

Rodzaje *Aspergillus* i *Penicillium* jako źródło potencjalnych alergenów grzybowych

Aspergillus and *Penicillium* genus as a source of potential mould's allergens

dr Agnieszka Grinn-Gofroń

Katedra Taksonomii Roślin i Fitogeografii Uniwersytetu Szczecińskiego

Streszczenie: Zarodniki rodzajów *Aspergillus*/*Penicillium* od kilkudziesięciu lat notowane są jako jedna z większych i ważniejszych grup aero-planktonu grzybowego na świecie. W badaniach aerobiologicznych oba rodzaje, ze względu na duże podobieństwo morfologiczne zarodników, łączone są w jedną grupę. Ze względu na właściwości alergogenne zostały uznane za jeden z ważniejszych alergenów grzybowych.

Abstract: *Aspergillus*/*Penicillium* spores have been noted as an important and prevalent group of fungal airspora worldwide. Their spores are similar in size, shape and colour so they cannot be recorded as separate genera by spore trapping and they are categorized under one group. It have subsequently been reported as having allergenic properties and have been implicated in the elicitation of respiratory allergic diseases.

Słowa kluczowe: aeroalergeny, *Aspergillus*, *Penicillium*, zarodniki, grzyby

Key words: aeroallergens, *Aspergillus*, *Penicillium*, spores, mould

Zarodniki grzybów są wszechobecnym i kosmopolitycznym składnikiem atmosfery. Około 150 odrębnych alergenów pochodzenia grzybowego zidentyfikowano w ciągu ostatnich 20 lat. Oprócz *Alternaria* i *Cladosporium* właśnie rodzaje *Aspergillus* i *Penicillium* są odpowiedzialne za reakcje alergiczne, a występują w środowisku zarówno zewnątrzdomowym, jak i wewnątrzdomowym. Zarodniki tych dwóch rodzajów są etiologicznymi czynnikami wywołującymi między innymi nieżyt nosa i objawy astmy oraz alergiczne reakcje krzyżowe.

W badaniach aerobiologicznych, podczas identyfikacji zarodników w mikroskopie świetlnym oba te rodzaje są praktycznie nie do rozróżnienia ze względu na duże podobieństwo rozmiaru, kształtu i koloru spor. Dlatego najczęściej łączone są w jedną grupę. Istnieją jednak subtelne różnice w wyglądzie zarówno zarodników, jak i całych kolonii.

Rodzaj *Aspergillus* składa się z około 160 gatunków. Kolonie zabarwione są na wszystkie odcienie zieleni: od bardzo jasnej (np. *Aspergillus glaucus*), przez żółtozieloną (np. *Aspergillus flavus*), do szarozielonej (np. *Aspergillus fumigatus*), oraz brązu: czarnobrazowy *Aspergillus niger*, brązowy *Aspergillus terreus*, żółtobrazowy *Aspergillus ochraceus*, i na białą (*Aspergillus candidus*). Konidiofory są wzniesione nad *mycelium*, ich wydłużona komórka „pęcznienie” na szczycie, a butelkowate końcówki produkują łańcuszki zarodników zwanych *konidiami*. Rozmiar tych zarodników to 3–7 µm, są albo bezbarwne, albo lekko zabarwione, w większości gładkie. Kształty spor są różnicowane: od kulistych, półkulistych, przez cylindryczne, w łańcuszkach albo rozproszone.

Rodzaj *Aspergillus* jest kosmopolityczny, występuje w zakresie temperatur 20–26°C. Gatunki ciepłolubne, np. *Aspergillus fumigatus*, mogą rosnać

nawet w temperaturze powyżej 50°C. Rodzaj ten często jest izolowany z kompostu (siana) i może atakować zwierzęta stałocieplne i ludzi. Często jest notowany w glebie w regionach tropikalnych i umiarkowanych oraz znajdowany na roślinach i ich szczątkach. Czasami może być izolowany z surowych tekstyliów, takich jak: bawełna, konopie czy juta. Często przy noszeniu ubrań produkowanych w bardzo prymitywnych warunkach (m.in. w Bangladeszu) można zaobserwować skórne reakcje alergiczne. Włókna juty podczas procesu przetwórczego w fabryce są poddawane tzw. „roszeniu”. Łodygi są wrzucane do wody, gdzie mogą zostać zaatakowane przez różne mikroorganizmy, wśród nich *Aspergillus*. Oprócz niepodważalnego aspektu alergicznego różne gatunki wytwarzają też mykotoksyny, np. alfatoksynę czy ochratoksynę. Mogą być one szkodliwe dla zwierząt hodowlanych, jeśli te zostaną nakarmione zainfekowaną paszą. Zawartość toksyn około 1 µg/kg ma wpływ na szczury. Niektóre gatunki tego grzyba mogą atakować takie narządy jak oczy, uszy czy płuca. Gatunki tego rodzaju wykazują szerokie spektrum enzymatyczne, produkując: pektynazy, amylazy, proteazy i aminoglukozy. Rodzaj ten jest również wykorzystywany do przemysłowej produkcji kwasu cytrynowego, która szacowana jest na blisko 90 milionów kilogramów rocznie.

