

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **216463**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **393162**

(51) Int.Cl.

C12M 1/26 (2006.01)

C12Q 1/06 (2006.01)

G01N 1/06 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **06.12.2010**

(54) **Komora aerolizacyjna do wywoływania emisji cząstek grzybów pleśniowych i bakterii z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

18.06.2012 BUP 13/12

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

30.04.2014 WUP 04/14

(73) Uprawniony z patentu:

**CENTRALNY INSTYTUT OCHRONY PRACY -
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY,
Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**RAFAŁ LONGIN GÓRNY, Katowice, PL
ANNA KAROLINA ŁAWNICZEK-WAŁCZYK,
Piekary Śląskie, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Joanna Bocheńska

PL 216463 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest komora aerolizacyjna do wywoływania emisji cząstek grzybów pleśniowych i bakterii z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni, umożliwiająca uwolnienie tych cząstek do powietrza.

Biologiczne czynniki szkodliwe stanowią ważny i coraz częściej doceniany problem zarówno medycyny pracy, jak i zdrowia publicznego. Szacuje się, że tego typu narażenie występuje, nie licząc pozazawodowego środowiska wewnątrz, w co najmniej 151 specjalistycznych grupach zawodowych należących do 22 kategorii dużych gałęzi gospodarki. Narażenie na czynniki biologiczne często prowadzi do wystąpienia wielu niekorzystnych skutków zdrowotnych, poczynając od prostych podrażnień i dolegliwości, przez reakcje alergiczne, do infekcji, chorób zakaźnych i reakcji toksycznych. Najpowszechniejsze zagrożenie w środowisku pracy biologiczne czynniki szkodliwe stwarzają jako składniki bioaerozoli, będąc przenoszone drogą powietrzno-pyłową lub powietrzno-kropelkową. Obecność nadmiaru wilgoci w środowisku oraz wywołany nim rozwój grzybów pleśniowych i promieniowców ściśle wiąże się z niekorzystnymi objawami ze strony układu oddechowego człowieka. Mimo to związek przyczynowo-skutkowy między liczbą inhalowanych cząstek bioaerozoli, a wywołaniem przez nie niekorzystnych z punktu widzenia zdrowotnego symptomów nie jest wciąż wyznaczony.

Sformułowana kilka lat temu koncepcja „mikrobiologicznej siły źródła” zakłada dynamiczny opis procesu aerolizacji cząstek mikroorganizmów z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni poprzez kwantyfikację wielkości emisji cząstek pod wpływem istotnych dla tego procesu parametrów fizycznych i biologicznych. Zakłada ona ponadto, że potencjał emisyjny kolonii nie ogranicza się wyłącznie do spor czy komórek wegetatywnych kolonii grzybowych lub bakteryjnych, ale uwzględnia również rolę drobnych fragmentów struktury ich kolonii bądź komórek, które choć do tej pory nie mierzone z braku odpowiedniego instrumentarium badawczego, mogą również znaleźć się w powietrzu. Koncepcja ta łączy w nowy sposób źródło zanieczyszczenia (tj. skażoną mikrobiologicznie powierzchnię) z jego receptorem (człowiekiem) i umożliwia ocenę maksymalnego potencjalnego narażenia, uniezależniając ją od tego, czy poddane procesowi aerolizacji cząstki są żywe czy martwe i czy sam proces emisji podlega zmianom czasowym i przestrzennym. By móc dokonywać tego typu ocen konieczne jest stworzenie wysokosprawnego narzędzia umożliwiającego opis potencjału emisyjnego źródła mikrobiologicznego zanieczyszczenia.

Znane są urządzenia do pobierania próbek powietrza w celu dokonania analizy zawieszonych w nim spor i komórek wegetatywnych kolonii grzybowych lub bakteryjnych. Analizy takie umożliwiają zazwyczaj ocenę stopnia zanieczyszczenia powietrza na podstawie liczby tego typu cząstek, które w określonym przedziale czasu na skutek turbulencji powietrza były w stanie ulec aerolizacji. Kwantyfikacja stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza oparta jest wtedy zwykle na określeniu liczby jednostek tworzących kolonie, pomijając fakt obecności w powietrzu drobnych (o submikronowych wymiarach) fragmentów strukturalnych kolonii bądź komórek, które również są immunologicznie reaktywne. Ponadto analiza taka nie uwzględnia wszystkich cząstek, które mogą potencjalnie ulec procesowi aerolizacji (czyli pełnej siły emisyjnej źródła mikrobiologicznego zanieczyszczenia), a jedynie te, które tego typu emisji (często przypadkowo) doznały, były czasowo zawieszona w powietrzu i nie uległy sedymentacji. Tak przeprowadzona ocena ilościowa cząstek mikrobiologicznych nie jest pełna, a przez to niedostatecznie wiarygodna.

