

Analiza stężenia zarodników *Aspergillus* w powietrzu budynku dydaktycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w 2012 roku

The analysis of *Aspergillus* spore count in indoor air of academic buildings Medical University in Białystok in 2012

mgr Natalia Rogoż², dr hab. Bożena Kiziewicz¹, mgr Ewa Zdrojowska²

¹ Zakład Biologii Ogólnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
Kierownik: dr hab. Bożena Kiziewicz

² Studia doktoranckie, Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie: W pracy przedstawiono wyniki badań powietrza przeprowadzonych w lutym 2012 r. w sali wykładowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, wzięto pod uwagę zwłaszcza obecność zarodników grzybów z rodzaju *Aspergillus*. Pomiarów ich stężenia prowadzono metodą zderzeniową przy użyciu aparatu MicroBio1 MB oraz metodą sedymentacyjną Kocha z użyciem podłoża hodowlanego PDA i Sabourauda w oparciu o wskazówki zawarte w Polskiej Normie [9] oraz w normach Krzysztofika [13]. Najczęściej izolowanymi gatunkami grzybów były: *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavus* oraz *Aspergillus fumigatus*. Gatunki te są potencjalnie toksynotwórcze oraz mogą oddziaływać negatywnie na zdrowie człowieka.

Abstract: The paper presents results of air, with particular emphasis on the role of *Aspergillus* spores, which carried the February 2012 in lecture hall Medical University in Białystok. Measurements of concentrations of *Aspergillus* spores were carried by collision with the camera MicroBio1 MB and sedimentation method by Koch, with using a PDA and Sabourauda Agar culture medium according to the Polish Standard [9] and Krzysztofik Standards [13]. The species most isolated were: *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*. These species are potentially toxinogenic fungi and can have an adverse effect on health humans.

Słowa kluczowe: grzyby toksynotwórcze, *Aspergillus*, luty 2012

Key words: toxinogenic fungi, *Aspergillus*, February 2012

Wstęp

W powietrzu obecnym w pomieszczeniach, gdzie pracują lub mieszkają ludzie, znajduje się wiele niebezpiecznych organizmów, m.in. zarodniki grzybów i wytwarzane przez nie metabolity. Stanowią one zagrożenie dla zdrowia ludzkiego. Zgodnie z definicją do „biologicznych czynników zagrożenia zawodowe-

go” lub „biologicznych czynników szkodliwych dla zdrowia występujących w środowisku pracy” zalicza się mikroorganizmy i makroorganizmy oraz wytwarzane substancje i struktury, które niekorzystnie oddziałują na organizm człowieka i mogą się przyczyniać do różnego rodzaju chorób zawodowych. Do czynników tych należą czynniki: zakaźne, alergizujące, toksycz-

ne i rakotwórcze. Dotychczas zidentyfikowano ok. 622 czynniki biologiczne (w nawiasach podano liczbę zidentyfikowanych czynników biologicznych), wśród których można wyróżnić pięć dużych grup. Pierwszą stanowią priony i wirusy (138), do drugiej należą bakterie (181). Kolejne grupy to czynniki roślinne (77) oraz czynniki zwierzęce (152). Do ostatniej, piątej grupy włączone zostały grzyby, które aż w blisko 70% zanieczyszczają powietrze (74) [1]. Biologiczne czynniki, zwłaszcza zarodniki grzybów lub inne ich struktury, mogą się przedostać do organizmu człowieka przez uszkodzone błony śluzowe, skórę i rogówkę oka różnymi drogami: płciową, pokarmową i inhalacyjną. Najczęściej jednak dochodzi do przedostania się do organizmu człowieka zarodników grzybów drogą inhalacyjną. W ciągu minuty wdychamy i wydychamy ok. 10 l powietrza. Jeden litr powietrza zewnętrznego, pozornie czystego, może zawierać nawet do 24 zarodników grzybów, a także komórki bakterii oraz cząsteczki pyłów, które są niezauważalne dla ludzkiego oka. Dlatego jakość powietrza, którym oddychamy, ma ogromny wpływ na nasze samopoczucie, zdrowie oraz komfort pracy. Stałe przebywanie w zanieczyszczonych pomieszczeniach oraz duża ekspozycja na zarodniki mogą prowadzić do różnego rodzaju schorzeń, m.in. chorób układu oddechowego, alergii, ogólnego przemęczenia, braku koncentracji i bólów głowy. Dlatego też niezbędna jest stała kontrola czystości powietrza w pomieszczeniach, w których przez długi czas przebywają ludzie. Z punktu widzenia alergologii i epi-

