

Conference Paper

AEROGENA UČESTALOST SPORA PLIJESNI NA PODRUČJU GRADA ZAGREBA

Maja ŠEGVIĆ i Stjepan PEPELJNJAK

Zavod za mikrobiologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Primljeno u siječnju 2004.

Zbog aerogene učestalosti spore plijesni dovode se u vezu s različitim bolestima dišnog sustava i alergijama. Stoga je cilj ovog rada bio utvrđivanje kvalitativnih i kvantitativnih varijabilnosti učestalosti i koncentracija spora plijesni u Zagrebu na tri lokacije: centar grada (C), Farmaceutski botanički vrt "Fran Kušan" (BV) i Medvednica (M) tijekom jeseni, zime, proljeća i ljeta 2002./03. Tijekom jeseni (do 76,88 CFU/m³) i zime (do 31,46 CFU/m³) zabilježene su niže koncentracije spora plijesni u zraku na sve tri lokacije, ali sa znatno višom koncentracijom u C i BV u odnosu na M ($P < 0,001$). U proljeće i ljeto na sve tri lokacije zabilježene su znatno više koncentracije spora plijesni. Tijekom proljeća ove su koncentracije bile znatno više u C (160,0 CFU/m³) i BV (134,00 CFU/m³) nego na M (90,07 CFU/m³) ($P < 0,001$). S druge strane, ljeto su koncentracije u C (237,5 CFU/m³) bile znatno više nego u BV (186,50 CFU/m³) ($P < 0,01$), dok su u C i na M (216,70 CFU/m³) ove vrijednosti bile gotovo jednake. Dokazano je ukupno 29 vrsta plijesni, među kojima su dominirale alergološki važne vrste iz rodova *Cladosporium* (do 79,5 %) i *Alternaria* (59,4 %). Spore *Penicillium*, *Fusarium* i *Aspergillus* vrsta također su konstantno prisutne u zraku (43,0-70,5 %), ali u znatno nižim koncentracijama od kladosporija i alternarija. Učestalost spora kladosporija i alternarija bila je znatno veća tijekom proljeća i ljeta na svim lokacijama te su njihove koncentracije bile znatno više u C i BV ($P < 0,05$). Povećanje ukupne koncentracije spora plijesni u proljeće i ljeto, čemu najviše pridonose kladosporije i alternarije, može značiti povećani alergološki rizik.

KLJUČNE RIJEČI: *Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, lokacijske razlike, Penicillium, sezonske varijacije koncentracija*

Plijesni su ubikvitarni mikroorganizmi koje nalazimo na različitim supstratima kao što su hrana biljnog i životinjskog podrijetla, raspadajući organski materijal, tlo i zrak. Spore plijesni nalaze se u zraku otvorenih i zatvorenih prostora, a njihove koncentracije ovise o dobu dana, meteorološkim, sezonskim klimatskim uvjetima (temperatura, relativna vlažnost, strujanje zraka), vegetaciji određenog areala, vrsti proizvodnih industrijskih pogona, prometu i drugim ljudskim aktivnostima (1). Sezonske i dnevne varijacije u koncentraciji aerogenih spora plijesni najviše ovise o meteorološkim i klimatskim uvjetima određenog područja. Tako se pri višim temperaturama zraka (25-30 °C) povisuje koncentracija spora *Alternaria* vrsta, veća vlažnost i učestale kiše pogoduju sporulaciji *Fusarium* sp., dok relativno malene brzine

strujanja zraka omogućavaju otpuštanje većeg broja spora *Penicillium* i *Aspergillus* vrsta (2, 3, 4). Spore velikog broja vrsta plijesni su aeroalergeni, najčešće one iz rodova *Alternaria, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus* i *Fusarium*. Te vrste u osjetljivih osoba mogu prouzročiti različite infekcije (mikoze), trovanja (mikotoksikoze) te alergije i upale dišnog sustava (rinitis, bronhitis, hipersenzibilni pneumonitis, astma i aspergiloza) (5, 6). Ispitivanje distribucije i varijabilnosti učestalosti i aerogene koncentracije spora pojedinih vrsta plijesni u nekome klimatskom području može pomoći u kliničkoj dijagnostici i prevenciji sezonskih alergijskih bolesti. Stoga je cilj ovog rada bio utvrđivanje sezonskih varijacija učestalosti i koncentracija spora vrsta plijesni kao potencijalnih alergena na području grada Zagreba tijekom godine.

