

# Pleśnie i mikotoksyny w środowisku bytowania człowieka i zwierząt

Magdalena Twarużek, Jan Grajewski

Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Akademia Bydgoska

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie problemem zagrzybienia budynków mieszkalnych i pomieszczeń inwentarskich, szczególnie na terenach popowodziowych. Duża wilgotność w okresie wegetacji i zbioru powoduje intensywniejszy wzrost pleśni na roślinach przeznaczonych do spożycia przez ludzi i na pasze dla zwierząt. W konsekwencji człowiek, a także zwierzęta narażone są na mikotoksyny (wtórne metabolity pleśni) oraz mikrobiologiczne lotne składniki organiczne (MVOCs), które obok działań toksycznych mają właściwości mutagenne, teratogenne czy estrogenne. Zwierzęta gospodarskie, żyjące w środowisku zanieczyszczonym przez bakterie i grzyby, mają częsty kontakt z patogennymi metabolitami pleśni. Skarmiane ziarno paszowe często znacznie odbiega jakością od ziarna konsumpcyjnego. Pasze objętościowe, głównie siano, słoma oraz kiszonki, mogą być spleśniałe i powodować problemy związane z układem oddechowym [4].

Wniknięcie mikotoksyn do organizmu człowieka i zwierząt następuje trzema drogami: pokarmową, poprzez skórę (przede wszystkim u zwierząt) oraz drogą wziewną w formie aerozoli.

Problem patogennych pleśni i mikotoksyn znany jest od dawna. Od wieków obserwowano zatrucia ludzi i zwierząt wywołane spożyciem zapleśniałej żywności czy pasz. Na przykład w Starym Testamencie jest mowa o „rojnicy” (zatruciu sporyszem – ergotyzm). Wyszukiwano też tezę, że toksyny *Fusarium* (toksyna T-2, zearalenon) mogły być przyczyną wyginięcia Etrusków i pomoru w Atenach w V wieku przed naszą erą. W nowszych czasach ustalono, że tajemnicze zgony archeologów po otwarciu grobów w piramidach egipskich były spowodowane przez wchłanianie spor pleśni i mikotoksyn, zwłaszcza ochratoksyny A, która jednocześnie odpowiada za serię przypadków ostrej niewydolności nerek, tzw. nefropatia bałkańska [9].

Nie ma dzisiaj wątpliwości, że niektóre mikotoksyny są nadal przyczyną chorób, cierpienia, a nawet śmierci, szczególnie w rozwijających się krajach tropikalnych i subtropikalnych. Przykładem może być śmierć kilkunaściorga dzieci w Malezji w 1988 roku, po spożyciu makaronu zanieczyszczonego aflatoksynami. Olbrzymia epidemia w latach sześćdziesiątych na fermach indyków w Anglii, pozwoliła na odkrycie kancerogenności aflatoksyn, które później rozpoznano również jako przyczynę problemów zdrowotnych ludzi [9].

Chociaż tak ostre efekty toksyczne są obserwowane tylko wyjątkowo, długotrwałe narażenie na niskie stężenia spor pleśni i poszczególnych mikotoksyn może powodować różne choroby przewlekłe, np. nowotwory wątroby, nerek i płuc. Dlatego trzeba mieć świadomość, że oprócz żywności i pasz, także mikroklimat pomieszczeń oraz przegrody budowlane mogą być źródłem skażeń mikologicznych.

Temperatura i wilgotność powietrza w pomieszczeniach, średnia temperatura powierzchni przegród budowlanych, a także inne czynniki determinują rozwój specyficznej mikroflory. Liczba grzybów strzępkowych w warunkach uznanych za normalne powinna być niewielka ( $10^2$ - $10^3$  jednostek koloniotwórczych/100 cm<sup>2</sup> powierzchni), w przeciwnym razie należy się liczyć z wystąpieniem niekorzystnych następstw zdrowotnych dla użytkowników pomieszczeń.

