem i wygłosiłem referat plenarny pt.: „Czynniki biologiczne na składowiskach odpadów komunalnych” na Konferencji Naukowo-Technicznej „Składowisko komunalne źródłem gazu” w Czarnej k/Ustrzyk Dolnych, który następnie opublikowano w materiałach konferencyjnych (II.7.1.1). Inne wyniki badań z tej tematyki zostały przedstawione jako doniesienia na konferencjach naukowych (II.7.2.9, II.7.2.20).

Aby pogłębić wiedzę w zakresie bioaerozoli uczestniczyłem w 2007 roku w kursie pt.: „Bioaerozole w środowisku pracy i pozazawodowym środowisku wewnątrz” zorganizowanym przez Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego. Kierownikiem tego kursu był **prof. dr hab. n. med. Rafał L. Górny** (obecnie pełni funkcję kierownika Pracowni Zagrożeń Biologicznych w Centralnym Instytucie Ochrony Pracy-PIB w Warszawie), z którym nawiązałem kontakt, co zaowocowało realizacją wspólnego projektu badawczego (II.9.5) finansowanego przez MNiSW.

4.2.2.1.D. Wpływ oczyszczalni ścieków komunalnych na środowisko powietrzne

Oczyszczalnia ścieków generuje bioaerozol, którego stężenie w powietrzu może być bardzo wysokie. Miejsca na terenie oczyszczalni ścieków, w których dochodzi do mieszania ścieków (punkt zlewny) lub ich napowietrzania (komory nityfikacji, osadniki wtórne) są największymi emiterami bioaerozolu. Taki bioaerozol może zawierać szczególnie dużo potencjalnie patogennych bakterii kałowych oraz przedstawicieli innych grup drobnoustrojów, w tym gronkowców.

Celem prowadzonych badań była ocena stężeń bioaerozolu, gazów (metan, amoniak, siarkowodór) oraz odorów na terenie czterech oczyszczalni ścieków o różnej przepustowości oraz zasięgu rozprzestrzeniania się tych składników poza obszarem obiektów badawczych. Wyniki tych badań opublikowano w czasopiśmie krajowym (II.4.40). Badania te wykazały, że

zasięg oddziaływania bioaerozolu oraz odorów rozciągał się od 400 poprzez 700 aż do 1200 m od osadnika wtórnego na danym obiekcie, a zatem nie zamykał się w granicach oczyszczalni. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy przepustowością obiektu, a zasięgiem oddziaływania odorów i bioaerozolu.

4.2.2.2. Ocena stanu mikrobiologicznego pomieszczeń w ośrodkach sanatoryjnych podziemnych oraz naziemnych

Rozwinięciem koncepcji badań jakości powietrza w sanatoriach podziemnych były analizy wykonywane w naziemnych pomieszczeniach uzdrowiska Szczawnica. Badania te realizowano w ramach projektu **N305 255233 (II.9.5)**: „Badania aerozolu biologicznego w komorach subterraneoterapii w Kopalni Soli w Bochni oraz w pomieszczeniach sanatorium naziemnego w Szczawnicy”, finansowanego przez MNiSW w latach 2007 – 2009. Byłem w tym projekcie **wykonawcą**. Projekt realizowany był we współpracy z pracownikami naukowymi **Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego z Sosnowca**, między innymi ze wspomnianym powyżej **prof. dr. hab. n. med. Rafałem L. Górnym** oraz **dr Anną Niesler** i **dr Anną Ławniczek-Wałczyk**. Zasadniczym celem projektu było określenie charakterystyki bioaerozolu występującego w pomieszczeniach zabiegowych obydwóch sanatoriów z podziałem na frakcje cząstek w zależności od ich średnic aerodynamicznych (7 - 11 μm , 4,7 - 7 μm , 3,3 - 4,7 μm , 2,1 - 3,3 μm , 1,1 - 2,1 μm oraz 0,65 - 1,1 μm). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że jakość mikrobiologiczna powietrza zarówno w podziemnych komorach sanatoryjnych, jak i w naziemnych pomieszczeniach sanatoryjnych była dobra. Wykazano, że pomimo używania tych pomieszczeń przez kuracjuszy znajdowały się one w stanie „pierwotnej czystości mikrobiologicznej”, czyli nie uległy wtórnemu skażeniu mikrobiologicznemu. Odnotowano najwyższe stężenia frakcji aerozolu zarówno bakteryjnego i grzybowego o średnicy cząstek 2,1 - 3,3 μm , z kolei najniższe stężenia miała frakcja najdrobniejsza (0,65 - 1,1 μm).