Rodzaj *Penicillium* liczy około 220 gatunków i jest jednym z lepiej poznanych ze względu na właściwości wykorzystywane w produkcji antybiotyków. Kolonie są w większości zielonkawe lub zielone. Konidiofory produkują dużą liczbę konidiów o rozmiarze 2–5 µm, w długich, nierozgałęzionych łańcuszkach. Zarodniki są jednokomórkowe, bezbarwne albo lekko zabarwione na zielono, gładkie do nierównych, kuliste, wrzecionowate albo elipsoidalne.

Rodzaj ten jest wszechobecny i dominujący, zwłaszcza w glebach klimatu umiarkowanego. W przeciwieństwie do innych pospolitych gatunków pleśni *Penicillium* nie wykazuje sezonowości wewnątrz pomieszczeń, za to w środowisku zewnętrznym najwyższe stężenia zarodników notowane są wiosną i zimą, zarówno w miastach, jak i na wsiach.

Rodzaj ten najczęściej jest znajdowany na czerstwym chlebie, serach, owocach cytrusowych (*Penicillium italicum*) i jabłkach (*Penicillium expansum*). Rozwijając się na owocach i roślinach strączkowych, *Penicillium expansum* produkuje mykotoksynę (patulinę) działającą na wątrobę, płuca i mózg. Rodzaj ten infekuje między innymi mąkę ryżową i powoduje tzw. „zakażenie chleba” w wielu piekarniach przemysłowych.

Wtórne produkty metaboliczne opisywanego rodzaju miały rewolucyjne znaczenie w walce

z wieloma chorobami zakaźnymi, między innymi z zapaleniem płuc czy rzeżączką. Alexander Fleming przez przypadek zaobserwował, że kolonia zawierająca gatunek *Penicillium notatum* utrudnia wzrost *Staphylococcus aureus* zaszczerpionego na agarze w szalce Petriego. To pozwoliło odkryć antybiotyk – penicylinę. Systematyczne badania innych gatunków z tego rodzaju wykazały, że większość produkowanych przez nie antybiotyków jest zbyt toksyczna, żeby można je było zastosować w praktyce. Tylko dwa gatunki – *Penicillium notatum* i *Penicillium chrysogenum* – są wykorzystywane do produkcji antybiotyku. Należałoby również wspomnieć o dwóch ważnych gatunkach, *Penicillium roqueforti* i *Penicillium camemberti*, używanych do produkcji popularnych serów pleśniowych – roquefort i camembert.

Oba rodzaje do wzrostu grzybni i zarodnikowania potrzebują wilgoci. Mogą występować na wilgotnych kłodach drewna, deskach, wiórach i trocinach, które można znaleźć w tartakach [3]. W środowisku wewnątrzdomowym wysokie koncentracje obu rodzajów były notowane w bibliotekach [21], młynach [13], piekarniach [20] i szkołach [10].

W artykułach aerobiologicznych oba rodzaje, *Aspergillus* i *Penicillium*, wymieniane są jako istotny i liczny składnik aeroplanktonu.

W Dublinie (Irlandia) zarodniki *Penicillium* są obecne w powietrzu przez cały rok. Od czerwca zanotowano ich wyraźny wzrost. Rodzaj ten był drugi pod względem liczebności w powietrzu Dublina, a udział jego spor w ogólnej liczbie notowanych zarodników wyniósł około 7%. W całej Wielkiej Brytanii zarodniki tego typu stanowiły około 12% powietrznej mykoflory [7, 17]. Przeciwna sytuacja była notowana w Meksyku, gdzie zarodniki tego rodzaju były notowane w niskich stężeniach [19]. Zarodniki rodzaju *Aspergillus* w atmosferze Dublina notowane były przez cały rok, a wyraźny wzrost ich liczby wystąpił w marcu, czerwcu, sierpniu i listopadzie [14]. W Wielkiej Brytanii stężenie zarodników tego typu nieznacznie wzrastało jesienią [12]. Podobna sytuacja wystąpiła w Hiszpanii, między innymi w Kordobie [4, 8]. W Alpach austriackich znaczne skoki stężeń tego rodzaju wystąpiły w marcu i sierpniu [2]. Na Tajwanie (miasto Hualien) połączone rodzaje *Aspergillus/Penicillium* były drugą co do liczebności grupą zarodników notowaną podczas trzyletniego monitoringu aerobiologicznego [6]. W cyklu dobowym dla tej grupy najwyższe koncentracje zanotowano około północy [6]. W prowincji Palakkad (Indie) oba połączone rodzaje wystąpiły w najwyższych stężeniach w kwietniu (1350 z/m³), a w najniższych w lutym (230 z/m³) [16].