Według PN-89,Z-04111/03 ogólna liczba grzybów w 1 m<sup>3</sup> powietrza atmosferycznego powyżej 10 tys. jest zanieczyszczeniem zagrażającym środowisku naturalnemu człowieka, a od 5 tys. do 10 tys. jest zanieczyszczeniem mogącym negatywnie oddziaływać na środowisko naturalne człowieka [10].

Przyczyny zagrzybienia budynków to przede wszystkim nadmierne zawilgocenie elementów budowlanych. Źródła zawilgoceń są następujące:

- wady techniczne, rozumiane jako: wadliwie wykonany mur (wilgoć technologiczna, przemakanie); stosowanie skażonych, zawilgoconych materiałów budowlanych; zła izolacja przeciwwilgociowa fundamentów i ścian piwnicznych; nieszczelność pokryć dachowych oraz rynien i rur spustowych; złe obróbki blacharskie; nieszczelność instalacji wodno-kanalizacyjnej i centralnego ogrzewania; kondensacja pary wodnej; wadliwa instalacja wentylacyjna; okna bez wywietrzników; niedogrzanie mieszkań; wadliwe docieplenie ścian zewnętrznych;

- niewłaściwa eksploatacja mieszkań: niedostateczne przewietrzanie pomieszczeń (zamknięte okna); zaklejanie kratki wentylacyjnych; zimowe uszczelnianie okien uniemożliwiający ich otwieranie; dostarczanie dużych ilości pary wodnej: przeludnienie (50 g wody/godz./osobę), suszenie pranej odzieży w mieszkaniu, nadmiar roślin doniczkowych; docieplanie pomieszczeń od strony wewnętrznej; wprowadzanie z poprzedniego miejsca zamieszkania wyposażenia porażonego pleśniami [5].

Fragmenty grzybów, szczególnie spory, są normalnymi składnikami powietrza atmosferycznego i powietrza wewnątrz pomieszczeń. Stałym elementem zanieczyszczenia powietrza są również bakterie, wirusy, różne gazy, endotoksyny i kurz. Jednak toksyczne, wtórne metabolity grzybowe (mikotoksyny) w mikroklimacie są obecnie tematem zwiększającego się zainteresowania służb medycznych i weterynaryjnych (np. aflatoksyny i toksyny *Fusarium* zostały znalezione w próbach powietrza podczas mielenia materiału roślinnego). Ocenia się, że toksyny *Stachybotrysa* (satratoksyny, roridyna, verrukaryna) odgrywają znaczącą rolę w środowiskowych problemach



związanych z jakością powietrza wewnątrz pomieszczeń, szczególnie zawilgoconych [4].

W ostatnich badaniach własnych [13] wykazano, że w pawilonach pobudowanych na terenach popowodziowych wystąpiła na ścianach niespodziewanych rozmiarów inwazja patogennej pleśni. Z powietrza i zmywów ścian wyizolowano spory grzybów *Aspergillus*, *Stachybotrys*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, które były wysoko toksyczne dla żywych komórek (test MTT). Grzyby te, a szczególnie ich metabolity, stanowią jedną z podstawowych grup alergenów inhalacyjnych. Reakcje alergiczne w górnych drogach oddechowych przypominają pyłkowice, a dominującym objawem jest blokada nosa, której towarzyszą objawy stanów zapalnych oczu. Niewielkie rozmiary zarodników grzybów, nie przekraczające najczęściej 10 mikronów, pozwalają, drogą wziewną, na głęboką penetrację drzewa oskrzelowego, co w efekcie prowadzi do reakcji alergicznych ze strony dolnych dróg oddechowych. Większość osób wykazujących nadwrażliwość na tę grupę alergenów inhalacyjnych prezentuje objawy całoroczne, z okresami sezonowych zaostrzeń. Jedynie dla pacjentów uczulonych wybiórczo na alergeny grzybów zewnątrzdomowych, zima pozostaje okresem bezobjawowym. Reakcje alergiczne wywołane przez alergeny grzybów mogą także przybierać charakter alergii pokarmowej (po spożyciu serów pleśniowych, suszonych owoców, grzybów, sosu sojowego, niektórych soków, wina czy piwa).