demiologii od 5% do 80% pacjentów z alergią wziewną wykazuje nadwrażliwość na alergeny grzybów [2]. Grzyby z rodzaju *Aspergillus* bardzo często izolowane są z powietrza pomieszczeń zamkniętych oraz z powietrza zewnętrznego. Stwierdzono, że *Aspergillus* zdolny jest do wydzielania w dużych ilościach różnych lotnych związków organicznych, tzw. MVOC, substancji wonnych, licznych zewnątrzkomórkowych polisacharydów (EPS), a także mikotoksyn. Znanych jest ok. 400 rodzajów mikotoksyn, które mogą wywoływać u ludzi zmiany chorobowe o charakterze zarówno ostrym, jak i przewlekłym. Do najważniejszych i najczęściej wytwarzanych przez grzyby należą: ochratoksyna A, aflatoksyna, fumonizydy, zearalenon i trichoteceny (tab. 1) [3].

Grzyby z rodzaju *Aspergillus* powodują schorzenia pneumologiczne w zależności od odporności atakowanego organizmu i stopnia inwazyjności, m.in. schorzeń alergicznych, do których zaliczana jest alergiczna aspergiloza oskrzelowo-płucna (AAOP) czy też zewnątrzpochoodne zapalenie pęcherzyków płucnych (ZZPP), astma oraz inwazyjna grzybica płuc [4–6]. *Aspergillus fumigatus* należy do najważniejszych gatunków grzybów pleśniowych wywołujących u pacjentów z neutropenią grzybicę narządową. Jest on także źródłem narażenia zawodowego na ZZPP u zatrudnionych w przemyśle tytoniowym (płuco tytoniowe) [7]. Zawisza i wsp. [8] podają, że *Aspergillus fumigatus* jest jednym z najbardziej złożonych alergenów wziewnych. Jak dotąd opisano ponad 70 alergenów z tego gatunku,

Tabela 1. Wykaz mikotoksyn wytwarzanych przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* oraz wpływ na organizm człowieka.

Toksyna	Nazwa gatunkowa grzyba	Wpływ na organizm
Aflatoksyny	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Działanie: hepatotoksyczne, rakotwórcze, neurotoksyczne, wywołujące schorzenia skórne
Ochratoksyny	grupa <i>Aspergillus ochraceus</i>	Działanie: hepatotoksyczne, nefrotoksyczne, wywołujące uszkodzenia skóry i błon śluzowych, uszkodzenia układu krwiotwórczego lub naczyń krwionośnych
Sterigmatocystyna	<i>Aspergillus versicolor</i> <i>Aspergillus nidulans</i>	Rakotwórcza/hepatotoksyczna
Kwas penicylowy	grupa <i>Aspergillus ochraceus</i>	Działanie: rakotwórcze, hepatotoksyczne, neurotoksyczne
Gliotoksyna	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus terreus</i>	Uszkodzenia układu krwiotwórczego lub naczyń krwionośnych, działanie nefrotoksyczne i neurotoksyczne
Patulina	<i>Aspergillus terreus</i> <i>Aspergillus clavatus</i>	Działanie neurotoksyczne, powoduje uszkodzenia układu krwiotwórczego lub naczyń
Penitrem A,B i C Vorruculogen Paksylina Flavus-tremorgen Fumi-tremorgen	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus flavus</i>	Działanie neurotoksyczne, tremorgenne

wśród nich znajduje się *Asp 1*. Konidia *Aspergillus flavus* stanowią groźny czynnik powodujący infekcje dróg oddechowych – aspergilozy: grzybniaka krodplakowego płuc, aspergilozę alergiczną oskrzelowo-płucną u osób z obniżoną odpornością immunologiczną spowodowaną stresem, zakażeniem HIV i tym podobne. Mogą być także przyczyną zakażenia tkanek podczas transplantacji. Z kolei *Aspergillus candidus* powoduje łagodne, powierzchniowe i nieinwazyjne zakażenia [8].