Efekty powyższych badań opublikowano w postaci wielu publikacji w czasopismach krajowych (II.4.5, II.4.7, II.4.9, II.4.10, II.4.14, II.4.17, II.4.29, II.4.30, II.4.35, II.4.38, II.4.44) oraz prezentowano na ogólnopolskich (II.7.2.2, II.7.2.4) oraz międzynarodowych (II.7.2.17, II.7.2.18, II.7.2.19, II.7.2.23, II.7.2.33) konferencjach i sympozjach.

4.2.2.3. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne oraz zapylenie powietrza w środowisku wielkomiejskim

Kolejnym obszarem moich zainteresowań stał się bioaerozol w środowisku

wielkomiejskim. Na zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza atmosferycznego w znacznym stopniu wpływa jego poziom zapylenia. Wysokie stężenia pyłu to zмога wielu polskich miast będąca w największym stopniu efektem niskiej emisji, czyli palenia w piecach domowych i małych kotłowniach niskiej jakości węglem, drewnem a często i śmieciami. Drugi bardzo istotny czynnik wpływający na zapylenie to wzmagający się z każdym rokiem ruch drogowy. Jednocześnie w środowisku wielkomiejskim ubywa terenów zielonych, a zabudowa ulega zagęszczeniu. Powoduje to duże różnice temperatur w obrębie jednostki administracyjnej; tereny zielone mają znacznie niższą temperaturę, niż obszary mocno zurbanizowane, gdzie ciepło, szczególnie w letnie słoneczne dni jest silnie akumulowane. W oparciu o te założenia zrealizowano badania w ramach projektu badawczego **N N304 152937** pt.: „Miejska wyspa ciepła jako czynnik determinujący rozmieszczenie aerozolu w Krakowie” Projekt był realizowany w latach 2009-2011, byłem jego **kierownikiem (II.9.6)**. W ramach tego projektu mierzono stężenia bioaerozoli i zapylenie w różnych miejscach Krakowa, wytypowanych na podstawie średniej rocznej temperatury w danym miejscu oraz natężenia ruchu drogowego w okolicy.

Stwierdzono, że w zależności od lokalizacji stanowiska badawczego, nasilenia ruchu, typu zabudowy, zapylenia powietrza, temperatury średniej występującej w danym miejscu, czy też obecności zieleni znacząco zmieniała się liczebność i skład mikroflory. Najliczniejszą frakcję bioaerozolu (dla wszystkich badanych drobnoustrojów) w powietrzu atmosferycznym na terenie Krakowa stanowiły cząstki z frakcji respirabilnej o średnicy aerodynamicznej 3,3 - 4,7 μm , mniej liczny był udział frakcji 2,1 - 3,3 μm . Najmniej drobnoustrojów stwierdzono we frakcjach skrajnych (poniżej 1,1 μm oraz powyżej 7 μm). Najbardziej zanieczyszczone miejsca zarówno pod względem mikrobiologicznym, jak i poziomu zapylenia były tereny przemysłowe w okolicy Kombinatu Arcelor Mittal. Potwierdzono pozytywny wpływ terenów zielonych na spadek stężenia zanieczyszczeń w powietrzu, jak i zasadność występowania w Krakowie naturalnych kanałów przewietrzających (np. koryto Wisły) umożliwiających dopływ czystego, nie skażonego powietrza.

Uzyskane w toku realizacji tego projektu wyniki posłużyły do opublikowania prac naukowych (**II.4.36, II.4.39, II.4.42, II.4.49, II.4.57**) oraz do ich przedstawienia na konferencjach i sympozjach naukowych (**II.7.2.24, II.7.2.25, II.7.2.31, II., II.7.2.46, II.4.51, II.7.2.51, II.7.2.54**), w tym kilku na międzynarodowych (**II.7.2.30, II.7.2.35, II.7.2.48**).

