

Mikroskopiniai grybai gyvenamosiose patalpose

Lina Šidlauskaitė, Jurgita Švedienė, Vita Raudonienė

Gamtos tyrimų centras

Gyvenamųjų patalpų oro kokybė svarbiausias aplinkos veiksnys įtakojantis kiekvieno žmogaus gyvenimo kokybę. Žmogus kasdien įkvepia 10 m^3 ir apie 80–95% laiko praleidžia uždaroje ir prastai vėdinamose patalpose. Tokių patalpų ore gausu įvairių dalelių – dulkių, epitelio ląstelių, dulkių erkių mikroskopinių grybų. Mikroskopiniai grybai yra aptinkami ant lubų, izoliacinių medžiagų, tapetų, kilimų ir t.t.

Tyrimų tikslas – nustatyti Vilniaus miesto gyvenamųjų patalpų aplinkoje dominuojančius mikroskopinius grybus. Mėginiai Vilniaus mieste buvo renkami 2014 m. lapkričio – 2015 m. gegužės mėnesiais. Atsitiktiniu būdu pasirinkta 11 butų ir kiekviename jų tirtos trys patalpos – virtuvė, koridorius ir gyvenamasis kambarys. Gyvenamųjų patalpų oras siurbiamas „Krotov 818“ aparatu, o paviršiaus mėginiai imti tepinėlių metodu.

Tirtose gyvenamosiose patalpose Vilniaus mieste, didžiausias užterštumas mikroskopiniais grybais nustatytas virtuvėse – nuo $(1,9\pm 0,6)\times 10^3$ iki $(3,1\pm 0,3)\times 10^4$ mažiausias gyvenamuosiuose kambariuose – nuo $(1,3\pm 0,1)\times 10^2$ iki $(2,0\pm 0)\times 10^4$ KSV/m³. Išskirta ir identifikuota 190 padermių, kurios priklauso 24 mikroskopinių grybų gentims. Gyvenamųjų patalpų oro ir paviršiaus mėginiuose dominavo mikroskopiniai grybai priklausantys *Aspergillus*, *Penicillium* ir *Cladosporium* gentims.

Mikroskopiniai grybai, oras, paviršiai, užterštumas

Įvadas

Gyvenamųjų patalpų oro kokybė svarbiausias aplinkos veiksnys įtakojantis kiekvieno žmogaus gyvenimo kokybę. Žmogus kasdien įkvepia 10 m^3 ir apie 80–95% laiko praleidžia uždaroje, prastai vėdinamose patalpose (Cabral, 2010). Tokių patalpų aplinkoje gausu įvairių dalelių – dulkių, epitelio ląstelių, dulkių erkių, mikroskopinių grybų. Gyvenamosiose patalpose mikroskopiniai grybai gali būti aptinkami ant lubų, izoliacinių medžiagų, tapetų, kilimų ir pan. Mikroskopiniai grybai esantys žmogų supančioje aplinkoje produkuoja gausybę lengvai pasklindančių sporų, kurių dydis nuo 2–10 μm bei įvairių kitų junginių, kurie gali neigiamai įtakoti sveikatą. Sporos gali ilgai išsilaikyti ore ir žmogui kvėpuojant pakliūna į kvėpavimo sistemą (WHO, 2010).

Gyvenamųjų patalpų tarša mikroskopiniais grybais dažniausiai siejama su drėgmės kondensacijos problemomis, kurias sukelia ventiliacijos trūkumas (Hoekstra ir kt., 1994). Patalpų drėgnumui a_w svyruojant tarp 0,8 ir 0,98, o temperatūrai tarp 10–35°C, susidaro palanki terpė mikroskopiniams grybams augti. Šių dienų technologijos oro šildytuvai, sausintuvai, drėkintuvai bei kondicionieriai taip pat gali sudaryti tinkamą terpę mikroskopiniams grybams augti ir plisti (Madsen ir kt., 2005).