UZORCI I METODE

Područje uzorkovanja

Istraživanje je provedeno na tri lokacije na području grada Zagreba: centar grada (C), Farmaceutski botanički vrt "Fran Kušan" (BV) i Medvednica (M). Lokacija u užem centru grada odlikuje se povećanim prometom sredstava javnog transporta, većim gibanjem ljudi te većom količinom prašine odnosno izvora polucije. Farmaceutski botanički vrt nalazi se izvan centra grada na povišenom mjestu udaljen od glavne prometnice. Zauzima površinu od 2,4 ha na kojoj su zasađene kontinentalne i mediteranske biljne vrste među kojima su značajne ljekovite vrste *Picea abies*, *Mentha piperita*, *Melissa officinalis*, *Pelargonium radula*, *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia absinthum*, *Salvia officinalis*, *Micromeria thymifolia*, *Tanacetum parthenium*, *Lavandula officinalis* i druge. Ove vrste sadržavaju eterična ulja koja pokazuju antifungalni učinak (7). Treća lokacija uzorkovanja smještena je na Medvednici u blizini planinarskog doma "Puntijarka" na 957 m nadmorske visine. Na ovom lokalitetu susreću se biljne asocijacije *Lamio orvale-Fagetum*, *Abieti-Fagetum*, *Blechno-Fagetum* i *Aceri Fraxinetum*.

Uzorkovanje, izolacija i identifikacija plijesni

Uzorci su skupljani jedanput na tjedan tijekom jeseni, zime, proljeća i ljeta, tj. od listopada 2002. do rujna 2003. Skupljena su po 72 uzorka na svakoj lokaciji tijekom jednoga godišnjeg doba (ukupno 288 uzoraka po lokaciji). Uzorkovanje spora plijesni provedeno je s pomoću uređaja "Air-sampler Mas 100 Eco" u kojem su postavljene Sabouraudove-agarske ploče (promjer 9 cm) s antibioticima streptomycin/penicilin (6:4). Protok zraka je 100 L/min, a uređaj je udešen na uzorkovanje tijekom 2 min. Uređaj je postavljen na visinu od 0,70 - 1,2 m. (Uzorkovanje nije vršeno za vrijeme kiše ili snijega.) Uzorci su inkubirani na $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 5-7 dana nakon čega su izbrojene jedinice formiranja kolonija i preračunane na m^3 zraka (CFU/m^3). Vrste plijesni su identificirane na temelju kulturalnih svojstava kolonija na hranilištima (Sabouraud, Czapek, Malt, Potato dextrose, Synthetic nutrient agar) te mikroskopskih osobina fruktifikacijskih organa prema ključevima za determinaciju (8, 9).

Meteorološki parametri (temperatura i relativna vlažnost zraka) za grad Zagreb i Medvednicu očitavani su prije uzorkovanja na web stranici Državnoga

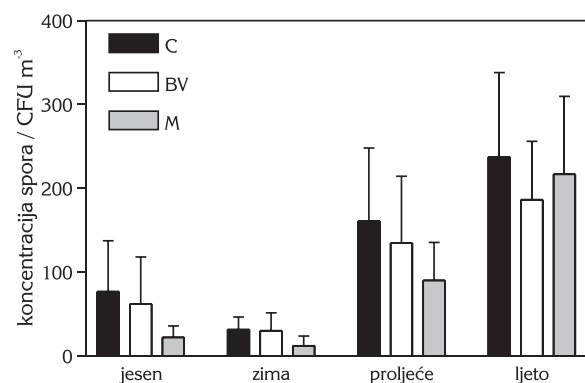
hidrometeorološkog zavoda (www.meteo.hr/index.html).

Statistička obrada

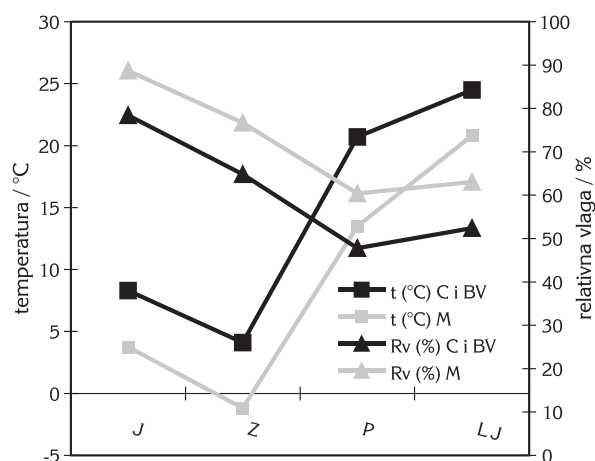
Značajnost razlike u koncentracijama spora plijesni (CFU/m^3) na pojedinim lokacijama testirana je jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i testom multiple komparacije (Bonferroni test) te je izračunan Pearsonov koeficijent korelacije između CFU/m^3 i meteoroloških parametara (temperatura, relativna vlažnost) za nivo značajnosti od $P < 0,05$. Statistička obrada provedena je s pomoću kompjutorskog programa GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA; www.graph-pad.com).