Komora aerolizacyjna zgodnie z wynalazkiem charakteryzuje się termosową budową to znaczy jej korpus zewnętrzny o kielichowatym kształcie mieści wewnątrz siebie mniejszy korpus wewnętrzny również o kielichowatym kształcie, a w nim znajdują się co najmniej trzy dysze, każda osadzona w korpusie wewnętrznym na tej samej wysokości w stosunku do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni, każda rozmieszczona na planie okręgu i będąca w równej odległości od kolejnej oraz każda skierowana stycznie w dół w kierunku zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni pod kątem, korzystnie pod kątem 60° lub 45°. Korpus wewnętrzny posiada otwór wylotowy, a korpus zewnętrzny tworzy z korpusem wewnętrznym otwór wlotowy. Dysze mogą mieć rurkowaty lub konikalny kształt. Liczba stosowanych dysz wynosi korzystnie trzy lub sześć, wtedy każda w wariantcie trójdyszowym znajduje się co 120°, a w wariantcie sześciodyszowym co 60°. Jak wykazały badania sześciodyszowy wariant nie wpływa istotnie statystycznie na liczbę cząstek grzybów pleśniowych i bakterii uwalnianych do powietrza z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni. Maksymalna prędkość przepływu strugi powietrza przez komorę aerolizacyjną w czasie wzbudzenia z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni emisji cząstek grzybów pleśniowych i bakterii powinna wynosić 29 litrów

na minutę, a spadek ciśnienia w czasie przepływu strugi powietrza przez komorę aerosolizacyjną, mierzony na przedłużeniu otworu wylotowego komory, nie powinien być większy niż 0,5 atm (przy normalnym ciśnieniu atmosferycznym). Dla zapewnienia, że powietrze aspirowane do wnętrza korpusu wewnętrznego jest „czyste”, tj. pozbawione cząstek aerozoli ziarnistych, włóknistych i biologicznych, między korpusem zewnętrznym komory aerosolizacyjnej, a jej korpusem wewnętrznym osadzony jest na perforowanej podstawie filtr. Jako filtr korzystnie stosuje się filtr polipropylenowy z włókniny pneumatycznej charakteryzujący się brakiem higroskopijności.

Taka budowa komory aerosolizacyjnej sprawia, że po przyłączeniu jej poprzez otwór wylotowy do np. pompy wymuszony w ten sposób przepływ powietrza sprawia, że wewnątrz korpusu wewnętrznego struga powietrza wprawiana jest w ruch wirowy nad zanieczyszczoną mikrobiologicznie powierzchnią, co powoduje, że cząstki mikroorganizmów pochodzące z kolonii zanieczyszczających eksponowaną powierzchnię są od niej odrywane i przechodzą w stan aerozolu. Pobrane próbki badane są według ustalonej procedury badawczej. Stwierdzono istotne statystycznie różnice między liczbą uwalnianych do powietrza cząstek grzybów pleśniowych i bakterii, gdy proces wzbudzania ich emisji odbywa się poprzez skierowanie strugi powietrza prostopadle do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni i gdy emisja pobudzana jest wirowym ruchem powietrza. Jak wykazały badania, niezależnie od taksonomicznego pochodzenia szczepów badanych mikroorganizmów, wirowa emisja zawsze uwalniała znacząco więcej cząstek grzybów pleśniowych i bakterii niż struga powietrza skierowana prostopadle do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni.