Lietuvoje gyvenamųjų ir darbo patalpų ore bei dulkėse aptikta apie 400 mikroskopinių grybų rūšių (Krikštaponis, 2000, Lugauskas ir kt., 2000, 2003). Gyvenamosiose patalpose dominuoja *Aspergillus* (*A. brasiliensis*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. versicolor*) ir *Penicillium* (*P. notatum*, *P. expansum* ir kt.), *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Aureobasidium* ir *Stachybotrys* genčių rūšys (Gutarowska ir kt., 2007).

Tyrimų tikslas – nustatyti Vilniaus miesto gyvenamųjų patalpų aplinkoje dominuojančius mikroskopinius grybus.

Tyrimų metodika

Gyvenamųjų patalpų oro mėginiai buvo renkami Vilniaus mieste 2014 m. lapkričio – 2015 m. gegužės mėnesiais. Atsitiktiniu būdu pasirinkta 11 butų. Tirtos

patalpos Vilniaus miesto mikrorajonuose: Antakalnis, Fabijoniškės – po 2 butus, Justiniškės, Naujamiestis, Pilaite, Senamiestis, Šnipiškės, Užupis, Žirmūnai – po 1 butą. Kiekviename bute pasirinktos 3 patalpos – virtuvė, koridorius ir gyvenamasis kambarys. Gyvenamųjų patalpų oro mėginiai buvo imami aspiraciniu metodu, siurbiant orą specialiu prietaisu „Krotov 818“. Į prietaisą dedama Petri lėkštelė (90 mm skersmens) su agarizuota salyklo terpe su chloramfenikoliu (0,1 g/l). Dalelės, kartu su oru, traukiamos pro siaurą plyšį, įgauna pagreitį ir yra nukreipiamos į terpę užpildytos Petri lėkštelės paviršių, prie kurio prilimpa. Oro surinkimo metu aparate esanti lėkštelė su terpe sukasi 60–100 aps./min greičiu. Tai užtikrina tolygų mikroskopinių grybų pradų pasiskirstymą terpės paviršiuje. Oras išmetamas pro specialų vamzdelį, sujungtą su manometru, rodančiu praėjusio pro aparatą oro kiekį. Darbo intensyvumas 25 dm³/min, darbo laikas 2 min. Lėkštelė išimama iš aparato, laikoma termostate 26±1°C temperatūroje 4–5 paras. Praėjus nustatytam laikui skaičiuojamos išaugusios mikroskopinių grybų kolonijos. Mikroskopinių grybų pradų koncentracija gyvenamųjų patalpų ore išreiškiama kolonijas sudarančių vienetų (KSV) skaičiumi/m³ oro.

$$x = \frac{a \cdot 1000}{v \cdot t}, \quad (1)$$

čia x – mikroskopinių grybų kolonijas sudarančių vienetų skaičius, KSV/m³;
 a – mikroskopinių grybų kolonijų, išaugusių Petri lėkštelėje skaičius;
 v – prietaiso siurbimo našumas, dm³/min;
 t – siurbimo laikas, min.

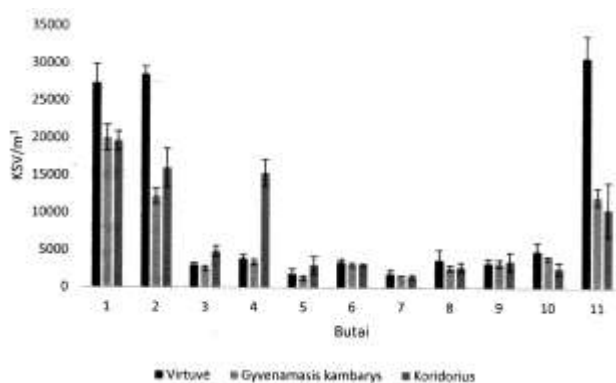
Gyvenamųjų patalpų paviršių mėginiai imami iš tų pačių patalpų, kaip ir oro mėginiai. Paviršiaus mėginiai imami iš 3 skirtingų patalpos vietų tepinėlio metodu. Tam tikro dydžio rėmelis (10 cm² ploto) dedamas ant tiriamo paviršiaus ir nuvalomas tamponu, kuris vėliau dedamas į sterilų buteliuką. Vėliau laboratorijoje į buteliukus pilama po 10 ml sterilus vandens. Buteliukai purtomi kratyklėje esant 270 aps./min – 10 min. Pirmas skiedimas atitinka 1:10. Gauta suspensija dešimkarčiu skiedimo modeliu skiedžiama iki reikiamo praskiedimo. Į Petri lėkštelę pilama 1 ml suspensijos ir užpilama atvėsusia agarizuota