Cel pracy

Celem pracy była analiza stężenia zarodników grzybów z rodzaju *Aspergillus* w powietrzu audytorium Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w 2012 r.

Materiały i metody

Badania dotyczące koncentracji i składu gatunkowego zarodników grzybów w powietrzu audytorium Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku prowadzono w lutym 2012 r. na dwóch poziomach pomieszczenia: P₀ (poziom niższy) i P₁ (poziom wyższy), odpowiednio na wysokości 700 cm i 1800 cm od powierzchni gruntu. Do izolowania i hodowli grzybów wykorzystano płytki Petriego o średnicy 0,90 cm z podłożem PDA (Potato Dextrose Agar) i podłożem Sabourauda. Próbkę do badań były pobierane trzy razy w tygodniu. Zastosowano dwie różne metody: metodę sedymentacyjną Kocha i metodę zderzeniową z wykorzystaniem aparatu MicroBio1 MB. W metodzie sedymentacyjnej Kocha płytki Petriego z odpowiednim podłożem agarowym wystawiono na ekspozycję półgodzinną i godzinną. Natomiast w metodzie zderzeniowej wykorzystano aparat MicroBio1 MB, który był zaprogramowany na pobranie próbki powietrza o objętości 100 l. Podczas badań drzwi i okna w sali wykładowej były zamknięte. W celu określenia liczby kolonii grzybów płytki Petriego inkubowano do 10 dni w temperaturze 26°C. W metodzie sedymentacyjnej Kocha do oznaczenia ogólnej liczby zarodników grzybów w powietrzu zastosowano wzór Omeliańskiego w modyfikacji Gogoberidze, wynik wyrażono liczbą jednostek koloniotwórczych (JTK), w przeliczeniu na 1 m³ powietrza [9].

$$L = A \times 100 \times 100/P \times k$$

Oznaczenia:

L – liczba drobnoustrojów (JTK/m³); A – średnia liczba kolonii na płytkach Petriego; P – powierzchnia płytki (cm²); k – współczynnik zależny od czasu ekspozycji: k = 1 dla 5 minut, k = 2 dla 10 minut..., k = 6 dla 30 minut..., k = 12 dla 60 minut.

Natomiast w metodzie zderzeniowej wyniki przeliczono zgodnie z zasadami statystyki z użyciem programu komputerowego i tabeli konwersji wyników. Identyfikację gatunków grzybów przeprowadzono na podstawie obserwacji makro- i mikroskopowych oraz przy pomocy kluczy [10, 11].

Wyniki i omówienie wyników

Wyniki badania mikologicznego powietrza wewnątrz budynku dydaktycznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku przedstawiono w tabelach 2, 3 i 4 oraz na rycinach 1 i 2. Analiza wyników uzyskanych z badań przeprowadzonych w lutym 2012 r. przy zastosowaniu metody zderzeniowej z wykorzystaniem aparatu MicroBio1 MB oraz metody Kocha (czas eks-

Rycina 1. *Aspergillus fumigatus* – zdjęcie własne spod mikroskopu świetlnego (powiększenie 400 razy).



Rycina 2. *Aspergillus candidus* – zdjęcie własne spod mikroskopu świetlnego (powiększenie 400 razy).

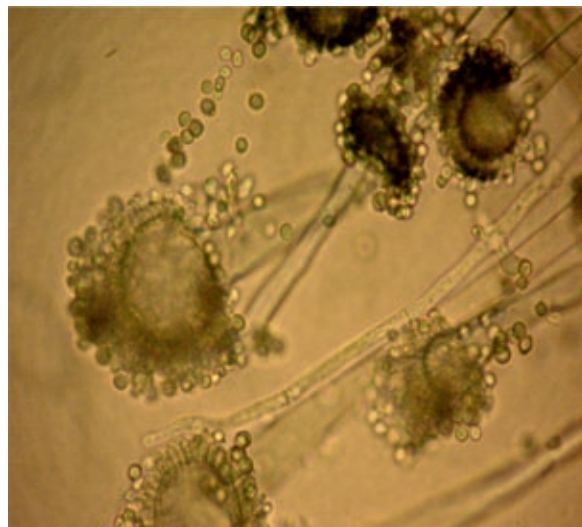


Tabela 2. Stężenie zarodników grzybów w powietrzu w badanym pomieszczeniu. *MicroBio1 MB.*