REZULTATI

Srednje vrijednosti koncentracija i standardne devijacije aerogenih spora plijesni tijekom jeseni, zime, proljeća i ljeta 2002./03. na području grada Zagreba prikazane su na slici 1. U jesen i zimu koncentracije spora bile su znatno niže nego u proljeće i ljeto na sve tri ispitivane lokacije. Najniže vrijednosti zabilježene su na M tijekom zime ($12,30\text{ CFU}/\text{m}^3$), a maksimalne u C tijekom ljeta ($237,5\text{ CFU}/\text{m}^3$). Statistički značajno više koncentracije zabilježene su na lokacijama C i BV tijekom jeseni, zime i proljeća ($P < 0,001$) u odnosu na M, dok su ljeti gotovo podjednake vrijednosti utvrđene na lokacijama C i M, a znatno niže u BV ($P < 0,05$). Sezonske varijabilnosti u koncentracijama aerogenih spora plijesni pozitivno koreliraju s promjenama temperature zraka, a negativno s relativnom vlažnošću (slika 2).



Slika 1 Sezonske varijacije ukupnih koncentracija spora plijesni u zraku na području grada Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)



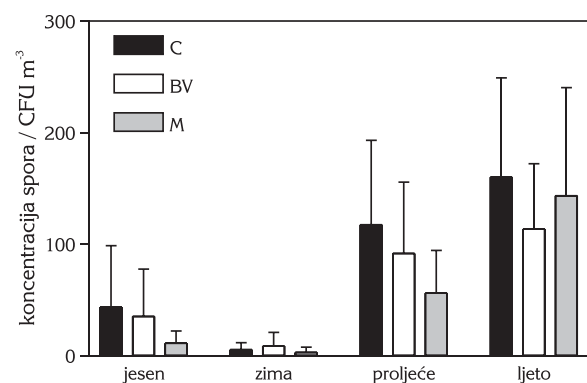
Slika 2 Sezonske promjene temperature i relativne vlažnosti zraka u Zagrebu tijekom jeseni (J), zime (Z), proljeća (P) i ljeta (LJ) u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)

Tablica 1 Srednja godišnja učestalost (SGU) aerogenih plijesni detektiranih u zraku na području Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)

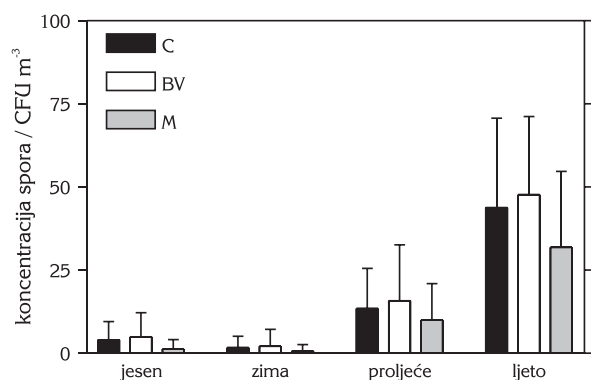
PLIJESNI	SGU (%) C	SGU (%) BV	SGU (%) M
<i>Absidia</i>	1,4	1,7	10,4
<i>Alternaria</i>	59,4	59,0	46,2
<i>Arnium</i>	0,3	1,0	0,3
<i>Aspergillus</i>	43,0	34,7	11,8
<i>Bjerkandera adusta</i>	0,0	2,7	10,4
<i>Botryomyces</i>	0,3	0,0	0,0
<i>Botrytis</i>	3,8	3,8	1,7
<i>Chaetomium</i>	0,0	0,0	0,7
<i>Chrysosporium</i>	10,4	5,9	5,5
<i>Cladosporium</i>	79,5	79,5	73,3
<i>Culvularia</i>	1,4	0,3	1,0
<i>Dreschlera</i>	1,0	0,3	0,0
<i>Fusarium</i>	44,0	36,1	18,4
<i>Geotrichum</i>	3,1	5,9	8,7
<i>Mucor</i>	2,7	2,7	2,7
<i>Nigrospora</i>	0,0	0,3	0,3
<i>Paecilomyces</i>	6,9	2,7	0,7
<i>Penicillium</i>	70,4	66,3	30,4
<i>Phialophora</i>	0,0	0,3	1,0
<i>Phoma</i>	5,9	2,7	1,0
<i>Pithomyces</i>	1,0	0,0	1,0
<i>Rhizopus</i>	7,1	6,6	3,5
<i>Sclerotium</i>	1,0	2,7	9,7
<i>Scopulariopsis</i>	1,0	0,0	0,0
sterile mycelium	11,1	17,3	21,5
<i>Trichoderma</i>	2,4	4,1	3,1
<i>Trichothecium</i>	0,3	0,0	0,0
<i>Ulocladium</i>	2,4	2,7	1,4
neidentificirane vrste plijesni	22,5	18,7	14,9