salyklo terpe, palaukiama, kol sustings ir laikoma termostate $26\pm 1^\circ\text{C}$ temperatūroje 4–5 paras. Išaugusios mikroskopinių grybų kolonijos skaičiuojamos ir jų skaičius išreiškiamas kolonijas sudarančiais vienetais (KSV) ploto vienetu.

Išaugę mikroskopiniai grybai buvo identifikuojami taikant fenotipinius metodus pasinaudojant grybų makro- ir mikromorfologiniais požymiais. Norint nustatyti mikroskopinių grybų rūšinę priklausomybę ir atlikti tolesnius tyrimus, Petri lėkštelėse išaugę mikroskopiniai grybai auginami selektyvinėse agarizuotose terpėse (Čapeko, Čapeko mielių ekstrakto, mielių ekstrakto sacharozės, salyklo ekstrakto). Detali terpių sudėtis yra nurodyta Samson ir kt. (2014). Makromorfologiniai požymiai nustatomi, pagal grybų kolonijų augimo ypatumus terpėse, o mikromorfologiniai požymiai tiriami šviesinės mikroskopijos pagalba. Mikroskopinių grybų rūšys identifikuotos, naudojantis įvairiais identifikacijos vadovais: Larone (1993), Samson, Hoekstra (2000), Klich (2002), Lugauskas ir kt. (2002), Samson, Frisvad (2004).

Rezultatai ir aptarimas

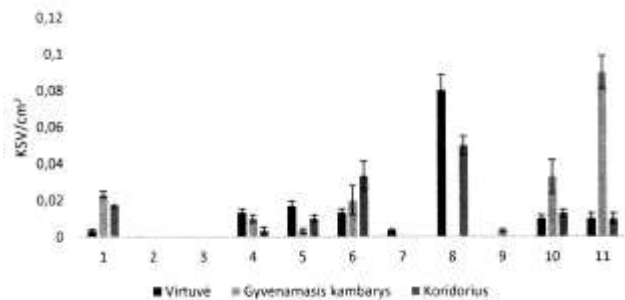
Tyrimų metu, Vilniaus mieste buvo surinkta 99 oro ir 99 paviršių gyvenamųjų patalpų mėginiai. Didžiausias mikroskopinių grybų kiekis nustatytas tirtų gyvenamųjų patalpų virtuvėse ir svyravo nuo $(1,9\pm 0,6)\times 10^3$ iki $(3,1\pm 0,3)\times 10^4$ KSV/m³ (1 pav.).



1 pav. Mikroskopinių grybų skaičius (KSV/m³) gyvenamųjų patalpų ore.
Fig. 1. Number of fungi (CFU/m³) in the indoor air.

Didžiausius mikroskopinių grybų kiekius virtuvėse galėjo nulėmti tai, kad šiose patalpose gaminamas maistas, vyksta įvairi namų ruoša ir įprastai čia būna didžiausia drėgmė. Bute Nr. 4 didžiausias mikroskopinių grybų skaičius buvo aptiktas koridoriuje ir siekė $(1,5\pm 0,2)\times 10^4$ KSV/m³. Gyvenamųjų patalpų (Nr. 3, Nr. 5 ir Nr. 9) koridoriuose mikroskopinių grybų skaičius nežymiai buvo didesnis negu kitose tirtose patalpose. Tokius mikroskopinių grybų kiekius koridoriuose galėjo lemti prasta ventiliacija ir grybų patekimas iš laiptinės.