W obrębie gromady grzybów właściwych, w alergologii zasadnicze znaczenie mają: klasa sprężniaków (*Mucor*, *Rhizopus*), workowców (*Eurotium*, *Chaetomium*), podstawczaków (*Sporobolomyces*) oraz klasa grzybów niedoskonałych. Grzyby niedoskonałe budują jednak największe zainteresowanie, szczególnie grzyby z rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Epicoccum*, *Stachybotrys*, *Fusarium*. Najsilniej alergizującą częścią grzybów są ich zarodniki, jednak i grzybnia zawiera większość tych samych, charakterystycznych dla danego gatunku alergenów [6]. Mikotoksyny pleśni są szczególnie niebezpieczne, gdy ich spory zawierają patogenne metabolity: aflatoksyny, ochratoksynę A, alternariol, sterigmatocystynę, satratoksyny F, G lub H, roridynę, verrukarynę, cytryninę, deoksynivalenol i inne.

W wyniku kontaktu z grzybami pleśniowymi mogą wystąpić u ludzi i zwierząt różne problemy zdrowotne, które potęgują się przy gatunkach patogennych:

- choroby górnych i dolnych dróg oddechowych (alergiczne mikozy oskrzelowo-płucne, toksyczne zapalenie pęcherzyków oskrzelowych, np. płuca farmera, młocarza lub chroniczno-obstrukcyjny bronchitis koni, aż do strukturalnych zmian mięszu płuc);

- ból głowy;

- katar alergiczny, krwawienie z nosa, bóle gardła zbliżone do bólu przeziębieniowego;

- krótki oddech, uczucie ciasności klatki piersiowej, wzmagający się brak powietrza, uczucie palenia w piersiach, świszczący oddech;

- podrażnienie oczu: zaczerwienienia, wodnistości, wrażliwość na światło, ewentualnie zakłócenia w widzeniu;

- podrażnienia skóry (podobne do oparzeń z zaczerwienieniami), uczucie palenia, swędzenie pomiędzy palcami rąk i nóg (kontakt na boso), zapalenie skóry pod pachami i w pachwinach;

- miejscowa utrata włosów;

- dolegliwości podobne do grypowych (gorączka, bóle stawów i mięśni, znużenie);

- nadmierne zmęczenie fizyczne i psychiczne;

- problemy centralnego systemu nerwowego: bóle głowy, zakłócenia koncentracji i pamięci, zakłócenia rozwojowe (w zakresie umiejętności mowy), depresje, wzmożona nerwowość i rozdrażnienie, zakłócenia równowagi i zawroty głowy;

- zaburzenia pracy żołądka i jelit: nudności, zaburzenia procesu trawienia, bóle brzucha.

W przypadku niektórych osobników o osłabionej odporności, organizmów młodych i w podeszłym wieku może dochodzić do bardziej drastycznych powikłań, a nawet do śmierci [11].

Wymienione skażenia grzybowe potęgują się w pomieszczeniach inwentarskich, w których nie jest przestrzegana dyscyplina żywienia i higiena zwierząt. Skład powietrza w oborach, stajniach czy kurnikach, w aspekcie jego jakości, zdecydowanie różni się od powietrza w mieszkaniach. Drogi oddechowe zwierząt i obsługujących je ludzi, poza niezbędnym tlenem, wchodzą w kontakt z innymi gazami (np. CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, LPS), środkami zapachowymi, cząsteczkami organicznymi i nieorganicznymi, względnie ożywionymi lub nieożywionymi. Na jakość mikroklimatu pomieszczeń dla zwierząt szczególnie wpływ wywierają: pora roku, skład dawki pokarmowej i jej konsystencja, liczba utrzymywanych zwierząt, system wentylacji. Przyjęto, że stopień zapylenia i liczba mikroorganizmów, jako składniki mieszaniny powietrza, są najbardziej miarodajnymi czynnikami ryzyka dla powstania dolegliwości dróg oddechowych wśród zwierząt i ludzi, którzy je obsługują. W badaniach szwedzkich Donham [1] ustalił, że istnieje wyraźna korelacja pomiędzy „złą” jakością powietrza w chlewni a zapadalnością tuczników na choroby dróg oddechowych (zapalenie płuc i opłucnej).