W Kopenhadze (Dania) rodzaj *Penicillium* był trzeci pod względem liczby zarodników w powietrzu i stanowił 2,5% całej mykoflory, a najwyższe stężenia notowano w październiku i listopadzie. Czwartym w kolejności był rodzaj *Aspergillus*, który stanowił 0,8% aeroplanktonu grzybowego, a jego najwyższe stężenia wystąpiły w listopadzie i grudniu [9].

W Portugalii monitoring aerobiologiczny prowadzony w dwóch regionach (miejskim i wiejskim) przez Oliveira i wsp. [15] wykazał różnice w wysokości stężeń i cyklach rocznych oraz dobowych. W mieście (Porto) stężenie obu rodzajów było raczej niskie, a najwyższe koncentracje zanotowano pod koniec roku, w październiku i listopadzie. Najwyższe koncentracje dobowe zaobserwowano po południu, między godziną 16.00 a 19.00, i w nocy, między 3.00 a 5.00 rano. W regionie wiejskim (Amares) stężenia obu rodzajów były bardzo wysokie w dwóch porach roku: jesienią (w październiku i listopadzie) i wiosną (w kwietniu i maju). Stężenia dobowe osiągnęły najwyższe wartości po południu, od godziny 16.00 do 19.00, i w nocy, między północą a 2.00. Na Tajwanie najwyższe stężenia obu rodzajów zanotowano około północy [6]. Rosas i wsp. [18] zaobserwowali najwyższe wartości stężeń rodzaju *Aspergillus* w październiku i podczas zimy. Ten sam autor [19] podczas prowadzenia badań w strefie tropikalnej nie zanotował wyraźnych różnic w liczbie zarodników *Penicillium* między sezonem suchym a deszczowym oraz w zależności od stopnia urbanizacji regionów.

W kilku pracach dotyczących monitoringu aerobiologicznego wykonano analizy zależności obu rodzajów od czynników meteorologicznych. W Irlandii dla analiz wykonanych metodą redundacyjną (CANOCO) wilgotność względna była pozytywnie skorelowana z liczbą zarodników w powietrzu [14]. Podobne wyniki uzyskali Wu i wsp. [22] w Tajpej. Jednak nie ma w literaturze jasnego opisu jakościowego wpływu wilgotności względnej na stężenie spor. Z kolei Rosas i wsp. [19], Li i Kendrick [11] oraz Ho i wsp. [6] zanotowali negatywną korelację dla tego samego parametru.

O’Gorman i wsp. [14] zaobserwowali także istotny wpływ wiatru na stężenia obu rodzajów, który według autorów przyczynia się do uwalniania zarodników do atmosfery.

Jednym z ważniejszych parametrów meteorologicznych, mających silny wpływ na obecność zarodników w powietrzu oraz wysokość ich dobowych i rocznych stężeń, jest temperatura. Jej wpływ na koncentrację *Aspergillus/Penicillium* w powietrzu i korelację z nią wielokrotnie analizowano w wielu publikacjach.

Tylko jeden autor zanotował statystycznie istotną korelację dla tego czynnika [1]. Pozostali nie zanotowali statystycznie istotnego związku między tymi zmiennymi [5, 6, 11, 14, 15].

Wpływ czynników meteorologicznych na obecność zarodników *Aspergillus/Penicillium* w powietrzu oraz na ich cykl życiowy nie został jeszcze dokładnie opisany w literaturze aerobiologicznej. Prawdopodobnie, tak jak w przypadku innych rodzajów grzybów, także i tu ważne są jeszcze inne parametry, takie jak: obecność materiałów niezbędnych do wzrostu grzybni czy typ klimatu panującego w danym regionie. Dalsze badania są niezbędne, żeby w pełni zrozumieć skomplikowane relacje między obecnością zarodników w powietrzu a objawami astmy.