Didžiausias mikroskopinių grybų skaičius gyvenamųjų patalpų paviršiuose buvo aptiktas bute Nr. 8 ir svyravo nuo 0,05 iki 0,08 KSV/cm² ir bute Nr. 11 (0,01 iki 0,09 KSV/cm²) (2 pav.).



2 pav. Mikroskopinių grybų skaičius (KSV/cm²) gyvenamųjų patalpų paviršiuose.

Fig. 2. Number of fungi (CFU/cm²) in indoor environments.

Iš gyvenamųjų patalpų oro buvo išskirtos 154, o nuo paviršių 36 mikroskopinių grybų padermės, kurios priklauso 24 mikroskopinių grybų gentims. Dominavo *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* ir *Chaetomium* genčių rūšys. Krikštaponis, (2000), Lugauskas ir kt., (2003), nustatė, kad darbo ir gyvenamosiose patalpose dominuoja *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Ulocladium* genčių mikroskopiniai grybai.

Dažniausiai gyvenamųjų patalpų ore buvo aptinkamos *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum* ir *Cladosporium cladosporioides* mikroskopinių grybų rūšys, gyvenamųjų patalpų paviršiuose dominavo *Chaetomium globosum* ir *Penicillium chrysogenum* rūšys. Literatūros šaltiniuose esama duomenų, jog *P. chrysogenum* yra viena dažniausiai aptinkamų mikroskopinių grybų rūšių gyvenamųjų patalpų ore (Flannigan, 2011).

Išvados

1. Nustatyta, kad didžiausias mikroskopinių grybų kiekis yra tirtų gyvenamųjų patalpų virtuvių ore ir svyravo nuo $(1,9\pm 0,7)\times 10^3$ iki $(3,1\pm 0,3)\times 10^4$ KSV/m³.
2. Tyrimų metu išaiškinta, kad gyvenamųjų patalpų paviršiai yra mažiau užteršti mikroskopiniais grybais, nei patalpų oras.
3. Vilniaus miesto gyvenamųjų patalpų oro ir paviršių mėginiuose vyrauja *Aspergillus*, *Penicillium* ir *Cladosporium* genčių mikroskopiniai grybai.

Literatūra

1. CABRAL JPS. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. Science of the Total Environment, 2010, 408 (20), p. 4285–4295.
2. FLANNIGAN, B. Microorganisms in indoor air. In: Microorganisms in home and indoor work environments. Diversity, Health Impacts, Investigation and Control. Eds.: Flannigan B., Samson R. A., Miller D. J. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011, p. 529.
3. GUTAROWSKA, B., PIOTROWSKA M. Methods of mycological analysis in buildings. 2007, 42, p. 1843–1850.
4. HOEKSTRA, ES., SAMSON, RA., VERHOEFF, AP. Fungal propagules in house dust: a qualitative analysis. Eds.: Samson, RA., Flannigan, B., Flannigan, ME., Verhoeff, AP., Adan, OCG., Hoekstra, ES. Health implications of fungi in indoor environments. Air quality monographs. Amsterdam, 1994, p. 169–177.
5. KLICH, MA. Identification of common *Aspergillus* species. New Orleans, Louisiana, 2002, p. 116.
6. KRIKŠTAPONIS, A., Diversity of fungi species in occupational and residential environments and their biological peculiarities (toxicity,

- pathogenicity, proteolytic, lipolytic, and cellulolytic activity). Summary of doctoral thesis. 2000, Vilnius.
7. LARONE, DH. Medically important fungi. A guide to identification. Washington, 1993, p. 230.
 8. LUGAUSKAS, A., KRIKŠTAPONIS, A., BRIDŽIUVIENĖ, D. Mycological monitoring of different workplaces in Lithuania. Grana, 2000, 39, p. 308–316.
 9. LUGAUSKAS, A., KRIKŠTAPONIS, A., ŠEŠKAUSKAS, V. Species of conditionally pathogenic micromycetes in the air of dwellings and occupational premises. Indoor Built Environment, 2003, 12, p. 167–177.
 10. LUGAUSKAS, A., PAŠKEVIČIUS, A., REPEČKIENĖ, J. Patogeniški ir toksiški mikroorganizmai žmogaus aplinkoje. Vilnius, 2002, p. 434.
 11. MADSEN, AM., WILKINS, K., POULSEN, OM. Micro-particles from fungi. In: Bioaerosols, fungi, bacteria, mycotoxins and human health: patho-physiology clinical effects exposure assessment prevention and control in indoor environments and work. Eds.: Johanning E. New York, USA. p. 276–291.
 12. SAMSON, RA., FRISVAD JC. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites. Utrecht, 2004, p. 260.
 13. SAMSON, RA., HOEKSTRA, ES. Introduction to food- and airborne fungi. Utrecht, 2000, p. 389.
 14. World Health Organisation guidelines for indoor air quality: dampness and mould. 2010. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/air-quality/publications/2009/who-guidelines-for-indoor-air-quality-dampness-and-mould>.