Wynalazek jest pokazany w przykładzie wykonania na rysunkach, na których Fig. 1 przedstawia komorę aerosolizacyjną w wariacie z trzema dyszami w rzucie z przodu, Fig. 2 przedstawia pionowy, osiowy przekrój tej komory, Fig. 3 przedstawia tę komorę w rzucie z dołu, Fig. 4 przedstawia komorę aerosolizacyjną w wariacie z sześcioma dyszami w rzucie z przodu, Fig. 5 przedstawia pionowy, osiowy przekrój tej komory, a Fig. 6 przedstawia tę komorę w rzucie z dołu.

Komorę aerosolizacyjną posiada termosową budowę to znaczy jej korpus zewnętrzny (3) o kielichowatym kształcie mieści wewnątrz siebie mniejszy korpus wewnętrzny (5) również o kielichowatym kształcie, a w nim trzy dysze (6) oraz w drugim wariacie sześć dysz (6), każda osadzona w korpusie wewnętrznym (5) na tej samej wysokości w stosunku do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni, każda rozmieszczona na planie okręgu i będąca w równej odległości od kolejnej oraz każda skierowana stycznie w dół w kierunku zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni pod kątem 60° lub 45°. Korpus wewnętrzny (5) posiada otwór wylotowy (1), a korpus zewnętrzny (3) tworzy z korpusem wewnętrznym (5) otwór wlotowy (2). Dysze (6) miały konikalny kształt. Dla zapewnienia, że powietrze aspirowane do wnętrza korpusu wewnętrznego (5) jest „czyste”, tj. pozbawione cząstek aerozoli ziarnistych, włóknistych i biologicznych, między korpusem zewnętrznym (3) komory aerosolizacyjnej, a jej korpusem wewnętrznym (5) osadzony był na perforowanej podstawie filtr (4). Jako filtr (4) w komorze aerosolizacyjnej zastosowano filtr polipropylenowy z włókniny pneumatycznej o średnicy 37 mm charakteryzujący się brakiem higroskopijności. Pozostałe elementy konstrukcyjne komory aerosolizacyjnej, tj. korpus zewnętrzny (3) z otworem wlotowym (2), korpus wewnętrzny (5) z otworem wylotowym (1), perforowana podstawka pod filtr (4) oraz dysze (6) wykonano z tworzywa sztucznego. Dla zabezpieczenia środowiska, w którym dokonywana jest aerosolizacja cząstek mikroorganizmów, przed niekontrolowanym, dodatkowym uwalnianiem się emitowanych cząstek mikroorganizmów poza obręb komory aerosolizacyjnej, komora w swej podstawie ma wbudowaną uszczelkę (7) wykonaną z gumy. Komora była przykładana ściśle do powierzchni agaru pokrytego wzrostem mikrobiologicznym tj. koloniami monokultur trzech grzybów pleśniowych i jednego promieniowca. Struga powietrza wewnątrz głowicy była kierowana prostopadle do skażonej powierzchni lub wprawiana w ruch wirowy nad zanieczyszczoną mikrobiologicznie powierzchnią. Każdy właściwy pomiar emisji cząstek grzybów i bakterii ze skażonych mikrobiologicznie powierzchni był poprzedzany pomiarem sprawdzającym czystość zestawu badawczego. Na początku każdej sesji pomiarowej, komora pracowała bez materiału, który byłby zanieczyszczony mikrobiologicznie (test z czystym mikrobiologicznie agarem), aż do osiągnięcia „zerowego” poziomu emisji wykazanego poprzez pomiar optycznym miernikiem cząstek Grimm. W badaniach wykorzystano 4 gatunki mikroorganizmów; grzyby *Aspergillus versicolor*, *Penicillium chrysogenum* i *Cladosporium cladosporioides* oraz promieniowiec *Streptomyces albus*. Wszystkie mikroorganizmy do testów były hodowane na podłożach agarowych tj. MEA dla grzybów i ISP Medium 2 dla promieniowca. Do wstępnych testów laboratoryjnych badanego przyrządu wybrano dwie prędkości przepływu strugi powietrza poruszającego się nad zanieczyszczoną mikrobiologicznie powierzchnią agaru tj. 11.6m/s oraz 29.1m/s charakterystyczne od-