Większość badań bioaerozoli wykonuje się zazwyczaj w przekroju rocznym, by uchwycić

zmienność sezonową stężeń. W takich przypadkach poszczególne serie badawcze są wykonywane w odstępie np. tygodnia, miesiąca, raz na kwartał itp. Współpracując z **dr hab. Dorotą Swędrzyńską** z Katedry Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu przeprowadzono badania dynamiki stężeń bioaerozolu oraz zapylenia w przekroju dobowym, wykonując pomiary co godzinę - zarówno w ciągu dnia, jak i w nocy na stanowiskach zlokalizowanych w centrum Krakowa w miejscach różniących się natężeniem ruchu drogowego. Stwierdzono, że największe stężenie bakterii występuje w ciągu dnia, natomiast największe zapylenie - w nocy. W środowisku wielkomiejskim największe stężenie bakterii odnotowano dla frakcji powyżej 7 μm , co oznacza, że duża część bakterii jest połączona z masywnymi cząstkami pyłowymi. Uzyskane wyniki opublikowano (II.4.59) oraz przedstawiono na konferencjach międzynarodowych (II.7.2.39 oraz II.7.2.40).

W lutym 2018 roku w krakowskim Parku Jordana postawiono na kilka miesięcy tzw. „wieżę antysmogową” SmogFree Tower. Był to komercyjny projekt mający zademonstrować możliwości oczyszczania powietrza z tzw. smogu. W związku z powyższym podjąłem badania, których celem było wykazanie skuteczności działania antysmogowego tego urządzenia. W badaniach tych odnotowałem poprawę jakości mikrobiologicznej powietrza oraz zapylenia, lecz jedynie w promieniu do 30 m od tego urządzenia. Uzyskane wyniki badań zaprezentowałem na konferencji jako doniesienie (II.7.2.55).

4.2.2.4. Ocena bakteriostatycznych i bakteriobójczych właściwości folii z wbudowanymi nanostrukturami

Celem tych badań było opracowanie materiałów bionanokompozytowych o ulepszonych właściwościach mechanicznych oraz funkcjonalnych, rozumianych w głównej mierze jako odporność na rozkład mikrobiologiczny, a jednocześnie mających właściwości bakteriostatyczne. Badania te są bardzo istotne w kontekście poszukiwania coraz bardziej ekologicznych materiałów opakowaniowych. Przepisy Unii Europejskiej wymagają, by materiały przeznaczone do kontaktu z żywnością były na tyle obojętne, by nie uwalniały się z nich substancje egzogenne w ilościach, które mogłyby wpływać niekorzystnie na zdrowie konsumentów, składniki żywności oraz cechy organoleptyczne zapakowanych w taką folię produktów. W ramach współpracy z **dr hab. Gohar Khachatryan** (Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności UR w Krakowie), **dr hab. Magdaleną Krystyjan** (Katedra Technologii Węglowodanów i Przetwórstwa Zboż UR w Krakowie) oraz **dr. hab. Karenem Khachatryanem**

(Katedra Chemii UR w Krakowie) badałem właściwości bakteriostatyczne różnych folii na bazie:

- hialuronianu modyfikowanych nanocząsteczkowym srebrem (II.4.58),
- polisacharydów modyfikowanych za pomocą grafenu (II.4.60),
- chitozanu z nanosrebrem (II.4.61),
- na bazie alginianu sodu z dodatkiem nanocząsteczek srebra i złota (II.4.62),
- polimerów skrobiowo-chitozanowych modyfikowanych grafenem (II.4.63),
- chitozanu wzbogaconego olejkami eterycznymi (II.2.13).

W badaniach wykorzystywałem szczepy wzorcowe bakterii z kolekcji ATCC (m.in. *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Proteus mirabilis*). Stwierdzono, że najsilniejsze oddziaływanie bakteriostatyczne wykazują folie zawierająca nanocząsteczkowe srebro. Na podkreślenie zasługuje fakt, że uzyskane wyniki badań zostały opublikowane w wysoko punktowanych czasopismach zagranicznych posiadających też wysokie współczynniki IF (sumaryczny IF: 11,819).