Ekstremalnie wysokie stężenia grzybów pleśniowych, najczęściej w połączeniu z pyłem i innymi bioaerozolami (przede wszystkim ciepłolubnymi *Actinomycetes*), występują podczas zbioru, transportu, przeładunku i podawania zwierzętom w formie suchej takich pasz, jak: zboże, siano czy słoma. Dlatego też należy stosować środki zapobiegawcze, np. odpowiednie konfekcjonowanie pasz (granulowanie, nawilżanie, melasowanie, natłuszczanie czy zasysanie drobin), aby ograniczyć powstawanie pyłu. Najczęściej pasze sypkie oraz źle wysuszone siano stanowią źródło pyłu unoszącego się w powietrzu stajni czy obory. Często się zapomina, że



wilgotne siano może zawierać w 1 gramie do 250 milionów konidiów *Aspergillus glaucus* lub *A. fumigatus*, *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp., *Mucor* sp. czy *Hemispora stellata*. W drobnych cząsteczkach siana (poniżej 1,5 mm) znajdują się zanieczyszczenia mineralne (cząsteczki gleby), odchody zwierzęce (w sianie pochodzącym z wypasanych łąk), części drobnych nasion traw i chwastów, a także roztocza, insekty i ich ekskrementy [2]. Te same zanieczyszczenia występują w paszach sypkich, które – szczególnie podczas pneumatycznego transportu – przyczyniają się do wzrostu zapylenia. Przyjęto, że pasza nie jest skażona mikologicznie, jeżeli liczba zarodników pleśni wynosi poniżej 10 tys. w 1 gramie. Oprócz wymienionych zanieczyszczeń, w pyłe pomieszczeń inwentarskich zawsze w mniejszej lub większej ilości występują gronkowce i paciorkowce [7].

Szczególną wrażliwość dróg oddechowych na zapylenie pasz wykazują konie oraz ptaki. Przy zakupie owsa, siana i słomy dla koni zawsze trzeba pamiętać o kryterium jakości. Złe parametry tych pasz odnotowano w ubiegłym roku, charakteryzującym się dużą ilością opadów. W badaniach własnych stwierdzono, że w stajniach, w których konie często wykazywały objawy kolki, podawano siano, słomę i owies, w których wykryto powyżej 500 tys. kolonii pleśni i obecność ochratoksyny A. Jednocześnie niektóre osobniki zapadały na chroniczno-obstrukcyjny nieżyt oskrzeli.

Anatomiczna budowa ptaków stwarza dogodny warunki do rozwoju grzybów. Worki powietrzne ptaków, mające dużą pojemność, odpowiednią temperaturę i wilgotność, są optymalnym miejscem do rozwoju grzybic. Najwyższą podatność stwierdzono u ptaków blaszkodziobych (kaczki, gęsi, łabędzie) oraz ozdobnych ptaków w ogrodach zoologicznych (głównie papugi). Zakażenia grzybicze występują najczęściej u embrionów i piskląt, szczególnie kacząt, natomiast sporadycznie u dzikiego ptactwa [8]. Dominującym gatunkiem grzybów powodującym mikozy dróg oddechowych ptaków jest *Aspergillus* (aspergiloza), a dróg trawiennych – gatunki *Candida* (kandydoza).

Każda z wchłoniętych drogą wziewną do organizmu patogenna spora pleśni zawiera jedną lub kilka „zamaskowanych” mikotoksyn. Na temat znaczenia mikotoksyn znajdujących się w pyłe obiektów inwentarskich, jako inhalacyjnie czynnych toksyn, w literaturze można znaleźć niewiele wskázówek. Na przykład w aspergilozie ptaków nie da się wykluczyć, oprócz właściwej infekcji grzybami, działania mikotoksyn. W zmienionej chorobowo tkance ptaków stwierdzono występowanie aflatoksyn i sterigmatocystyny. Najnowsze doniesienia sygnalizują, że roztocza paszowe, które między innymi odżywiają się pleśnią grzybową, posiadają w pewnych warunkach bardzo wysokie zawartości mikotoksyn, szczególnie ochratoksyny A [12]. Roztocza stanowią więc potencjalny wektor dla mikotoksyny, która dostaje się do dróg oddechowych poprzez wdychanie pyłu z cząsteczkami roztoczy lub ich odchodami.