powiednio dla środowiska zewnętrznego (powietrze atmosferyczne) i wewnętrznego (ciągów wentylacyjnych). Badano również w celach porównawczych w analogicznych warunkach komory aerolizacyjne o analogicznej budowie, ale o dyszach skierowanych prostopadłe do badanej powierzchni. Zastosowanie komory wykorzystującej wirowy sposób emisji cząstek pozwoliło na aerolizację w czasie 10 min. z 1cm² zanieczyszczonej powierzchni następującej liczby fragmentów i spor: dla *A. versicolor* odpowiednio do 341561 i 307438, dla *C. cladosporioides* odpowiednio do 29518 i 27661, dla *P. chrysogenum* odpowiednio do 13321 i 8313 oraz dla *S. albus* odpowiednio do 12084 i 1215. Analiza zgromadzonych danych wykazała, że:

a) istnieją istotne statystycznie różnice między liczbą cząstek uwalnianych do powietrza przez poszczególne gatunki mikroorganizmów (ANOVA: $p < 0,05$). Spośród czterech testowanych gatunków, największą liczbę cząstek zdolne były emitować kolonie *A. versicolor* (test Scheffego: $p < 0,05$);

b) istnieją istotne statystycznie różnice między liczbą uwalnianych do powietrza fragmentów i spor z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni agaru. Proces ten jest zależny od przynależności taksonomicznej badanego mikroorganizmu (największe różnice widoczne były dla cząstek *A. versicolor*, test t: $p < 0,05$);

c) istnieją istotne statystycznie różnice między liczbą uwalnianych do powietrza fragmentów i spor, gdy proces wzbudzania emisji odbywa się poprzez skierowanie strugi powietrza prostopadłe do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni i gdy emisja pobudzana jest wirowym ruchem powietrza. Niezależnie od taksonomicznego pochodzenia badanego szczepu, wirowa emisja zawsze uwalniała znacząco więcej cząstek (zarówno fragmentów, jak i spor) niż struga skierowana prostopadłe do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni (test t: $p < 0,05$);

d) gdy zastosowana jest emisja wirowa, prędkość strugi powietrza ma istotne znaczenie dla liczby uwalnianych do powietrza cząstek. Niezależnie od taksonomicznego pochodzenia badanego mikroorganizmu, zwiększenie prędkości strugi powietrza (z 11.6 m/s do 29.1 m/s) istotnie zwiększa liczbę fragmentów i spor uwalnianych z kolonii (test t: dla *A. versicolor* odpowiednio $p < 0,001$ i $p < 0,01$, dla *P. chrysogenum* w obu przypadkach $p < 0,01$, dla *C. cladosporioides* tylko dla fragmentów $p < 0,01$).

Wielkość emisji fragmentów (a) i spor (b) grzybów i promieniowców z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni agaru obrazują poniższe wykresy.

Badania nad wielkością emisji fragmentów i spor grzybów z powierzchni agaru w funkcji czasu wykazały, że znaczny procent cząstek uwalnia się do środowiska na skutek przepływu strugi powietrza w pobliżu zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni. Dla wszystkich badanych szczepów grzybów, procent cząstek uwolnionych w ciągu pierwszych 10 min. trwania eksperymentu, gdy prędkość przepływu strugi powietrza wynosiła 11.6m/s, wahał się od 32% do 52% dla fragmentów i od 62% do 80% dla spor, gdy struga powietrza była skierowana prostopadłe do skażonej powierzchni oraz od 27% do 63% dla fragmentów i od 71% do 76% dla spor, gdy struga powietrza była wprowadzona w ruch wirowy nad skażoną powierzchnią. W przypadku fragmentów grzybów, wzrost prędkości przepływu strugi do 29.1 m/s nie skutkował istotnym dodatkowym wzrostem emisji cząstek (29-44%, gdy struga powietrza była skierowana prostopadłe do skażonej powierzchni oraz 40-45%, gdy struga powietrza była wprowadzona w ruch wirowy nad skażoną powierzchnią). W przypadku spor, wzrost prędkości przepływu strugi do 29.1 m/s powodował wzrost ich emisji do poziomu 79-88%, gdy struga powietrza była skierowana prostopadłe do skażonej powierzchni oraz 77-87%, gdy struga powietrza była wprowadzona w ruch wirowy nad skażoną powierzchnią. Badania przeprowadzone z promieniowcem *S. albus* wykazały, że przy prędkości przepływu strugi powietrza wynoszącej 11.6m/s, procent uwolnionych fragmentów i spor z obu tych powierzchni w ciągu pierwszych 10 min. trwania eksperymentu zmienił się wynosząc odpowiednio 29% i 48% oraz 44% i 62%, gdy struga powietrza była skierowana prostopadłe do skażonej powierzchni oraz gdy była ona wprowadzona nad nią w ruch wirowy. Wzrost 2.5-krotny prędkości przepływu strugi do 29.1 m/s zwiększył znacząco emisję zarówno fragmentów, jak i spor tej bakterii. Dla fragmentów badanego promieniowca ich emisja z powierzchni agaru wzrosła do poziomu odpowiednio 53% i 88% oraz 60% i 92%, gdy struga powietrza była skierowana prostopadłe do skażonej powierzchni oraz gdy była ona wprowadzona nad nią w ruch wirowy.