4.2.2.5. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne oraz pyłowe powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt gospodarskich

W ramach prowadzonych badań współpracuję również z innymi jednostkami Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie: **Katedrą Zoologii i Dobrostanu Zwierząt (dr hab. Krzysztof Pawlak, dr hab. Barbara Tombarkiewicz), Katedrą Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa (prof. dr hab. Jan Pyś, dr Olga Lasek) oraz Katedrą Rozrodu, Anatomii i Genomiki Zwierząt (dr Zenon Podstawski).**

Efektem tej współpracy jest szereg publikacji, które dotyczyły zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz pyłowego powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt gospodarskich (krów - II.4.21, II.4.22, II.4.31, kóz - II.4.34, koni - II.4.64) oraz doniesień (II.7.2.12, II.7.2.15) przedstawionych na konferencjach międzynarodowych.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że stężenia drobnoustrojów oraz pyłu zawieszonego w pomieszczeniach gospodarskich były bardzo wysokie, do kilku rzędów wielkości wyższe niż w pomieszczeniach użytkowanych przez ludzi. Odnotowano w tych obiektach występowanie mikroorganizmów patogennych z rodziny *Enterobacteriaceae*. Oznacza to narażenie zwierząt, osób opiekujących się tymi zwierzętami na występowanie potencjalnych problemów zdrowotnych. Stwierdzono także, że oddziaływanie

mikrobiologiczne budynków inwentarskich nie zamyka się w ich obrębie, lecz może sięgać do kilkudziesięciu metrów od obiektu. Aby zminimalizować to ryzyko należy wykorzystać alternatywne materiały ściółkowe (np. pelet drzewny) oraz prowadzić sprzątanie na mokro celem zminimalizowania stopnia zapylenia.

4.2.2.6. Inne osiągnięcia naukowo-badawcze

W okresie swojej pracy brałem też udział w badaniach naukowych dotyczących wykorzystania osadów ściekowych w rolnictwie. W latach 2005-2006 uczestniczyłem jako **wykonawca** w realizacji projektu badawczego **3PO4G 022 25** pt.: „Badania nad wykorzystaniem osadów ściekowych jako nawozu oraz ich mikrobiologiczne i chemiczne przemiany w uprawie wierzby energetycznej” (**II.9.4**). Realizacja tego projektu miała służyć optymalizacji kosztów uprawy wierzby energetycznej poprzez użycie nawozu organicznego, jakim są osady ściekowe. W tym okresie wiązano z wierzbą energetyczną duże nadzieje w kontekście jej użycia jako biopaliwa. Pochodną udziału w tym projekcie było zainteresowanie się problemem biomasy jako alternatywnego paliwa w elektrowniach i elektrociepłowniach. Biomasa to paliwo ekologiczne, istotny element w gamie odnawialnych źródeł energii (OZE). Biomasa w latach 2010-2020 stanowiła nawet do 10% paliwa spalanego przez dużych wytwórców prądu i ciepła. Efektem ubocznym użycia tego paliwa jest problem występowania w nim szerokiego spektrum drobnoustrojów, stanowiących zagrożenie zarówno dla pracowników firm używających biomasę jako paliwo, jak i dla osób mieszkających w pobliżu hałd składowanej biomasy. **Wskazane powyżej zagrożenie spowodowało, że zostałem konsultantem kilku firm działających w branży energetycznej: PGE Energia Ciepła SA, Oddział nr 1 w Krakowie, ZEW Kogeneracja SA we Wrocławiu oraz PGE GiEK SA, Oddział Elektrownia Rybnik.**

W 2020 roku w ramach współpracy z **dr Olgą Lasek** z Katedry Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie byłem koordynatorem i współwykonawcą testów biologicznych w ramach projektu badawczego B-Z/82/2019/WHiBZ finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (**II.15.1**). W ramach tych badań prowadzone były testy właściwości bakteriostatycznych i bakteriobójczych preparatów do pielęgnacji gruczołów okołoodbytowych u psów. Obecnie w oparciu o uzyskane wyniki są przygotowywane do druku publikacje. Ze wstępnych badań wynika, że testowane preparaty mają bardzo dobre właściwości bakteriostatyczne.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

