

Mikoflora herbaty

HALINA HALWEG, BARBARA PODSIADŁO

Pracownia Mikologii Instytutu Gruźlicy i Chrób Płuc
w Warszawie

Halweg H., Podsiadło B.: (Mycological Laboratory, Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Płocka 26, 01-138 Warszawa, Poland). *The mycoflora of tea*. Acta Mycol .XXVII (1): 115-120, 1991-1992.

Aspergillus niger was most often isolated from 3 various black tea species dust obtained from packer factory, 10 species of black tea packaged in Poland and 28 various species of black tea and one species of green tea packed abroad. Other fungi were seen less frequently. It seems that *A. niger* spores alone or with tea dust may induce various respiratory disorders in tea packers. Serum antibodies to antigens of *A. niger* and tea extracts imply that both may be important etiological factors.

WSTĘP

Badania mikoflory herbaty zostały przeprowadzone ze względu na wystąpienie u jednej z pracownic paczkarni herbaty, po 5 latach pracy, objawów, które wiązano z ekspozycją na pył z herbaty. W posiewach płwociny, wyksztuszonej przez chorą w dniach poprzedzonych pracą w zakładzie lub po próbach ekspozycyjnych na pył z herbaty, uzyskiwano wzrost grzybów z grupy *Aspergillus niger*. Wzrostu grzybów nie stwierdzono w posiewach płwociny wykrztuszonej po kilkudniowej przerwie w pracy. Poza tym w surowicy pacjentki wykryto obecność przeciwciał przeciwko antygenom *A. niger* i ekstraktom z pyłu z herbaty (Müller i in., 1991).

Z piśmiennictwa wiadomo, że u osób narażonych na silną ekspozycję na pyły organiczne, w tym na zarodniki grzybów i promieniowców termofilnych, może dojść do występowania alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych (Dutkiewicz i in., 1984; Patterson i in., 1974; Pepys, 1969). Ponadto Casterllani i Chalmers w 1919 r. (wg Urugoda, 1970) oraz Urugoda w 1970 r. wspominają o izolowaniu z pyłu z herbaty grzybów z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Monilia*.

METODY BADAŃ

Od października 1986 r. do lipca 1988 r. przeprowadzono badania pyłu z herbaty uzyskanego z paczkarni herbaty, w której pracowała obserwowana przez nas chora (Müller i in., 1991) oraz badania różnych gatunków herbat sypkich. Dysponowano pyłami z herbaty czarnej, tj. fermentowanej. Ze stanowiska ręcznego paczkowania zbadano 5 próbek pyłu z „Herbaty chińskiej” i 1 próbkę pyłu z herbaty „Younan”, zaś ze stanowiska maszynowego paczkowania „Herbaty ekspresowej” zbadano 6 próbek pyłu. Ze sprowadzonych do Polski i paczkowanych u nas na ogół gorszych gatunków herbat czarnych, przebadano 8 gatunków herbaty sypkiej („Popularna”, „Sumatra”, „Chińska”, „Madras”, „Indyjska”, „Younan”, „Assam”, „Gruzińska”) i 2 gatunki herbaty paczkowanej w woreczkach („Herbata ekspresowa” i „Radža”). Łącznie zbadano 28 próbek herbaty, tj. od 1 do 5 próbek z jednego gatunku, średnio 2,8 próbki na gatunek.

Z herbat czarnych wysokiej jakości i najlepszych gatunków przygotowywanych oraz paczkowanych za granicą przebadano 20 gatunków herbaty sypkiej („Rich Leaf Tea”, „Lipton Tiger Tea”, „Lipton Blue & White Label Tea”, „Milford”, „MK-Tea”, „Brooke Bond D Tea”, „Twining Traditional English Blend”, „Twining Hampshire”, „Twining Earl Grey Tea”, „Twining English Breakfast Tea”, „Nataraj”, „Pickwick Tea”, „Ceylon Assam Mischung”, „Devi Assam”, „Yingteh”, „Edglets Tea”, „Ridgways Earl Grey Tea”, „Gala Tea”, „Sunflower China Black Tea”, „Indias Hiltop Gold Cup”) i 8 gatunków herbaty paczkowanej w woreczkach („Dragon”, „Sprouting”, „Sunflower”, „Lipton”, „Sir Thomas Lipton”, „Ridgways”, „Pickwick”, „Engelskt Morgonte”). Łącznie zebrano 39 próbek herbaty, tj. od 1 do 4 próbek danego gatunku, średnio 1,4 próbki na gatunek.