Zastrzeżenia patentowe

1. Komora aerolizacyjna do wywoływania emisji cząstek grzybów pleśniowych i bakterii z zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni, **znamienna tym**, że posiada termosową budowę to

znaczy jej korpus zewnętrzny (3) o kielichowatym kształcie mieści wewnątrz siebie mniejszy korpus wewnętrzny (5) również o kielichowatym kształcie, a w nim znajdują się co najmniej trzy dysze (6), każda osadzona w korpusie wewnętrznym (5) na tej samej wysokości w stosunku do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni, każda rozmieszczona na planie okręgu i będąca w równej odległości od kolejnej oraz każda skierowana stycznie w dół w kierunku zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni pod kątem, natomiast korpus wewnętrzny (5) posiada otwór wylotowy (1), a korpus zewnętrzny (3) tworzy z korpusem wewnętrznym (5) otwór wlotowy (2), a ponadto między korpusem zewnętrznym (3) komory aerolizacyjnej, a jej korpusem wewnętrznym (5) osadzony jest filtr (4).

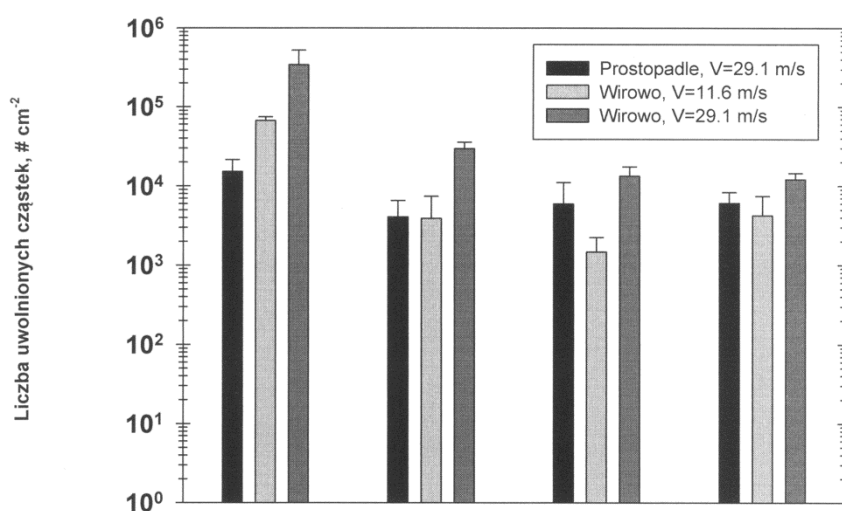
2. Komora według zastrz. 1, **znamienna tym**, że dysze (6) mają rurkowy lub konikalny kształt.