Piśmiennictwo:

1. Adhikari A., Reponen T., Grinshpun S.A., Martuzevicius D., LeMasters G.: Correlation of ambient inhalable bioaerosols with particulate matter and ozone: A two-year study. *Environmental Pollution* 2006, 140: 16-28.
2. Ebner M.R., Haselwandter K., Frank A.: Seasonal fluctuations of airborne fungal allergens. *Mycological Research* 1989, 92: 170-176.
3. Grant C., Hunter C.A., Flannigen B., Bravery A.F.: The moisture requirements of moulds isolated from domestic dwellings. *Inter. Bioder.* 1989, 25: 259-284.
4. Guinea J., Peláez T., Alcalá L., Bouza E.: Outdoor environmental levels of *Aspergillus* spp. conidia over a wide geographical area. *Medical Mycology* 2006, 44: 349-356.
5. Hasnain S.M.: Influence of meteorological factors on the air spora. *Grana* 1993, 32: 184-188.
6. Ho H.M., Rao C.Y., Hsu H.H., Chiu Y.H., Liu Ch.M., Chao H.J.: Characteristics and determinants of ambient fungal spores in Hualien, Taiwan. *Atmospheric Environment* 2005, 39: 5839-5850.
7. Hyde H.A., Williams D.A.: A census of mould spores in the atmosphere. *Nature* 1949, 164: 668-669.
8. Infante F., Angulo J., Dominquez-Vilchez E., Galán C., Mediavilla A., Trujillo D.: Presence of *Aspergillus* Mich. Ex Fr. In several different biotopes in Córdoba (Spain). *Aerobiologia* 1995, 11: 137-143.
9. Larsen L., Gravesen S.: Seasonal variation of outdoor airborne viable microfungi in Copenhagen, Denmark. *Grana* 1991, 30: 467-471.
10. Levetin E., Shaughnessy R., Fisher E., Ligman B., Harrison J., Brennan T.: Indoor air quality in schools: exposure to fungal allergens. *Aerobiologia* 1995, 11: 27-34.

11. Li D.W., Kendrick B.: *A year-round outdoor aeromycological study in Waterloo, Ontario, Canada. Grana* 1995, 34: 199-207.
12. Millington W., Corden J.: *Long term trends in outdoor Aspergillus/Penicillium spore concentration in Derby, UK from 1970 to 2003 and comparative study in 1994 and 1996 with indoor air of two local houses. Aerobiologia* 2005, 21: 105-113.
13. Misra J.K., Jamil Z.: *fungi in the indoor environment of flour mills in lucknow and the allergenic behavior of some aspergilli. Grana* 1991, 30: 398-403.
14. O'Gorman C.M., Fuller H.T.: *Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. Atmospheric Environment*. 2008, 42: 4355-4368.
15. Oliveira M., Ribeiro H., Delgado J.L., Abreu I.: *The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanization level. Aerobiologia* 2009, 53: 61-73.
16. Padmanabhan S.J., Themath S.N.: *Airborne fungal spores in sawmill environment in Palakkad District, Kerala, India. Aerobiologia* 2004, 20: 75-81.
17. Richards M.: *A census of mould spores in the air over Britain in 1952. Transactions of The British Mycological Society* 1956, 39: 431-441.
18. Rosas I., Escamilla B., Calderon C., Mosiño P.: *The daily variations of airborne fungal spores in Mexico City. Aerobiologia* 1990, 6: 153-158.
19. Rosas I., Calderon C., Ulloa M., Lacey J.: *Abundance of airborne penicillium CFU in relation to urbanization in Mexico City. Appl. Environ. Microbiol.* 1993, 58: 2648-2652.
20. Singh A., Singh A.B.: *Airborne fungi in a bakery and the prevalence of respiratory dysfunction among workers. Grana* 1994, 33: 349-358.
21. Vittal B.P.R., Glory L.A.: *Airborne fungal spores of a library in India. Grana* 1985, 24: 129-132.
22. Wu Y.H., Chan C.C., Rao C.Y., Lee C.T., Hsu H.H., Chiu Y.H., Chao H.J.: *Characteristics, determinants, and spatial variations of ambient fungal levels in the subtropical Taipei metropolis. Atmospheric Environment* 2007, 41: 2500-2509.

Adres do korespondencji:

dr Agnieszka Grinn-Gofroń

Katedra Taksonomii Roślin i Fitogeografii Uniwersytetu Szczecińskiego