Badane herbaty pochodziły z serii herbat będących aktualnie w sprzedaży lub z herbat przechowywanych przez kilka miesięcy do 13 lat w warunkach domowych. Były to herbaty chińskie, indyjskie, cejlońskie i gruzińskie albo ich mieszanki. Dla porównania zbadano jeszcze 2 próbki z jednego gatunku niefermentowanej, zielonej herbaty chińskiej („China Green Tea”).

Pyłem z herbaty lub drobnymi fragmentami herbat sypkich posypywano obficie i w podobnych ilościach powierzchnię płytek z agarem Sabourauda. Inkubację prowadzono w temperaturze 28°C, lecz do izolacji *Aspergillus fumigatus* Fres. zastosowano inkubację w temperaturze 45°C w celu zahamowania wzrostu grzybów z grupy *A. niger* i innych. Do izolacji z pyłu z herbaty drobnoustrojów termofilnych stosowano płytki z agarem dekstrozowym firmy Difco, które inkubowano w temperaturze 45°C. Hodowle zazwyczaj likwidowano po tygodniu obserwacji, ale niektóre z nich obserwowano, po przeniesieniu do temperatury pokojowej, przez dalsze 2-3 tygodnie.

Sprawdzono również wpływ temperatury na obecne w pyłe z herbaty zarodniki grzybów z grupy *A. niger*. Suchy pył z herbaty trzymano we wrzącej łaźni wodnej przez 5 lub 15 minut. Ponadto pył z herbaty zalewano 0,9 % roztworem wodnym chlorku sodu o temperaturze pokojowej lub wrzącą wodą. I stem badane próbki

trzymano w temperaturze 56°C lub we wrzącej łaźni wodnej przez 5, 10 lub 15 minut. Następnie pył z herbaty lub jego zawiesinę posiewano na płytki z agarzem Sabourauda i inkubowano przez tydzień w temperaturze 28°C.

WYNIKI

Ze wszystkich 12 próbek pyłu z herbaty uzyskano obfity wzrost kolonii grzybów z grupy *A. niger* oraz pojedynczych do dość licznych kolonii z rodzaju *Penicillium*. Z większości próbek izolowano również pojedyncze kolonie innych grzybów. Tylko w temperaturze 45°C uzyskano ze wszystkich próbek zwykle dość obfity wzrost kolonii *A. fumigatus*. Łącznie wzrost kolonii innych grzybów uzyskano z 7 do 12 (58,3 % do 100 %) próbek pyłu należących do 2 lub 3 badanych gatunków herbat (tab. 1, 2). Z żadnej z próbek nie uzyskano wzrostu promieniowców termofilnych.

Z herbat paczkowanych w Polsce uzyskano wzrost kolonii z grupy *A. niger* samych lub łącznie z innymi grzybami z 23 (82,1 %) próbek należących do wszystkich badanych gatunków herbat (tab. 1, 2). Z pozostałych pięciu próbek uzyskano: z 3 – wzrost kolonii tylko innych grzybów, a z 2 – wzrostu nie uzyskano. Obfitość wzrostu kolonii z grupy *A. niger* była od skąpego (9 próbek) do obfitego lub bardzo obfitego (14 próbek), zaś wzrost innych grzybów wynosił od jednej do kilku kolonii na płytkę.

W temperaturze 45°C zbadano tylko 12 próbek pochodzących z 9 gatunków herbat. Wzrost pojedynczych kolonii *A. fumigatus* uzyskano z 3 próbek należących do 3 gatunków herbat. Łącznie wzrost kolonii innych grzybów uzyskano z 1 do 14 (3,6 % do 50 %) próbek należących od 1 do 7 (10 % do 70 %) gatunków herbat (tab. 2).