Lina Šidlauskaitė, Jurgita Švedienė, Vita Raudonienė

Fungi in indoor environments

Summary

Indoor air quality is one of the most important factors that influence our general life quality. We breathe 10 m³ air every day, and we spend 80–95% of our lives indoors. There are many particles in the indoor air – dust, epithelial cells, dust mites, fungi. Fungi are found on ceilings, insulating materials, wallpaper, carpets, etc.

The aim of the research is to determine microscopic fungi dominant in the residential area of Vilnius. Samples in Vilnius were collected in 2014 November to 2015 in May. Randomly chosen 11 apartments and each of them studied three rooms – kitchen, corridor and living room. The living space is pumped into the „Krotov 818“ and the surface samples were collected with a sterile swab cleaning the size of known area.

Surveyed the living quarters in Vilnius, the largest contamination with fungi identified kitchens – from $(1.9 \pm 0.6) \times 10^3$ to $(3.1 \pm 0.3) \times 10^4$, the minimum in living rooms – from $(1.3 \pm 0.1) \times 10^2$ to $(2.0 \pm 0) \times 10^4$ CFU/m³. There were 190 strains of fungi, belonging to the 24 genera, isolated and identified. In the air and surface samples of living rooms dominated *Aspergillus*, *Penicillium* and *Cladosporium* fungi.

Fungi, air, surface, contamination

Gauta 2018 m. kovo mėn., atiduota spaudai 2018 m. balandžio mėn.

Lina ŠIDLAUSKAITĖ. Gamtos tyrimų centro, Biodestruktorių tyrimo laboratorija. Adresas: Akademijos g. 2-2, LT-08412, Vilnius, tel. (8 5) 279 66 40, el. pastas: sidlauskaitelina@gmail.com

Lina ŠIDLAUSKAITĖ. Nature Research Centre, Laboratory of Biodeterioration Research. Address: Akademijos str. 2-2, LT-08412, Vilnius. Tel (+370 5) 279 66 40, email: sidlauskaitelina@gmail.com

Jurgita ŠVEDIENĖ. Gamtos tyrimų centro, Biodestruktorių tyrimo laboratorijos biomedicinos mokslų daktarė. Adresas: Akademijos g. 2-2, LT-08412, Vilnius. Tel. (8 5) 279 66 40, el. pastas: jurgita.svediene@botanika.lt

Jurgita ŠVEDIENĖ. Nature Research Centre Laboratory of Biodeterioration Research, doctor of biomedicine sciences. Address: Akademijos str. 2-2, LT-08412 Vilnius. Tel. (+370 5) 279 66 40, e-mail: jurgita.svediene@botanika.lt

Vita RAUDONIENĖ. Gamtos tyrimų centro, Biodestruktorių tyrimo laboratorijos biomedicinos mokslų daktarė. Adresas: Akademijos g. 2-2, LT-08412, Vilnius. Tel. (8 5) 279 66 40, el. pastas: vita.raudoniene@botanika.lt

Vita RAUDONIENĖ. Nature Research Centre Laboratory of Biodeterioration Research, doctor of biomedicine sciences. Address: Akademijos str. 2-2, LT-08412 Vilnius. Tel. (+370 5) 279 66 40, e-mail: vita.raudoniene@botanika.lt