Na tablici 1. prikazana je srednja godišnja učestalost spora utvrđenih vrsta plijesni kao broj nalaza u ukupnom broju uzoraka. Među njima su dominirale *Cladosporium* sp. (do 79,5 % u C), *Penicillium* sp. (do 70,4 %), *Alternaria* sp. (do 59,4 %), *Fusarium* sp. (do 44,0 %) te *Aspergillus* sp. (do 43 %). Vrste *Aspergillus niger* (30,0 %) i *A. fumigatus* (20,0-25,0 %) najučestalije su aspergile na svim ispitivanim lokacijama. Među ostalim identificiranim vrstama, s učestalošću većom od 5,0 % pojavile su se *Absidia* sp (maks.10,4 % na M), *Bjerkandera adusta* (maks. 10,4 % na M), *Chrysosporium* sp. (maks. 10,4 % u C), *Geotrichum* sp. (maks. 8,7 % na M), *Paecilomyces* sp. (maks. 6,9 % u C), *Phoma* sp. (maks. 5,9 % u C), *Rhizopus* sp. (maks. 7,1 % u C) i nesporelirajuće plijesni "sterile mycelia" (maks. 21,5 % na M). Vrste *Botrytis*, *Culvularia*, *Mucor*, *Sclerotium*, *Trichoderma* i *Ulocladium* javljale su se sporadično tijekom uzorkovanja s učestalošću od 1 do 4 %, dok su *Arnium*, *Botryomyces*, *Chaetomium*, *Dreschlera*, *Phialophora*, *Pithomyces*, *Scopulariopsis* i *Trichothecium* vrste zabilježene u svega nekoliko uzoraka s učestalošću manjom od 1,0 %.

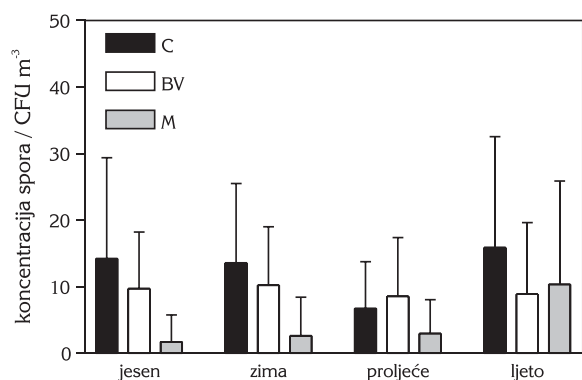
S obzirom na to da su kladosporije, alternarije, penicilije, fuzarije i aspergile konstantno prisutne tijekom godine, razlike u koncentracijama na pojedinoj lokaciji su statistički testirane. *Cladosporium* sp. i *Alternaria* sp. najviše pridonose sezonskim varijabilnostima ukupnih koncentracija spora plijesni u zraku tijekom godine. Tako su znatno više koncentracije spora ovih vrsta utvrđene u proljeće i ljeto na svim lokacijama (slike 3 i 4). Maksimalne koncentracije kladosporija i alternarija zabilježene su u C (160,00 CFU/m³), odnosno u BV (47,7 CFU/m³) tijekom ljeta, a minimalne zimi na M (2,78 i 0,69 CFU/m³). Tijekom jeseni i proljeća znatno više koncentracije kladosporija



Slika 3 Sezonske varijacije u koncentracijama *Cladosporium* vrsta u zraku na području Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)