W krajach Unii Europejskiej, wśród schorzeń zawodowych rolników choroby dróg oddechowych były przez długi czas na

pierwszym miejscu. Dopiero w 1993 roku, po wprowadzeniu do katalogu chorób zawodowych schorzeń kręgosłupa, schorzenia oddechowe zostały przesunięte na drugie miejsce listy. Dzisiaj w tych krajach alarmuje się, że wysokie ryzyko zachorowań na chroniczne dolegliwości dróg oddechowych, wyższe od rolników, wykazują lekarze weterynarii. Przestrzegane są zalecenia dotyczące wartości MAK (maksymalne stężenie na stanowisku roboczym), czyli maksymalnego stężenia substancji, na jakie można narazić człowieka podczas 8 godzin pracy, bez obawy o ujemne następstwa zdrowotne. W tabeli zestawiono wartości MAK przyjęte przez szereg krajów Unii Europejskiej dla powietrza w chlewniach.

**Tabela**  
**Wartości MAK (maksymalne stężenie na stanowisku roboczym) dla wybranych substancji szkodliwych zawartych w powietrzu chlewni [12]**

Wyszczególnienie	Wartości MAK
Amoniak	20 ml/m <sup>3</sup>
Siarkowódór	10 ml/m <sup>3</sup>
Dwutlenek węgla	5000 ml/m <sup>3</sup>
Pył całkowity	4 mg/m <sup>3</sup>
Pył dostający się do pęcherzyków płucnych	1,5 mg/m <sup>3</sup>
Lipopolisacharydy	10 ng/m <sup>3</sup>
Bakterie	4,3 x 10 <sup>5</sup> jkt/m <sup>3</sup>
Pleśnie	1,5 x 10 <sup>4</sup> jkt/m <sup>3</sup>

Jakie wartości MAK odnotowuje medycyna pracy w pomieszczeniach inwentarskich w Polsce?

Ostatni wzrost zawartości pleśni i ich metabolitów w żywności i paszach jest dowodem nasilenia ich występowania w środowisku zewnętrznym. Jednocześnie zmniejsza się odporność ludzi i zwierząt na grzyby, co w dużym stopniu wiąże się z nadużywaniem antybiotyków. Szerokie szkodliwe oddziaływanie mikotoksyn powoduje, że ciągle udoskonala się metody identyfikacji i analiz instrumentalnych oraz testów komórkowych, celem określenia ilości i stopnia toksyczności metabolitów pleśni.

Identyfikacja gatunków grzybów obecnych w materiałach jest ważna dla weryfikacji pleśniowych uszkodzeń, a analiza chemiczna jest konieczna do oznaczania obecności mikotoksyn. Ponieważ wykrycie wszystkich mikotoksyn jest niemożliwe (poznano dotychczas około 400 składników z grupy metabolitów grzybów), dlatego, jako uzupełnienie metod chemicznych, opracowano szybkie i wrażliwe metody kolorymetryczne oparte na kulturach komórkowych – screeningu (oznaczaniu) mikotoksyn, służące również testowaniu dużej różnorodności prób materiałów zanieczyszczonych. Wpływ na kultury komórkowe po inkubacji z mikotoksynami lub próbami



zanieczyszczonymi pleśniami jest mierzony przez oznaczenie różnych punktów końcowych, takich jak: metaboliczna aktywność komórki, uszkodzenia błon plazmatycznych, synteza białek i DNA.

Jedną z wymienionych metod jest test cytotoxyczości MTT, polegający na przekształcaniu żółtej soli MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) przez mitochondrialną dehydrogenazę komórek do purpurowych formazanów. Materiałem mogą być każde komórki z rozpoznawalnym poziomem aktywności mitochondrialnej. Zasada testu MTT oparta jest na inkubacji komórek z MTT (3-4 godz.) i rozwoju kryształów formazanów w żyjących komórkach. Martwe komórki nie produkują formazanów [3].