3. Komora według zastrz. 1 albo 2, **znamienna tym**, że stosuje się trzy lub sześć dysz (6).

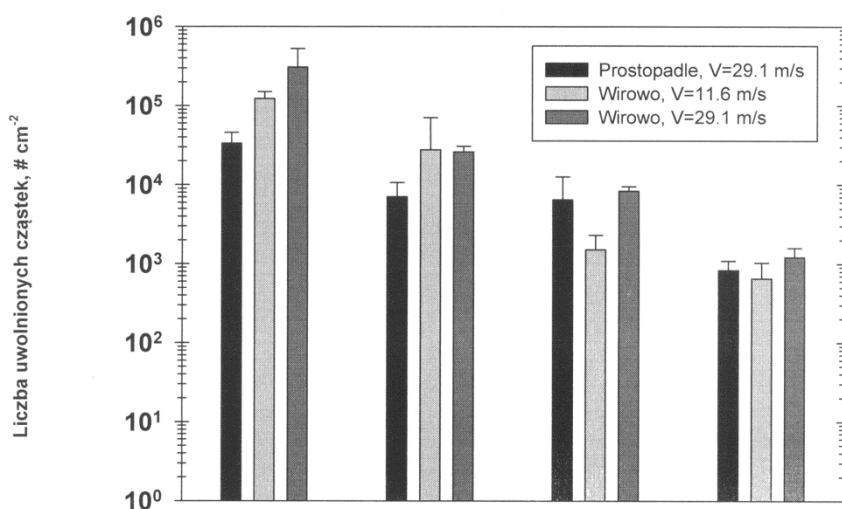
4. Komora według zastrz. 1 albo 2 albo 3, **znamienna tym**, że dysze (6) ustawione są pod kątem 60° lub 45° w stosunku do zanieczyszczonej mikrobiologicznie powierzchni.