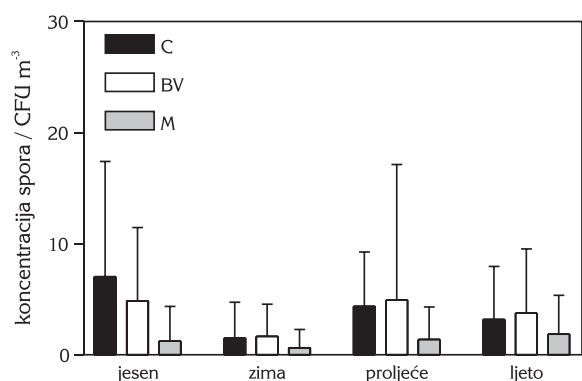


Slika 4 Sezonske varijacije u koncentracijama *Alternaria* vrsta u zraku na području Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)

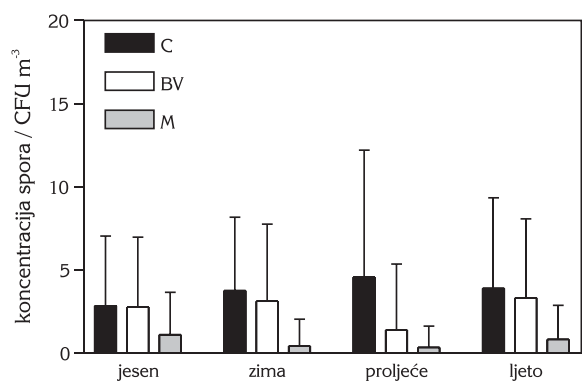


Slika 5 Sezonske varijacije u koncentracijama *Penicillium* vrsta u zraku na području Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)

nađene su u C (43,54 i 117,40 CFU/m³) i u zraku na području BV (35,00 i 91,74 CFU/m³) ($P < 0,01$), dok se u zimskom periodu ove koncentracije nisu značajno razlikovale s obzirom na lokaciju ($P > 0,05$). Ljeti su međutim znatno više koncentracije zabilježene u C i na M (143,30 CFU/m³) u odnosu na BV (113,60 CFU/m³) ($P < 0,05$). Koncentracije spora alternarija su bile gotovo podjednake u C i BV tijekom jeseni (4,02 i 4,93 CFU/m³), proljeća (13,47 i 15,80 CFU/m³) i ljeta (43,82 i 47,70 CFU/m³), odnosno znatno više nego na M (1,32 CFU/m³ u jesen - 31,88 CFU/m³ ljeti) ($P < 0,05$). Sezonske promjene u koncentracijama spora kladosporija i alternarija pozitivno koreliraju s temperaturom, a negativno s relativnom vlažnošću zraka. Koncentracije spora *Penicillium*, *Fusarium* i *Aspergillus* vrsta (slike 5-7) bile su znatno niže tijekom cijele godine u odnosu na kladosporije i alternarije. Tako su se za penicilije izmjerene vrijednosti kretale od 1,73 CFU/m³ na M (zima) do maksimalnih 15,90 CFU/m³ u C (ljeto). Fuzarije i aspergile bile su stalno prisutne, ali u koncentracijama nižim od 10, odnosno 5 CFU/m³. Koncentracije spora *Penicillium* sp. neznatno su varirale na pojedinim lokacijama s obzirom na godišnje doba, ali su zato izmjerene vrijednosti bile znatno više u C i BV ($P < 0,01$), izuzevši ljeto kada nije bilo statistički značajne razlike među koncentracijama utvrđenim u BV i na M ($P > 0,05$). Maksimalne koncentracije spora *Fusarium* sp. utvrđene su u jesen u C (7,04 CFU/m³), a minimalne zimi na M (0,63 CFU/m³). U C i BV zabilježene su neznatne razlike u koncentracijama tijekom zime (oko 1,50 CFU/m³), proljeća (oko 4,50 CFU/m³) i ljeta (3,30 CFU/m³) ($P > 0,05$), dok su za to vrijeme na M ove vrijednosti bile znatno niže (maks. 1,87 CFU/m³ u ljeto) ($P < 0,01$). Koncentracije spora aspergila bile su znatno više u proljeće u C (4,58 CFU/m³), u odnosu



Slika 6 Sezonske varijacije u koncentracijama *Fusarium* vrsta u zraku na području Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)



Slika 7 Sezonske varijacije u koncentracijama *Aspergillus* vrsta u zraku na području Zagreba tijekom 2002./03.; u centru grada (C), u Farmaceutskom botaničkom vrtu (BV) i na Medvednici (M)

na BV (1,40 CFU/m³) i M (0,35 CFU/m³) ($P < 0,001$). Tijekom jeseni, zime i ljeta izmjerene koncentracije u C i BV kretale su se od 3,00 do 3,80 CFU/m³ ($P > 0,05$), dok su za to vrijeme na M bile znatno niže (maks. 1,11 CFU/m³ u jesen) ($P < 0,05$). Za sezonske promjene koncentracija spora *Penicillium*, *Fusarium* i *Aspergillus* vrsta nije utvrđena značajna korelacija s temperaturom i relativnom vlažnošću zraka.