Innymi metodami oceny niskiej koncentracji mikotoksyn, w których wykorzystuje się kultury komórkowe do oznaczania cytotoxyczości zanieczyszczonych prób, są:

– biooznaczenie oparte na ocenie syntezy DNA, BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine);

– biooznaczenie oparte na ocenie uszkodzenia błon komórkowych (uwolnienie dehydrogenazy mleczanowej), LDH (lactate dehydrogenaze) [14].

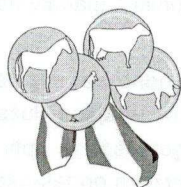
Laboratorium Badawcze Mikotoksyn przy Instytucie Biologii i Ochrony Środowiska Akademii Bydgoskiej jest nową jednostką badawczą, która wykonuje badania skażonych surowców, organów, materiałów budowlanych i powietrza przez patogenne pleśnie i ich metabolity.

**Literatura:** 1. Donham K.J.: Am. J. Vet. Res. 52, 1723-1730, 1991. 2. Grajewski J.: Preparaty przeciwpleśniowe. Praca zbiorowa pod red. E. Greli „Dodatki w żywieniu bydła”, Bydgoszcz 2001. 3. Hanelt M., Gareis M., Kollarzik B.: Mycopathologia 128, 167-174, 1994. 4. Hintikka E.L.: The effect of inhaled spores of mycotoxin producing fungi on animals. In Johanning E.: Bioaerosols, Fungi and Mycotoxins: Health Effects, Assessment, Prevention and Control, 1999. 5. Janińska B.: Mat. Konf. Nauk. „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych”, 12-15, 27.01.2000, PL Łódź, 2000. 6. Lipiec A.: Terapia 3, 27-30, 1997. 7. Mücke W., Lemmen Ch.: Schimmelpilze-vorkommen, gesundheitsgefahren, schutzmaßnahmen. Ecomed, Landsberg, 1999. 8. Niemczak H.: Poradnik drobiarski. Wyd. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 1998. 9. Pittet A.: Med. Vet. 149, 6, 479-492, 1998. 10. Polska Norma, PN-89,Z-04111/03 Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby grzybów mikroskopowych w powietrzu atmosferycznym przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną. 11. Pritch M.: Gesundheitliche Auswirkungen von Schimmelpilzen in Wohnräumen. [www.baubiologie.net/docs/biozide\\_in\\_wohnungen.html](http://www.baubiologie.net/docs/biozide_in_wohnungen.html) 12. Rade C., Kamphues J.: Übers. Tierernährg. 27, 65-121, 1999. 13. Twarużek M., Gareis M., Grajewski J.: Cytotoxicity test of samples originating from dwellings pavillions on post-flood areas. 24. Mycotoxin-Workshop, 3-5 June 2002, Berlin (w druku). 14. Widstrand J., Lundh T., Pettersson H., Lindberg J.E.: Mycopathologia 147, 149-155, 1999.



## WOJEWÓDZKI OŚRODEK DORADZTWA ROLNICZEGO i Gospodarstwo Pomocnicze W BRATOSZEWICACH

*serdecznie zaprasza na*



# Wojewódzką Wystawę Zwierząt Hodowlanych

oraz NA **DZIEŃ OTWARTYCH DRZWI 2002**



**29-30  
czerwca  
2002 r.**

### W programie:

- Ocena i prezentacja zwierząt hodowlanych
- Prezentacja osiągnięć Wojewódzkiego Ośrodka Doradztwa Rolniczego w Bratoszewicach
- Ekspozycja nowych odmian roślin na polu doświadczalnym Ośrodka
- Promocja i sprzedaż środków do prod. Rolnej
- Kiermasze krzewów i kwiatów
- Występy artystyczne

Dojazd: PKP lub PKS trasa Łódź-Główno-Łowicz-Warszawa