Nazwa gatunkowa	Data poboru próbek powietrza																						
	1.02	5.02	8.02	10.02	13.02	15.02	17.02	20.02	22.02	24.02	27.02	29.02											
	Poziom poboru próbek powietrza																						
	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	
	Stężenie zarodników grzybów w powietrzu (JTK/m ³)																						
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	-	-	20	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus candidus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	10	-	10	-	-	-	-	-	-	-	10

Tabela 3. Stężenie zarodników grzybów w powietrzu w badanym pomieszczeniu. *Metoda Kocha, czas ekspozycji 30 minut.*

Nazwa gatunkowa	Data poboru próbek powietrza																						
	1.02	5.02	8.02	10.02	13.02	15.02	17.02	20.02	22.02	24.02	27.02	29.02											
	Poziom poboru próbek powietrza																						
	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	
	Stężenie zarodników grzybów w powietrzu (JTK/m ³)																						
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	26	-	-	26	26	-	-	52	26	-	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus candidus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4. Stężenie zarodników grzybów w powietrzu w badanym pomieszczeniu. *Metoda Kocha, czas ekspozycji 60 minut.*

Nazwa gatunkowa	Data poboru próbek powietrza																						
	1.02	5.02	8.02	10.02	13.02	15.02	17.02	20.02	22.02	24.02	27.02	29.02											
	Poziom poboru próbek powietrza																						
	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	
	Stężenie zarodników grzybów w powietrzu (JTK/m ³)																						
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	13	-	-	-	-	-	-	105	79	-	-	-	26	13	-	-	-	-	13	-	-	26
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus candidus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	52	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-

pozycji 30 i 60 minut) wskazuje na obecność zarodników *Aspergillus* w stężeniach nieprzekraczających 200 JTK/m³ [12]. Największe zanieczyszczenie powietrza zarodnikami *Aspergillus* było 13 lutego 2012 r. na poziomie P₀, a koncentracja zarodników w powietrzu audytorium wynosiła 52 JTK/m³ i 105 JTK/m³ w czasie ekspozycji odpowiednio 30 i 60 minut. Nie przekroczyła jednak dopuszczalnej, proponowanej przez Krzysztofika [13], normy, która wynosi 5000 JTK/m³. Stężenie zarodników w powietrzu sali wykładowej zimą 2012 r. wahało się między 10 a 105 JTK/m³. Wykazano różnice w koncentracji zarodników grzybów w powietrzu audytorium po zastosowaniu dwóch różnych metod izolacji. Znacznie większą koncentrację zarodników w 1 m³ powietrza stwierdzono metodą sedymentacyjną niż metodą zderzeniową. Natomiast nie występowały różnice pod względem składu gatunkowego grzybów izolowanych w sali wykładowej. Obie metody ujawniły te same gatunki grzybów z rodzaju *Aspergillus*. Przez cały okres badań stężenie zarodników *Aspergillus* w próbkach powietrza na poziomie P₁ pomieszczenia było nieco wyższe aniżeli na poziomie P₀. Według wyników badań przeprowadzonych w wiodących światowych ośrodkach badawczych do grzybów, które najczęściej występują w powietrzu pomieszczeń zamkniętych, należą: *Aspergillus*, *Penicillium* i *Cladosporium*. Zawartość zarodników grzybów w powietrzu wewnętrznym uzależniona jest od wielu czynników środowiskowych. Ejdyś [14] podaje, że do najważniejszych należą: ruchy aerozolu spowodowane poruszaniem się osób, wiatrem lub wymuszoną wentylacją. Krzysztofik [13] z kolei uważa, że obiekty biurowe i mieszkalne stwarzają specyficzny mikroklimat, w którym na czystość mikrobiologiczną powietrza mają znaczny wpływ: ludzie, obecne meble i inny sprzęt, wilgotność, temperatura oraz rodzaj wentylacji. W próbkach powietrza pobranych w sali wykładowej Uniwersytetu Medycznego stwierdzono zimą 2012 r. obecność 3 gatunków grzybów z rodzaju *Aspergillus*: *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavus* i *Aspergillus fumigatus*. Przez cały okres badawczy oznaczano w powietrzu pomieszczenia *Aspergillus fumigatus*, który uznano za gatunek dominujący. Spośród grzybów pleśniowych występujących w powietrzu badanego audytorium gatunki *Aspergillus flavus* i *Aspergillus fumigatus* znajdują się w wykazie szkodliwych czynników biologicznych w miejscu pracy [15]. Zgodnie z definicją czynniki te mogą wywoływać u ludzi niebezpieczne choroby o podłożu alergicznym. Podobnie jak w uzyskanych przez nas wynikach w miejscowości Derby w Wielkiej Brytanii w powietrzu pomieszczeń zamkniętych w okresie zimowym również wykazano