RASPRAVA

Bioraznolikost i brojnost aerogenih spora plijesni ovisi o fizikalnim, kemijskim i biološkim čimbenicima određenog područja. Povišenje koncentracija spora plijesni zabilježeno u proljeće i ljeto te njihovo znatno sniženje tijekom jeseni i zime na području Zagreba uzrokovano je ponajprije sezonskim promjenama temperature. Tijekom čitave godine (izuzevši ljeto) znatno niže koncentracije spora utvrđene su na Medvednici, što je vjerojatno uzrokovano visinskom razlikom (957 m), nižim temperaturama, tipom vegetacije, rijetkim prometom a time i smanjenim onečišćenjem zraka ovog područja. U ljetnim mjesecima koncentracije spora plijesni na Medvednici bile su slične onima u centru grada, što se može pripisati povišenju temperature (do oko 26 °C) koja je optimalna za razvoj i sporulaciju. Tijekom godine niže koncentracije spora bilježene su i u Farmaceutskom botaničkom vrtu u odnosu na centar grada, ali bez statistički značajne razlike. Značajno smanjenje koncentracija na ovoj lokaciji utvrđeno je jedino ljeti. Jedan od razloga smanjenja koncentracija na ovoj lokaciji može biti rjeđi promet (manje izvora polucije). S druge strane, prisutnost velikog broja biljnih vrsta koje sadržavaju eterična ulja, čiji aerosol ima antifungalni učinak, također može pridonositi smanjenju broja spora plijesni osobito u ljetnim mjesecima (7, 10). Dominantne vrste plijesni koje najviše pridonose ukupnim koncentracijama aerogenih spora su kladosporije i alternarije. Njihove se koncentracije znatno povisuju tijekom proljeća i ljeta korelirajući s temperaturnim promjenama. Ranija istraživanja na području Hrvatske i u drugim zemljama umjerene klime (Italija, Španjolska) te u Japanu i Australiji govore u prilog toj činjenici (11, 12, 13, 14, 15, 16). S druge strane, studije mikološke kontaminacije zraka provedene u Turskoj, Kuvajtu, Nigeriji i Ugandi pokazuju da vrste *Alternaria*, *Penicillium* i *Aspergillus* dominiraju nad kladosporijama, što je vjerojatno uzrokovano klimatskim i zemljopisnim obilježjima tih područja te metodom uzorkovanja (17, 18, 19, 20). Među mikromicetama kladosporije i alternarije su najvažniji aeroalergeni. Procjenjuje se da je između 2 i 30 % respiratornih alergija uzrokovano sporama plijesni, i to kladosporija i alternarija (5). Tome u prilog govore izvještaji o senzibilizaciji alergenima ovih vrsta u 20 % pacijenata s dijagnosticiranim rinosinusitisom i/ili bronhalnom astmom (21). Spore *Cladosporium* sp. su veličine 3-5 µm i mogu dospjeti u niže dijelove dišnog sustava, zbog čega se alergijske reakcije mogu