brak

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

- » Prowadzenie zajęć dydaktycznych dla studentów Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego, Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt oraz Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa – zarówno dla studentów stacjonarnych, jak i niestacjonarnych. W okresie pandemii prowadzenie wykładów oraz ćwiczeń w trybie on-line
- » **Prowadzenie wykładów** z przedmiotu: „Mikrobiologia Ogólna” dla studentów Wydziałów: Rolniczo-Ekonomicznego, Hodowli i Biologii Zwierząt oraz Biotechnologii i Ogrodnictwa.
- » **Prowadzenie ćwiczeń** z przedmiotów „Mikrobiologia ogólna”, „Biochemia gleby”, „Biologia gleby”, „Ekologia drobnoustrojów”, „Ekotoksykologia”, „Mykotoksyny w żywności” dla studentów Wydziałów: Rolniczo-Ekonomicznego, Hodowli i Biologii Zwierząt oraz Biotechnologii i Ogrodnictwa
- » **Opracowanie i wdrożenie autorskich programów** dla przedmiotów: „Ekotoksykologia”, „Higiena i bezpieczeństwo produkcji pierwotnej”, „Higiena surowców” oraz „Mykotoksyny w żywności”.
- » **Koordynator przedmiotu** „Mikrobiologia ogólna” dla studentów Wydziałów: Hodowli i Biologii Zwierząt oraz Biotechnologii i Ogrodnictwa
- » Opiekun naukowy (promotor) 58 magistrantów oraz 50 dyplomantów (inżynierowie/licencjaci).
- » Recenzent 21 prac inżynierskich oraz 29 magisterskich.
- » **Nagroda dla Najlepszego Nauczyciela roku akademickiego 2010/11 na Wydziale Rolniczo-Ekonomicznym Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie**

6.2. Osiągnięcia organizacyjne

- » **1997:** członek Komitetu Organizacyjnego Konferencji „Drobnoustroje a życie gleby”, Muszyna
- » **2001:** członek Komitetu Organizacyjnego Konferencji „Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach”, Kraków

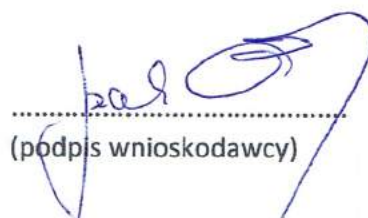
- » **2004 – 2008: członek Rady Wydziału Rolniczo-Ekonomicznego**
- » **2006:** członek Komitetu Organizacyjnego 40 Ogólnopolskiego Sympozjum Mikrobiologicznego „Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach”, Arłamów
- » **2007:** nagroda zespołowa II stopnia JM Rektora Akademii Rolniczej za wybitne osiągnięcia w dziedzinie organizacyjnej (zał. A2)
- » **2009 – 2012:** sekretarz komisji rekrutacyjnej dla kierunku Biotechnologia (zał. A3.1, A3.2)
- » **2011 – 2015:** opiekun roku dla studentów kierunku Biotechnologia
- » **2016:** członek Komitetu Organizacyjnego 50 Jubileuszowej Konferencji Mikrobiologii Środowiskowej „Mikroorganizmy w ochronie środowiska i biotechnologii”, Sieniawa
- » **2016 – 2021:** członek Komisji Dziekańskiej ds. Jakości Kształcenia na Wydziale Rolniczo-Ekonomicznym (zał. A4)
- » **2019 – 2021:** członek Rady Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo
- » **2020 – obecnie:** członek Odwoławczej Komisji Dyscyplinarnej ds. Doktorantów (zał. A5)

6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę

- » **2005 – 2019:** aktywny uczestnik Festiwalu Nauki w Krakowie (zał. A6.1 - A6.3)
- » **2006:** zajęcia pokazowe z mikrobiologii organizowane dla uczniów Szkoły Podstawowej nr 75 w Krakowie
- » **2010 – 2019:** aktywne uczestnictwo w Małopolskiej Nocy Naukowców – prowadzenie prelekcji dla dzieci i młodzieży (zał. A7.1 - A7.4)
- » **2011:** zajęcia pokazowe z mikrobiologii organizowane dla uczniów VIII Liceum Ogólnokształcącego w Krakowie

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej

- » **2004:** Nagroda przyznawana przez Marszałka Województwa Małopolskiego w ramach konkursu „Praesignis” za najlepszą pracę doktorską (zał. A8)
- » **2020:** Medal srebrny za długoletnią służbę nadany przez Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej (zał. A9)


(podpis wnioskodawcy)