Tabela 1 – Table 1

Grzyby izolowane z różnych gatunków herbat na agarze Sabourauda
The fungi species isolated on Sabouraud's agar from different species of the tea

Grzyby Fungi	Pył z herbat czarnych Black tea dust	Herbaty czarne Black tea		Herbata zielona chińska China green tea
		paczkowane w Polsce packed in Poland	paczkowane za granicą packed abroad	
<i>Aspergillus niger</i>	0	2	8	0
<i>A. niger</i> i inne – and others	3	8	14	1
Inne – Others	0	0	4	0
Brak wzrostu – No growth	0	0	2	0
Razem – Total	3	10	28	1

Tabela 2 – Table 2

Grzyby izolowane z próbek różnych gatunków herbat.
The fungi isolated from samples of different tea species

Grzyby Fungi	Pył z herbat czarnych Black tea dust	Herbaty czarne Black tea		Herbata zielona chińska China green tea
		paczkowane w Polsce packed in Poland	paczkowane za granicą packed abroad	
	Liczba gatunków – Number of species (próbek - samples)			
<i>Aspergillus niger</i>	3 (12)	10 (23)	22 (28)	1 (2)
<i>A. fumigatus</i>	3 (12)	3 (3)*	2 (2)**	1 (1)
<i>Aspergillus</i> sp.	2 (10)	5 (6)	12 (13)	1 (1)
<i>Penicillium</i> sp.	3 (12)	7 (14)	9 (9)	1 (2)
<i>Rhizopus</i> sp.	3 (8)	7 (8)	1 (1)	1 (1)
<i>Absidia</i> sp.	2 (8)	1 (1)	2 (2)	0
<i>Mucor</i> sp.	3 (8)	3 (3)	1 (1)	0
<i>Paecilomyces</i> sp.	3 (7)	2 (2)	4 (4)	1 (1)
<i>Alternaria</i> sp.	0	0	2 (2)	0
<i>Syncephalastrum</i> sp.	3 (10)	0	1 (1)	0
<i>Trichoderma</i> sp.	3 (8)	1 (1)	0	0
Razem Total	3 (12)	10 (28)	28 (39)	1 (2)

* — w temperaturze 45°C zbadano 12 próbek z 9 gatunków herbat – 12 samples from 9 tea species were investigated in 45°C

** — w temperaturze 45°C zbadano 16 próbek z 16 gatunków herbat – 16 samples from 16 tea species were investigated in 45°C

Z herbat paczkowanych za granicą uzyskano wzrost kolonii z grupy *A. niger* samych lub łącznie z innymi grzybami z 28 (71,8 %) próbek należących do 22 (78,6 %) gatunków herbat (tab. 1 i 2). Z pozostałych 11 próbek z 6 gatunków herbat uzyskano: z 7 – wzrost tylko kolonii innych grzybów, a z 4 – wzrostu nie uzyskano. Obfitość wzrostu kolonii z grupy *A. niger* była od skąpego (16 próbek) do obfitego (12 próbek), zaś wzrost innych grzybów wynosił od jednej do kilku kolonii na płytkę.

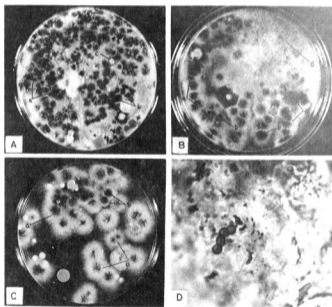
W temperaturze 45°C zbadano tylko po jednej próbce z 16 gatunków herbat. Wzrost pojedynczych kolonii *A. fumigatus* uzyskano z 2 próbek (tab. 2). Łącznie wzrost kolonii innych grzybów uzyskano z 1 do 13 (2,6 % do 33,3 %) próbek należących od 1 do 12 (3,6 % do 42,9 %) gatunków herbat (tab. 2).

Ze zbadanych obu próbek zielonej herbaty chińskiej uzyskano skąpy wzrost kolonii z grupy *A. niger* oraz po jednej do kilku kolonii innych grzybów na płytkę.