manifestirati kao kasna preosjetljivost i astma. Spore alternarija veličine su do 150 µm te se zadržavaju u nazofarinksu i mogu uzrokovati nazalne i/ili okularne simptome alergije (22, 23). Spore *Penicillium*, *Fusarium* i *Aspergillus* vrsta također su konstantno prisutne u zraku (43,0-70,5 %), ali u znatno nižim koncentracijama (0,35-15,90 CFU/m³) od kladosporija i alternarija. Također su njihove koncentracije neznatno varirale s obzirom na lokaciju uzorkovanja te nije bilo značajne korelacije s temperaturom i relativnom vlažnošću. Penicilije i aspergile prisutne su međutim u znatno višim koncentracijama u zatvorenim prostorima, dok su fuzarije rasprostranjenije u zraku agrikulturnih područja (1). U alergološkim ispitivanjima utvrđena je senzibilizacija na alergene *Penicillium notatum* u 54 i 36 % pacijenata te na alergene *Fusarium solani* u 100 % ispitanika s dijagnosticiranom astmom (24, 25). Među aspergilama su dominirale vrste *A. fumigatus* i *A. niger* (do 30 %). *Aspergillus fumigatus* se s većom učestalošću i visokim koncentracijama (10⁴ CFU/m³) pojavljuje na mjestima truljenja organskog supstrata (kompost) tijekom proljeća i ljeta, a svojim alergenima može prouzročiti alergijsku bronhopulmonalnu aspergilozu u osjetljivih osoba, što je osobito važno kod profesionalne izloženosti (1, 26, 27). Iako su spore penicilija, fuzarija i aspergila bile utvrđene u niskim koncentracijama tijekom našeg istraživanja, one su konstantno prisutne u zraku tijekom godine, što se ne smije zanemariti s obzirom na njihovu alergološku važnost. Od ostalih identificiranih plijesni s učestalošću većom od 5 % javljale su se vrste *Absidia*, *Bjerkandera adusta*, *Chrysosporium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Phoma*, *Rhizopus* i nesporulirajuće plijesni. *Botrytis*, *Culvularia*, *Mucor*, *Sclerotium*, *Trichoderma* i *Ulocladium* nalaze se u 1,0 do 4,0 % uzoraka, a *Arnium*, *Botryomyces*, *Chaetomium*, *Dreschlera*, *Phialophora*, *Pithomyces*, *Scopulariopsis* i *Trichothecium* vrste rijetko su utvrđene s učestalošću do 1,0 %. Razlog tomu može biti biološka specifičnost vrsta, nedostatak povoljnog supstrata, nepovoljni uvjeti rasta, kratak razvojni ciklus te antagonističko djelovanje dominantnih brzorastućih vrsta plijesni.

Koncentracije aerogenih spora plijesni variraju tijekom godine, što je uzrokovano geografskim obilježjima i sezonskim klimatskim promjenama nekog područja. Više koncentracije spora zabilježene u centru grada najvjerojatnije su uzrokovane povećanim prometom, većom polucijom, prašinom i smanjenom cirkulacijom zraka. Ukupan broj spora znatno se povećava u proljeće i ljeto čemu najviše pridonose dominantne alergološki značajne vrste

Cladosporium i *Alternaria*, što upućuje na veće opterećenje sluznica dišnog sustava, a time i povećani rizik od pojave alergijskih bolesti u osjetljivih osoba. Monitoring aerogenih spora plijesni omogućava poznavanje njihovih kvalitativnih i kvantitativnih varijacija tijekom godine u ovisnosti o sezonskim klimatskim čimbenicima, što može biti od velike pomoći u dijagnosticiranju i prevenciji alergijskih bolesti uzrokovanih sporama plijesni.