dominację zarodników grzybów z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium* [16].

Wnioski

1. W badanym powietrzu audytorium najczęściej występowały grzyby wewnątrzdomowe z rodzaju *Aspergillus*, zwłaszcza gatunek *Aspergillus fumigatus*, który ma działanie toksynotwórcze i alergenne.
2. Koncentracja zarodników grzybów w powietrzu audytorium nie przekroczyła stężenia progowego.
3. W badanym okresie wykazano zróżnicowane stężenia zarodników rodzaju *Aspergillus*.
4. Znacznie większą koncentrację zarodników grzybów w powietrzu audytorium stwierdzono podczas stosowania metody sedymentacyjnej niż podczas stosowania metody zderzeniowej.

Piśmiennictwo:

1. Płaskowska E., Ogórek R., Korol M.: Grzyby występujące w pomieszczeniach klimatyzowanych. Część I. Mikol. Lek. 2011, 18(4): 178-186.
2. Pałczyński C., Wiszniewska M., Walusiak J.: Pleśnie jako alergen zawodowy. Alergia 2007, 4: 28-32.
3. Dyląg M., Bień M.: Negatywne zjawiska związane z obecnością grzybów w pomieszczeniach zamkniętych. Mikol. Lek. 2006, 13(1): 49-54.
4. Tillie-Leblond I., Tonnel A.B.: Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Allergy 2005, 60: 1004-1013.
5. Lipiec A., Jurkiewicz D., Rapijko P.: Mould hypersensitivity in allergic rhinitis patients. Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol. 2000, 6(2): 57.
6. Kauffman H.F., Tomez J.F.C.: Defense mechanisms of the airways against *Aspergillus fumigatus*: role of invasive aspergillosis. W: Fungal Allergy and Pathogenicity. Brietenbach M., Cramer R., Lehrer S.B. (red.). Kaerger, 2002.
7. Jahnz-Rózyk K.: Wprowadzenie do alergii na antygeny grzybów pleśniowych. Pol. Merk. Lek. 2008, XXIV(Suppl. 1): 7.
8. Zawisza E., Bardadin J., Wiśliński P. et al.: Zapalenie alergiczne i niealergiczne wywołane kontaktem z grzybami. Alergia 2007, 4: 16-20.
9. Polska Norma PN-89/Z-04111/03 Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Postanowienia ogólne i zakres normy. Polski Komitet Normalizacji Miar i Jakości, Warszawa 1989.
10. Fassiatova O.: Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1983.
11. Baran E.: Zarys mikologii lekarskiej. Volumes, Wrocław 1998: 38-233.

12. Górny R.L.: *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych. Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2004, 3(41):17-39.
13. Krzysztofik B.: *Mikrobiologia powietrza. Wydawnictwa Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1992.*
14. Ejdys E.: *Wpływ powietrza atmosferycznego na jakość bioaerozolu pomieszczeń szkolnych w okresie wiosennym i jesiennym – ocena mikologiczna. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych 2009, 41.*
15. *Dziennik Ustaw z 2005 r. nr 81, poz. 716.*
16. Millington W.M., Corden J.M.: *Long term trends in outdoor Aspergillus/Penicillium spore concentrations in Derby, UK*

from 1970 to 2003 and a comparative study in 1994 and 1996 with the indoor air of two local houses. Aerobiologia 2005, 21(1): 105.

Wkład pracy autorów/Authors contributions:
według kolejności

Adres do korespondencji:

dr hab. Bożena Kiziewicz
Zakład Biologii Ogólnej, Uniwersytet Medyczny
w Białymstoku
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2C
e-mail: biollek@umb.edu.pl