Rysunki

a



b



A. versicolor *C. cladosporioides* *P. chrysogenum* *S. albus*

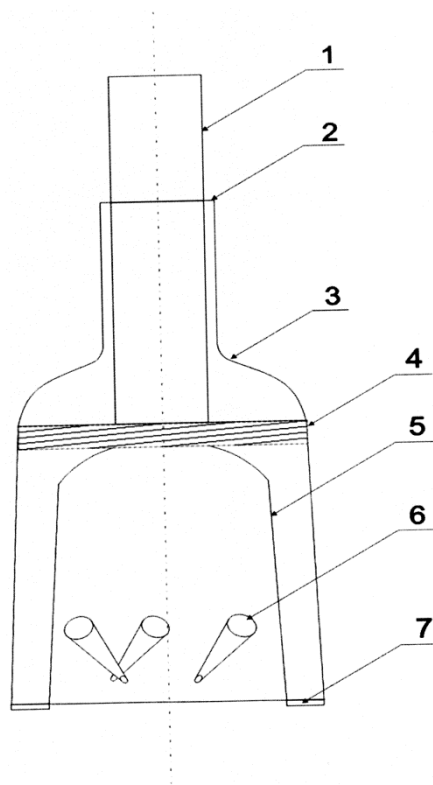


Fig. 1

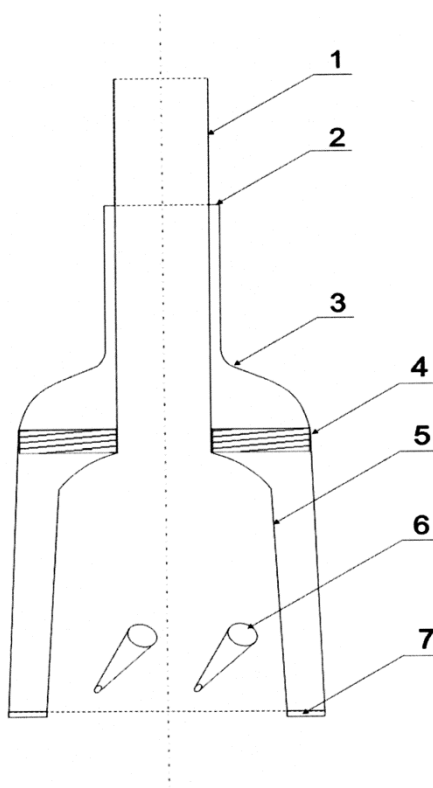


Fig. 2

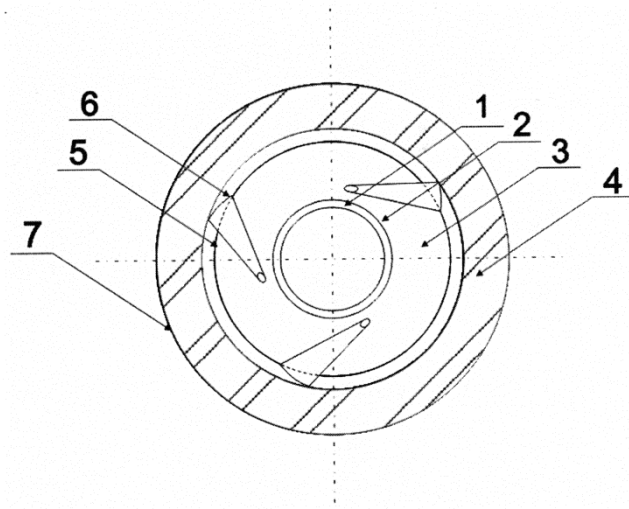


Fig. 3

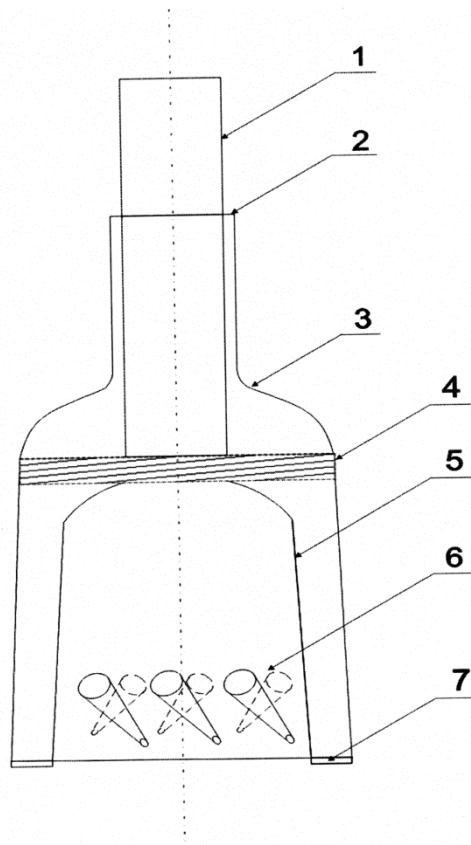


Fig. 4

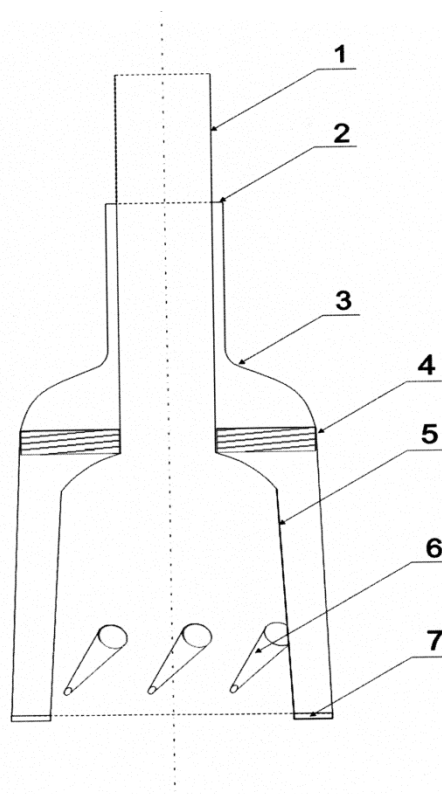


Fig. 5

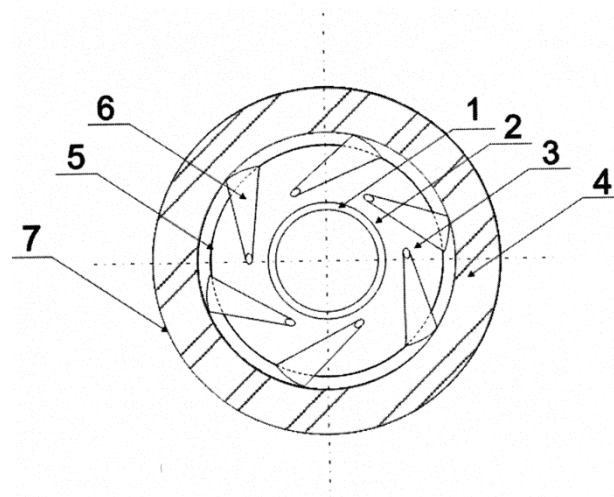


Fig. 6