LITERATURA

1. Horner WE, Helbling A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. *Clinical Microbiol Rev* 1995;8:161-78.
2. Asan A, Burhan S, Sarica S. Airborne fungi in urban air of Edirne city (Turkey). *Biologia* 2002;57:59-68.
3. Bandyopadhyay R, Mughogho LK, Satyanarayana MV. Occurrence of airborne spores of fungi causing grain mould over a sorghum crop. *Mycol Res* 1991;95:1315-20.
4. Pasanen AL, Pasanen P, Jantunen MJ, Kalliokoski P. Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release in the air. *Atmos Environ* 1991;25A:459-62.
5. Tilak ST. Fungal spores and allergy. *J Palynol* 1991;27:369-86.
6. Verhoeff AP, Burge HA. Health risk assessment of fungi in home environments. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:544-6.
7. Pepeljnjak S, Kosalec I, Kalodera Z, Kuštrak D. Natural antimycotics from Croatian plants I: Rai MK, Mares D, urednici. *Plant Derived Antimycotics*. Binghamton, The Haworth Press; 2003. str. 49-73.
8. Samson RA, Hoekstra ES, van Oorschot CAN. Introduction to food-borne fungi. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 1981.
9. de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras M. Atlas of clinical fungi. 2. izdanje. Utrecht, Nizozemska: Centraalbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Virgili, Reus, Španjolska; 2000.
10. Pepeljnjak S, Šegvić M. Occurrence of fungi in air and on plants in vegetation of different climatic regions in Croatia. *Aerobiologia* 2003;19:11-9.
11. Cvetnić Z, Pepeljnjak S. Distribution and mycotoxin-producing ability of some fungal isolates from the air. *Atmos Environ* 1997;31:491-5.
12. Marchiso VF, Airaudi D, Barchi C. One-year monitoring of the airborne fungal community in a suburb of Turin (Italy) and assessment of its functional relations with the environment. *Mycol Res* 1997;101:821-8.
13. Marchiso VF, Airaudi D. Temporal trends of the airborne fungi and their functional relations with environment in a suburban site. *Mycologia* 2001;93:831-40.
14. Herrero B. Weekly variation of fungal colonies in the atmosphere of Palencia (Spain) throughout the year 1992. *J Allergy Clin Immunol* 1997;7:611-8.
15. Takahashi T. Airborne fungal colony-forming units in outdoor and indoor environments in Yokohama, Japan. *Mycopathologia* 1997;139:23-33.
16. Mitakakis TZ, Guest DI. A fungal spore calendar for the atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiologia* 2001;17:171-6.
17. Asan A, Burhan S, Sarica S. Airborne fungi in urban air of Edirne city (Turkey). *Biologia* 2002;57:59-68.
18. Moustafa AF, Kamel SM. A study of fungal spore population in the atmosphere of Kuwait. *Mycopathologia* 1976;59:29-35.
19. Lawande RV, Onyemehkwe GC. Airborne fungi during Harmattan in Zaria, Nigeria. *Ann Allergy* 1984;52:47-9.
20. Ismail MA, Chebon SK, Nakomya R. Preliminary surveys of outdoor and indoor aeromycobiota in Uganda. *Mycopathologia* 1999;148:41-51.
21. Resano A, Sanz ML, Oehling A. Sensitization *Alternaria* and *Cladosporium* in asthmatic patients and its in vitro diagnostic confirmation. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1998;8:353-8.
22. Luo W. Deposition of large particles in the nose and mouth. *Grana* 1991;30:79-81.
23. Dankaart WFJM, Smithuis LOMJ, Blaauw PJ, Spieksma FTM. The appearance of pollen in the lower airways. *Grana* 1991;30:113-4.
24. Shen HD, Choo KB, Wang SR, Lin WL, Chang ZN, Han SH. Characterisation of a monoclonal antibody (P40) against 68 kD major allergen of *Penicillium notatum*. *Clin Exp Allergy* 1992;22:485-90.
25. Verma J, Gangal SV. *Fusarium solani*: immunochemical characterisation of allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;104:175-83.
26. Fischer G, Müller T, Schwalbe R, Ostrowski R, Wolfgang D. Exposure to airborne fungi, MVOC and mycotoxins in biowaste-handling facilities. *Int J Hyg Environ Health* 2000;203:97-104.
27. Latge JP, Moutaouakil M, Debeaupuis JP, Bouchara JP, Haynes K, Prevost M. The 18-kilodalton antigen secreted by *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun* 1991;59:2586-94.

Summary

FREQUENCIES OF AIRBORNE MOULDS IN ZAGREB

Airborne fungi are sometimes associated with several respiratory diseases and allergies. This paper describes a study of qualitative and quantitative variations in the occurrence of airborne moulds in Zagreb area on three locations: centre of the city (C), Pharmaceutical Botanical Garden "Fran Kušan" (BG) and the mountain Medvednica (M) during autumn, winter, spring and summer 2002-03. Lower concentrations of airborne moulds were found in all three locations in autumn (up to 76.88 CFU/m³) and winter (31.46 CFU/m³), with significantly higher levels in C and BG than in M ($P < 0.001$). In spring and summer, these concentrations were much higher in all sampling sites and were significantly higher in C (160.00 CFU/m³) and BG (134.00 CFU/m³) in spring than in M (90.07 CFU/m³) ($P < 0.001$). In summer, significantly higher concentration was found in C (237.5 CFU/m³) than in BG (186.50 CFU/m³) ($P < 0.01$), while concentrations in C and M (216.70 CFU/m³) were similar. Airspora belonging to 29 fungal genera were identified, and allergologically significant moulds, *Cladosporium* (up to 79.5 %) and *Alternaria* (up to 59.4 %) dominated in all sampling sites. *Penicillium*, *Fusarium* and *Aspergillus* were also constant fungal entities (43.0-70.5 %), but in much lower concentrations than *Cladosporium* and *Alternaria*. Airsporas of *Cladosporium* and *Alternaria* were more frequent in spring and summer in all locations, with significantly higher concentrations in C and BG ($P < 0.05$). The risk from allergies increases with higher airspora concentrations in spring and summer due to an increase in *Cladosporium* and *Alternaria*.

KEY WORDS: airspora, allergies, *Alternaria*, *Cladosporium*, seasonal and locational variations

REQUESTS FOR REPRINTS:

mr.sc. Maja Šegvić
Zavod za mikrobiologiju
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Schrottova 39, HR-10000 Zagreb
E-mail: msegvic@net.hr