Z jednej próbki uzyskano wzrost pojedynczych kolonii *A. fumigatus* (tab. 1 i 2).

Z pyłu z herbat i z herbat sypkich izolowano od 1 do 4 różnych szczepów z rodzaju *Aspergillus* należących do grup: *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. flavus*, *A. ochraceus*. Z grupy *A. niger* izolowano najczęściej *A. niger* van Tieghen, a sporadycznie *A. awamori* Nakazawa (R a p e r, F e n n e l, 1965).

Również wykazano, że zawarte w pyłe z herbat zarodniki grzybów z grupy *A. niger* zostały zabite zarówno w zawiesinach przygotowanych w roztworze o temperaturze pokojowej i następnie trzymany przez 5 min. we wrzącej wodzie jak i w zawiesinach przygotowanych w wodzie gotującej i trzymany przez 10 min. w temperaturze 56°C. Natomiast zarodniki tych grzybów nie zostały zabite zarówno w zawiesinach przygotowanych w roztworze o temperaturze pokojowej i następnie trzymany przez 15 min. w temperaturze 56°C jak i w suchym pyłe trzymany przez 15 min. we wrzącej łaźni wodnej.



Ryc. 1. 2-dniowe hodowle na agarze Sabourauda w temperaturze 28°C
Two days old culture on Sabouraud's agar in 28°C

A, B — pył z herbaty chińskiej — dust from Chinese tea; C — pył z herbaty ekspresowej — dust from Express tea; D — zarodniki *A. niger* na fragmencie liścia w pyłe z paczkowanej maszynowo herbaty ekspresowej, preparat niebarwiony w płynnej parafinie — *A. niger* spores on a fragment of a tea leaf from dust of tea machine packed (Express tea), specimen in liquid paraffine

OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania potwierdziły wcześniejsze obserwacje, że z pyłu z herbaty bywają izolowane grzyby z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium* (Urugoda, 1970). Z grzybów izolowanych z pyłu z herbat sypkich największe znaczenie może mieć *A. niger* ze względu na częstość i obfitość występowania. Występujące rzadziej i mniej obficie inne grzyby mają mniejsze znaczenie lub nie odgrywają żadnej roli w powodowaniu objawów chorobowych. Wydaje się, że zarodniki grzybów z grupy *A. niger* mogą być same lub łącznie z pyłem z herbaty przyczyną choroby u ludzi zatrudnionych w paczkarni herbaty. Za działaniem obu tych czynników przemawia obecność w surowicach dwóch obserwowanych przez nas chorych kobiet przeciwciał przeciw antygenom *A. niger* i ekstraktom z pyłu z herbat.

Autorki dziękują Kierownikowi Pracowni Prof. dr. med. Pawłowi Krakówce za pomoc w opracowaniu materiałów.

LITERATURA

- Dutkiewicz J., Minarik L., Skórska C., Krysińska-Traczyk E., Vatrubova V., Mayer M., 1984. Mikrobiologiczna i kliniczna analiza przypadków zachorowań wynikłych z zawodowego kontaktu ze zrębkami bakowymi w fabryce celulozy. *Pneum. Pol.* 52: 57-69.
- Müller J., Halweg H., Podsiadło B., Radwan L., 1991. Objawy i zaburzenia czynności układu oddechowego wywołane ekspozycją na pył z herbaty. *Pneum. Pol.* 59: 210-217
- Patterson R., Sommers H., Fink J. M., 1974. Farmer's lung following inhalation of *Aspergillus flavus* growing on moldy corn. *Clin. Allergy* 4: 79-86.
- Pepys J., 1969. Hypersensitivity disease of the lungs due to fungi and organic dust. S. Karger, Basel.
- Raper K. B., Fennel D. L., 1965. The genus *Aspergillus*. Baltimore.
- Urugoda C. G., 1970. Tea maker's asthma. *Brit. J. Ind. Med.* 27: 181-182.
- Urugoda C. G., 1980. Respiratory disease in tea workers in Sri Lanka. *Thorax* 35: 114-117.